

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **1. Determinasi tanaman**

Determinasi yang dilakukan dalam penelitian ini dilakukan di laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi tanaman bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel daun katuk (*Sauropus androgynous* (L.) Merr.) dengan mencocokkan ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman daun katuk. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun katuk (*Sauropus androgynous* (L.) Merr).

#### **2. Hasil pembuatan serbuk daun katuk**

Daun katuk yang telah kering kemudian diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40. Tujuan pembuatan serbuk yaitu untuk memaksimalkan proses ekstraksi agar lebih efektif dalam pengambilan zat aktif. Berat serbuk daun katuk setelah diayak yaitu 500 gram.

#### **3. Hasil identifikasi serbuk daun katuk**

##### **3.1 Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun katuk.**

Pemeriksaan organoleptis bertujuan untuk mengetahui sifat fisik dan kontrol kualitas dari serbuk daun katuk. Pemeriksaan organoleptis serbuk daun katuk dilihat dari bentuk, warna, rasa, dan bau. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun katuk dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun katuk**

Pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Serbuk Halus
Warna	Hijau
Rasa	Tidak berasa
Bau	Katuk

Berdasarkan pemeriksaan organoleptis serbuk daun katuk berbentuk halus, berwarna hijau, serbuk tidak berasa dan baunya khas katuk.

**3.2 Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun katuk.** Penetapan kadar lembab serbuk daun katuk untuk mengetahui kandungan air yang masih ada

didalam serbuk tidak boleh lebih dari 10% dengan tujuan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanannya sehingga bahan dapat terhindar dari pengaruh aktivitas mikroba.

Kandungan air yang tinggi mengakibatkan bahan tidak tahan terhadap penyimpanan yang relatif lama sehingga kemungkinan kerusakan akibat jamur akan lebih besar. Data hasil penetapan kadar lembab serbuk daun katuk dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun katuk**

Berat serbuk (gram)	Kadar air (%)
2	2,7
2	2,7
2	2,7
Rata-rata	2,7

Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun katuk sebesar 2,7 %. Hasil penetapan kadar lembab kurang dari 10% sehingga hasil telah memenuhi syarat.

#### **4. Hasil pembuatan ekstrak daun katuk**

Pembuatan ekstrak etanol dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Keuntungan cara penyari dengan maserasi adalah cara penggerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah. Hasil pembuatan ekstrak daun katuk dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil pembuatan ekstrak daun katuk**

Bobot serbuk (gr)	Bobot ekstrak (gr)	Rendemen ekstrak (%)
500	147,6	29,52

#### **5. Hasil identifikasi ekstrak daun katuk**

**5.1 Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun katuk.** Pemeriksaan organoleptis bertujuan untuk mengetahui sifat fisik dan kontrol kualitas ekstrak daun katuk. Pemeriksaan organoleptis ekstrak daun katuk dilihat setelah dipekatkan dengan alat *rotatory evaporator* dilihat dari bentuk warna dan bau. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun katuk dapat dilihat pada tabel 5. Berdasarkan pemeriksaan organoleptis ekstrak daun katuk berwarna kecoklatan, kental dan memiliki bau khas.

**Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun katuk**

Pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Semi padat
Warna	Coklat kehitaman
Rasa	Pahit
Bau	Katuk

**5.2 Hasil penetapan kadar lembab ekstrak daun katuk.** Penetapan kadar lembab ekstrak daun katuk dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Dari hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun katuk dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Hasil penetapan kadar lembab ekstrak daun katuk**

Replikasi	Berat ekstrak (gram)	Kadar air (%)
1.	2	6,3
2.	2	6,3
3.	2	6,3
<b>Rata-rata</b>		<b>6,3</b>

Kadar lembab tidak boleh lebih dari 30%, jika kadar lembab terlalu tinggi akan mengakibatkan pertumbuhan jamur dan bakteri yang menyebabkan kerusakan pada ekstrak. Berdasarkan presentase hasil kadar lembab 6,3% dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun katuk kurang dari 10%.

**5.3 Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun katuk.** Identifikasi kandungan kimia daun katuk dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung di dalam ekstrak pada daun katuk. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun katuk dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun katuk**

Senyawa	Hasil pustaka	Hasil percobaan
Alkaloid	Endapan jingga	Positif
Flavonoid	Lapisan warna jingga	Positif
Tannin	Hijau kebiruan	Positif
Saponin	Terdapat busa	Positif

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dengan metode reaksi warna menunjukan bahwa ekstrak daun katuk mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun katuk dapat dilihat pada lampiran 8.

## 6. Hasil pengujian sifat fisik sediaan salep ekstrak daun katuk

**6.1 Organoleptis.** Pemeriksaan organoleptis dilakukan untuk mendeskripsikan bentuk, warna dan bau dari sediaan salep ekstrak daun katuk. Sediaan salep berwarna hitam yang dikarenakan warna ekstrak yang berwarna kehitaman. Hasil yang diperoleh dari pengamatan secara organoleptis dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8. Hasil organoleptis formula salep ekstrak daun katuk**

Pemeriksaan	Waktu	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Warna	Hari ke-2	putih	hitam	hitam	hitam
	Hari ke-14	putih	kecoklatan	kecoklatan	kecoklatan
	Hari ke-21	putih	hitam	hitam	hitam
Bau	Hari ke-2	Tidak berbau	Khas	Khas	Khas
	Hari ke-14	Tidak berbau	Khas	Khas	Khas
	Hari ke-21	Tidak berbau	Khas	Khas	Khas
Konsistensi	Hari ke-2	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
	Hari ke-14	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
	Hari ke-21	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat

Keterangan :

K (-) : formula tidak mengandung ekstrak daun katuk (basis salep)

F I : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 24:56

F II : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 40:40

F III : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 56:24

Tabel 8 menunjukkan kontrol negatif dari hari kedua sampai dua puluh satu berwarna warna putih. Kemudian pada formula satu sampai tiga memiliki warna hitam kecoklatan hal ini dikarenakan pencampuran ekstrak yang berwarna hitam kecoklatan dan bahan salep berwarna putih yang disertai pengadukan secara terus menerus pada saat pembuatan.

Kontrol negatif tidak memiliki bau dari hari kedua hingga hari kedua puluh satu, karena hanya terdiri dari basis salep saja. Salep yang dihasilkan dari formula satu sampai tiga menunjukkan bahwa pada hari kedua sampai dua puluh satu memiliki bau yang khas dari daun katuk.

Konsistensi yang dihasilkan dari kontrol negatif basis salep adalah stabil, dikarenakan basis tercampur dengan baik, sehingga tidak terjadi perubahan. Pada

setiap formula konsistensi salep relatif stabil. Hal ini dikarenakan zat aktif dan basis salep tercampur dengan baik, sehingga tidak terjadi perubahan.

**6.2 Hasil uji homogenitas.** Tujuan uji homogenitas sediaan untuk mengetahui apakah ekstrak daun katuk dalam sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas sangat berpengaruh terhadap efektivitas terapi pada sediaan tersebut, jika sediaan telah homogen maka konsentrasi zat aktif diasumsikan pada saat pemakaian atau pengambilan akan selalu sama atau seragam. Hasil pengamatan homogenitas sediaan salep dapat dilihat ada tabel 9.

**Tabel 9. Hasil homogenitas sediaan salep ekstrak daun katuk dengan berbagai variasi konsentrasi basis.**

Formula	Hari ke-2	Hari ke-14	Hari ke-21
Kontrol (-)	Homogen	Homogen	Homogen
Formula I	Homogen	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen	Homogen

Keterangan :

K (-) : formula tidak mengandung ekstrak daun katuk (basis salep)

F I : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 24:56

F II : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 40:40

F III : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 56:24

Hasil pengamatan terhadap homogenitas sediaan salep yang dilakukan dengan cara dioleskan pada objek glas menunjukkan bahwa kelima formula sediaan salep ekstrak daun katuk memiliki homogenitas yang baik dari hari kedua sampai hari ke-21, karena tidak terdapat partikel padat yang terdapat di dalam salep serta tidak terdapat bentuk salep yang menggumpal atau tidak merata dalam sediaan.

**6.3 Hasil uji pH.** Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah kadar pH dalam sediaan salep memenuhi persyaratan untuk sediaan topikal. Hasil penentuan pH sediaan salep dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada tabel 10.

**Tabel 10. Hasil pemeriksaan pH salep ekstrak daun katuk dengan berbagai variasi konsentrasi basis salep.**

Waktu pemeriksaan	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-2	5,27±0,02	6,54±0,04	6,37±0,03	6,02±0,03
Hari ke-7	5,26±0,02	6,59±0,02	6,34±0,01	6,07±0,08
Hari ke-14	5,27±0,01	6,52±0,03	6,30±0,03	6,01±0,11
Hari ke-21	5,28±0,02	6,43±0,15	6,27±0,02	6,01±0,07

Keterangan :

K (-) : formula tidak mengandung ekstrak daun katuk (basis salep)

F I : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 24:56

F II : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 40:40

F III : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 56:24

Tabel 10 menunjukkan bahwa pada penyimpanan salep ekstrak daun katuk selama 21 hari, sediaan salep mengalami perubahan pH. Kemungkinan disebabkan oleh pengaruh lingkungan, akan tetapi pada penurunan pH yang terjadi pada setiap formula tidak terlalu signifikan. Sehingga dapat dikatakan pH relatif stabil pada penyimpanan. Nilai pH tidak boleh terlalu asam karena dapat mengiritasi kulit dan tidak boleh terlalu basa karena dapat membuat kulit bersisik. pH untuk kulit normal antara 4,5-6,5 (Gozali, D *et al.* 2009).

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes *Kolmogorov Smirnov* menyatakan nilai sig.  $0,121 > 0,05$  maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis menggunakan metode ANOVA dua jalan diperoleh nilai sig.  $0,070 > 0,05$  yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

**6.4 Hasil uji viskositas.** Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektivitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dan kemudahan pengguna sehingga tidak boleh terlalu kental dan terlalu encer. Viskositas pada sediaan menunjukkan mudah tidaknya sediaan salep tersebut dapat dihantarkan ke kulit. Hasil pengamatan viskositas sediaan salep ekstrak daun katuk dapat dilihat pada tabel 11.

**Tabel 11. hasil viskositas salep ekstrak daun katuk dengan berbagai variasi konsentrasi basis salep.**

Waktu pemeriksaan	Viskositas (dPas) $\pm$ SD			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-2	405,00 $\pm$ 5,00	>4000	>4000	540,00 $\pm$ 10,00
Hari ke-7	421,67 $\pm$ 12,58	>4000	>4000	570,00 $\pm$ 13,23
Hari ke-14	336,67 $\pm$ 20,21	>4000	>4000	573,33 $\pm$ 10,41
Hari ke-21	364,00 $\pm$ 13,53	>4000	>4000	558,00 $\pm$ 16,37

Keterangan :

K (-) : formula tidak mengandung ekstrak daun katuk (basis salep)

F I : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 24:56

F II : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 40:40

F III : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 56:24

Uji viskositas berfungsi untuk mengetahui kekentalan salep, berhubungan dengan kemudahan sediaan dalam pemakaian. Hasil pengujian viskositas pada formula I dan II tidak dapat terbaca oleh alat viskometer karena salep terlalu kental, dikarenakan PEG 4000 memberikan pengaruh besar dalam meningkatkan viskositas salep dibandingkan dengan PEG 400. Kombinasi antara keduanya dapat menurunkan viskositas salep. Pada kontrol negatif dan formula III, viskositas dapat terbaca oleh alat viskometer, hal ini dikarenakan jumlah PEG 400 lebih besar dibandingkan dengan PEG 4000. Wujud PEG 400 merupakan cairan kental jernih tidak berwarna, sedangkan PEG 4000 berupa serbuk putih. Pada formula III didapatkan hasil yang lebih kental dibandingkan dengan kontrol negatif, hal ini disebabkan karena adanya penambahan ekstrak kental daun katuk.

Hasil uji viskositas menunjukkan naik dan turunnya hasil uji yang disebabkan oleh faktor penyimpanan dan keadaan sediaan yang dibuka berulang-ulang selama masa pengujian. Nilai kisaran viskositas oleh SNI (1996) yaitu berada dalam kisaran nilai viskositas 20-500 dPa's.

Hasil uji viskositas sediaan salep ekstrak daun katuk dianalisis secara statistik dengan menggunakan metode *Kolmogorov Smirnov* dengan nilai sig. 0,440  $>$  0,05 yang berarti data terdistribusi normal selanjutnya data dianalisis menggunakan ANOVA dua jalan, diperoleh hasil sig. 0,552  $>$  0,05 dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari keempat formula tersebut.

**6.5 Hasil uji daya sebar.** Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan basis menyebar pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada tabel 12.

**Tabel 12. Hasil pengukuran daya sebar sediaan salep ekstrak daun katuk**

Formula	Beban (gr)	Diameter penyebaran (cm±SD)			
		Hari ke-2	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Kontrol (-)	0	2,00±0,00	2,07±0,06	2,07±0,06	2,03±0,06
	50	2,10±0,00	2,10±0,00	2,13±0,06	2,13±0,06
	100	2,23±0,06	2,23±0,06	2,27±0,06	2,23±0,06
	150	2,40±0,10	2,40±0,10	2,43±0,06	2,43±0,06
	200	2,60±0,10	2,70±0,10	2,70±0,10	2,63±0,06
	0	1,00±0,00	1,67±0,06	1,73±0,06	1,77±0,06
Formula I	50	1,73±0,21	1,87 ±0,06	1,83±0,06	1,87±0,06
	100	1,90±0,10	1,97±0,06	1,93±0,06	1,97±0,06
	150	2,03±0,06	2,00±0,00	2,03±0,06	2,07±0,06
	200	2,13±0,06	2,17±0,06	2,10±0,06	2,17±0,06
	0	1,87±0,06	2,00±0,00	1,90±0,00	1,87±0,06
	50	2,00±0,00	2,10 ±0,00	2,00 ± 0,00	1,97±0,06
Formula II	100	2,13±0,06	2,27±0,06	2,10±0,00	2,07±0,06
	150	2,30±0,10	2,37±0,06	2,20±0,00	2,20±0,00
	200	2,40±0,10	2,47±0,06	2,30±0,00	2,30±0,00
	0	2,17±0,06	2,13±0,12	2,23±0,06	2,33±0,06
	50	2,30±0,10	2,40±0,10	2,47±0,12	2,60±0,10
	100	2,53±0,06	2,43±0,06	2,60±0,17	2,73±0,06
Formula III	150	2,67±0,12	2,67±0,15	2,67±0,12	2,83 ±0,06
	200	2,83±0,15	2,73±0,15	2,77±0,12	2,97±0,12

Keterangan :

K (-) : formula tidak mengandung ekstrak daun katuk (basis salep)

F I : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 24:56

F II : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 40:40

F III : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 56:24

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan salep menyebar atau mudah dioleskan pada kulit. Berdasarkan hasil penelitian uji daya sebar, salep daun katuk mengalami penyebaran diameter yang cukup kecil. Daya sebar suatu sediaan berbanding terbalik dengan viskositas. Semakin besar nilai viskositas maka daya sebaranya semakin kecil. Daya sebar sediaan salep yang baik adalah antara 50-70 mm (Prasetya *et al.* 2012).

PEG 400 lebih berpengaruh besar dalam meningkatkan daya sebar dibandingkan dengan komponen PEG 4000. Kombinasi antara PEG 400 dan 4000 dapat menurunkan daya sebar. Semakin tinggi jumlah PEG 400 pada formula, maka semakin besar diameter penyebaran salep sehingga semakin luas pula penyebaran salep.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes *Kolmogorov Smirnov* menyatakan nilai sig.  $0,150 > 0,05$  maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis menggunakan metode ANOVA dua jalan diperoleh nilai sig.  $0,860 > 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan.

**6.6 Hasil uji daya lekat.** Uji daya lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan melekat pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Hasil pengukuran waktu daya lekat dapat dilihat pada tabel 13.

**Tabel 13. Hasil pengukuran daya lekat sediaan salep ekstrak daun katuk**

Formula	Waktu (detik)			
	Hari ke-2	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Kontrol (-)	$35,00 \pm 1,00$	$35,00 \pm 1,00$	$35,00 \pm 1,00$	$32,33 \pm 1,53$
Formula I	$55,00 \pm 1,00$	$55,67 \pm 2,08$	$57,33 \pm 1,53$	$55,00 \pm 1,00$
Formula II	$43,33 \pm 1,53$	$44,33 \pm 1,53$	$41,67 \pm 1,53$	$39,00 \pm 1,00$
Formula III	$32,00 \pm 2,00$	$33,00 \pm 1,00$	$32,00 \pm 2,00$	$31,67 \pm 1,53$

Keterangan :

K (-) : formula tidak mengandung ekstrak daun katuk (basis salep)

F I : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 24:56

F II : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 40:40

F III : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 56:24

Hasil uji daya lekat pada tabel menunjukkan bahwa semakin besar PEG 4000 maka semakin lama pula daya lekat pada salep. Uji daya lekat merupakan salah satu pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kekuatan salep melekat pada kulit. Berbeda dari uji daya sebar, daya lekat berbanding lurus terhadap nilai viskositas. Semakin besar nilai viskositas, maka kemampuan daya lekat suatu sediaan salep semakin besar. Syarat waktu daya lekat yang baik adalah tidak kurang dari 4 detik. Pada tabel di atas dapat dilihat bahwa hasil pengujian daya lekat rata-rata lebih dari 32 detik, daya lekat yang terlalu kuat akan menghalangi pori-pori kulit sehingga zat aktif yang terkandung di dalam salep susah untuk menembus kulit.

Hasil uji daya lekat sediaan salep ekstrak daun katuk dianalisis secara statistik dengan menggunakan metode *Kolmogorov Smirnov* dengan nilai sig.  $0,171 (>0,05)$  yang berarti data terdistribusi normal, selanjutnya data dianalisis menggunakan ANOVA dua jalan, diperoleh hasil sig.  $0,907 (>0,05)$  dapat

disimpulkan bahwa keempat formula homogen, tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

**6.7 Hasil uji proteksi.** Uji proteksi dilakukan untuk mengetahui kemampuan proteksi sediaan salep ekstrak daun katuk memiliki kemampuan proteksi atau tidak terhadap zat asing. Hasil uji proteksi dapat dilihat pada tabel 14.

**Tabel 14. Hasil uji proteksi**

Waktu pemeriksaan	Hasil uji proteksi (detik)		
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II
Hari ke-2	60 detik	2 detik	2 detik
Hari ke-7	60 detik	2 detik	2 detik
Hari ke-14	60 detik	2 detik	2 detik
Hari ke-21	60 detik	2 detik	2 detik

Keterangan:

K (-) : formula tidak mengandung ekstrak daun katuk (basis salep)

F I : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 24:56

F II : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 40:40

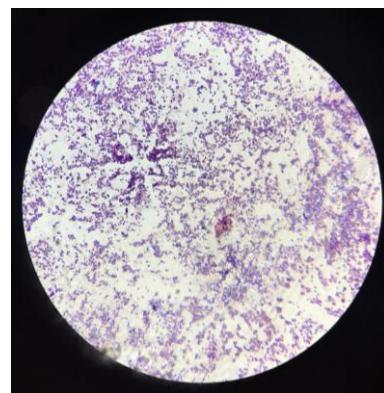
F III : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 56:24

Hasil pengamatan terhadap uji proteksi sediaan salep ekstrak daun katuk menunjukkan bahwa formula I, II, dan III dinyatakan tidak dapat memproteksi zat asing dari luar, sedangkan kontrol negatif dapat memproteksi zat asing yang berasal dari luar. Zat asing yang digunakan dalam uji ini yaitu KOH. Setelah semua formula diberikan perlakuan yang sama, formula I, II, dan III terdapat bercak merah dalam waktu singkat, yaitu hanya dalam 2 detik. Sehingga kesimpulannya ketiga formula ini tidak dapat memberikan daya proteksi yang baik. Pada basis salep tidak menimbulkan reaksi noda merah selama lebih dari 1 menit. Basis salep yang baik dapat melindungi kulit dari pengaruh luar seperti asam-basa, debu dan sinar matahari pada waktu pengobatan, ditandai dengan tidak terbentuknya noda merah setelah penambahan KOH. Berdasarkan hasil uji dapat dikatakan basis salep yang digunakan memenuhi syarat uji daya proteksi, sedangkan terbentuknya noda merah pada salep ekstrak daun katuk dikarenakan zat aktif dari salep yang bereaksi dengan KOH.

## 7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara pewarnaan gram

Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus epidermidis* termasuk Gram positif atau Gram negatif. Hasil identifikasi *Staphylococcus epidermidis* pada pengamatan dengan mikroskop tampak berwarna

ungu, berbentuk bulat dan bergerombol tidak teratur seperti buah anggur, lepas sendiri-sendiri, berpasangan atau rantai pendek yang rata-rata terdiri lebih dari empat sel. *Staphylococcus epidermidis* dapat mempertahankan warna violet dari gram A (Kristal violet) pada pengecatan gram dikarenakan *Staphylococcus epidermidis* memiliki peptidoglikan yang lebih tebal daripada gram negatif. Maka pada identifikasi secara pewarnaan Gram dinyatakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* adalah Gram positif. Hasil identifikasi dapat dilihat pada gambar 5.



**Gambar 5. Pewarnaan Gram bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228**

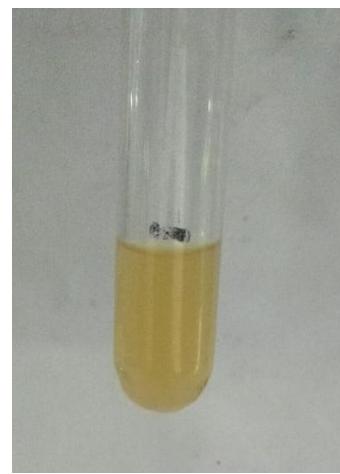
## **8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara biokimia**

**8.1 Uji katalase.** Menggunakan suspensi bakteri uji yang telah diinkubasi selama 24 jam pada media *Vogel Jhonson Agar* (VJA). Kemudian ditambah  $H_2O_2$  3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus epidermidis* mempunyai enzim katalase, dimana  $H_2O_2$  yang ditungkan akan terurai menjadi  $H_2O$  (air) dan  $O_2$  (oksigen), hal ini ditandai dengan adanya gelembung udara.  $H_2O_2$  bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Bakteri katalase positif akan memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ , maka parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen seperti pada percobaan yang telah dilakukan. Hasil uji katalase dapat dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6. Hasil uji katalase**

**8.2 Uji koagulase.** Digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci. Uji Koagulase dinyatakan positif kuat, jika gumpalan plasma tidak lepas dan tetap melekat pada dinding tabung saat dimiringkan. *Staphylococcus epidermidis* tidak mempunyai enzim koagulase yang berfungsi untuk menggumpalkan plasma karena perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukan negatif, tidak terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus epidermidis* sehingga tidak terjadi penggumpalan putih dalam waktu 1 jam. Hasil uji koagulase dapat dilihat pada gambar 7.



**Gambar 7. Hasil uji koagulase**

## **9. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Biakan murni bakteri *Staphylococcus epidermidis* diambil masing-masing satu sampai dua ose kemudian secara aseptis masukan kedalam tabung reaksi steril yang berisi media NaCl 0,9% kemudian kekeruhan hasil suspensi bakteri uji

diseduaikan dengan kekeruhan standar *Mc. Farland* 0,5 setara dengan jumlah bakteri sekitar  $0,5 \times 10^8$  CfU/ml.

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

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan hingga jerawat pada punggung kelinci sembuh. Parameter yang dilihat dari uji yaitu lama penyembuhan yang dinyatakan hilangnya lesi dan jerawat. Tabel dibawah ini menunjukkan hasil lamanya penyembuhan jerawat punggung kelinci.

**Tabel 15. Hasil uji aktivitas antibakteri salep ekstrak daun katuk secara *in vivo***

Kelinci	Lama waktu penyembuhan (hari)				
	Kontrol (+)	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
1	9	28	22	19	12
2	9	28	18	18	10
3	10	26	20	18	12
4	10	27	20	16	11
5	9	28	19	17	10

Keterangan :

K (+) : sediaan salep yang beredar dipasaran

K (-) : formula tidak mengandung ekstrak daun katuk (basis salep)

F I : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 24:56

F II : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 40:40

F III : formula mengandung basis PEG 400 dan 4000 dengan perbandingan 56:24

Formula I, II, dan III menggunakan ekstrak daun katuk sebagai zat aktif agar dapat menyembuhkan jerawat pada punggung kelinci. Kandungan senyawa ekstrak daun katuk yang memiliki aktivitas antibakteri adalah alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, mengakibatkan dinding sel tidak terbentuk dan menyebabkan kematian sel tersebut. Pada senyawa flavonoid akan bekerja membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri. Senyawa tannin bekerja dengan menghambat aktivitas enzim protease, menghambat enzim pada transport selubung sel bateri, destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik, selain itu tannin juga mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat. Dan pada senyawa saponin akan menurunkan tegangan permukaan

sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel mengakibatkan senyawa intraseluler anak keluar.

Kontrol positif yang digunakan merupakan salep obat jerawat yang beredar di pasaran yaitu Gentamicin yang mengandung bahan aktif gentamisin sulfat. Gentamisin merupakan suatu antibiotika golongan aminoglikosida yang efektif untuk menghambat bakteri penyebab infeksi kulit primer maupun sekunder seperti *Staphylococcus epidermidis* (Marpaung *et al.* 2014). Formula I dan II mengandung basis PEG 4000 yang lebih banyak dibandingkan dengan formula III menyebabkan waktu penyembuhan pada hewan uji kelinci lebih lama. Hal ini dapat disebabkan karena basis salep yang terlalu kental sehingga susah untuk melepaskan zat aktif dari sediaan salep ekstrak daun katuk. Kontrol negatif yang terdiri hanya dari basis saja tidak mempengaruhi cepatnya penyembuhan pada hewan uji kelinci, karena tidak memiliki zat aktif yang dapat membantu proses penyembuhan.