

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL MINYAK ATSIRI DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**



Oleh :

Chanary Tri Winarsih

19133717A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL MINYAK ATSIRI DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC
25923**

SKRIPSI



Oleh:

**Chanary Tri Winarsih
19133717A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL MINYAK ATSIRI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Oleh

Chanary Tri Winarsih
19133717A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 4 April 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Pembimbing,

Dewi Ekowati, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Opstaria Saptarini, M.Si., Apt.

Penguji :

1. Ilham Kuncahyo, M.Sc., Apt.
2. Dr. Ana Indrayati, M. Si
3. Sri Rejeki H, M. Farm, Apt
4. Dewi Ekowati, M.Sc., Apt.

1.
2.
3.
4.

PERSEMBAHAN

“Tidak ada kesuksesan dari hasil kesombongan”

Rendah hati adalah kunci hasil terbaik

Ingat, bahwa prroses tak selamanya lurus

Dibutuhkan hati dan mental yang kuat, tak patah semangat serta menyelesaikan semua masalah dengan hati – hati dan tenang

Jiwa yang bersih bukanlah yang sukses terus menerus, tetapi membuat kegagalan menjadi sebuah keberhasilan yang halal.

Bertanggung jawab meskipun mendesak, bertanggung jawab meskipun sukses ditelak.

Kupersembahkan Skripsi ini untuk:

- ♣ Allah Yang Maha Kuasa, yang memberikan kekuatan agar terus semangat menyelesaikan skripsi meskipun banyak halangan.
 - ♣ My super hero babe mami yang selalu mendukung agar tak mudah menyerah, dan mendukung menjadi orang yang bertanggung jawab.
- ♣ Dosen pembimbingku Ibu Dewi dan Mamah Opstaria. Terima kasih sudah mau membimbing dan meluangkan waktu untuk membagikan ilmunya padahal diri ini masih penuh kekurangan.
 - ♣ Spesial thanks to My “Mr. Strawberry” yang banyak membantu, memberikan dukungan tiada henti, menemani waktu susah sekalipun.
- ♣ My Baper-es: Devi, Sagita, Rosa, Afra, Dewi dan Habibah, untuk selalu saling mendukung dan mengingatkan.
 - ♣ My partner praktikum, Ope Dina selalu saling mengingatkan, menghangatkan hati ketika emosi ☺.
- ♣ My rum-pikz gengs, Ari, Erika, sahabat dari SMP yang tak lekang oleh waktu, terimakasih dukungannya ♥
 - ♣ Keluarga pinus, Defita, Tata, terimakasih selalu mendukung.
- ♣ Adek-adek an ku, Rostika dan Rosita, terimakasih sudah menjadi adeknya kakak selama ini dan mendukung kakak susah maupun senang.
 - ♣ Almamater Kebanggaanku Fakultas Farmasi USB 2013.
 - ♣ Agama, Bangsa dan Negara ku Indonesia.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 10 April 2017



Chanary Tri Winarsih

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan hidayahNya, Penulis dapat menyelesaikan Skripsi guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Alhamdulillahirobbil'alamin, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL MINYAK ATSIRI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”** diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang teknologi farmasi.

Penyusunan Skripsi ini tidak bisa lepas dari bantuan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung, oleh karena itu Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dewi Ekowati, S. Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.

5. Opstaria Saptarini, S. Farm., M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
6. Ilham Kuncahyo, M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
7. Dr. Ana Indrayati, M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
8. Sri Rejeki Handayani, M. Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
9. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian Skripsi ini.
10. Orang tuaku (Sartono&Sumarni) tercinta, kakakku, keponakanku, semua saudara dan teman yang telah membantu, mendukung, dan memberi semangat serta doa.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penyusunan Skripsi ini. Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu Penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Wassalamu 'alaikum Wr.Wb

Surakarta, 10 April 2016

Chanary Tri Winarsih

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMPAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT.....	xv
 BAB I PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
A. Jeruk Purut	5
1. Sistematika tanaman jeruk purut.....	5
2. Morfologi tanaman jeruk purut.....	5
3. Kandungan kimia	6
4. Kegunaan tanaman	7
B. Minyak Atsiri.....	9
1. Pengertian	9
2. Sifat minyak atsiri	9
3. Metode isolasi minyak atsiri.....	11
4. Identifikasi minyak atsiri	12
5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	13
6. Uji kelarutan dalam alkohol 70%	13
C. Antiseptik Tangan	13
1. Pengertian	13
2. Kandungan <i>hand sanitizer</i>	14
3. Cara penggunaan <i>hand sanitizer</i>	14
D. Gel	15

E. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
1. Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2. Morfologi dan sifat.....	16
3. Patogenesis.....	18
F. Antibakteri	19
G. Metode Pengujian Antibakteri.....	20
H. Landasan Teori.....	21
I. 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	26
3. Definisi operasional variabel utama	26
C. Alat dan Bahan	27
1. Alat.....	27
2. Bahan.....	28
D. Jalannya Penelitian	28
1. Identifikasi tanaman.....	28
2. Pengambilan bahan	29
3. Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air	29
4. Analisa minyak atsiri	30
4.1 Pengamatan organoleptik	30
4.2 Identifikasi minyak atsiri.....	30
4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri	30
4.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri	30
4.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol	31
5. Sterilisasi	31
6. Formula gel.....	31
7. Pembuatan sediaan gel.....	32
8. Pembuatan kontrol	32
8.1 Kontrol negatif	32
8.2 Kontrol positif.....	32
9. Pengujian sifat fisik sediaan gel	32
9.1 Uji organoleptik	32
9.2 Uji homogenitas gel	33
9.3 Uji pH gel	33
9.4 Uji viskositas gel.....	33
9.5 Uji daya lekat gel	33
9.6 Uji daya sebar gel.....	34
9.7 Uji stabilitas sediaan gel.....	34
10. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	34
11. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923..	35

	11.1 Identifikasi makroskopik	35
	11.2 Identifikasi mikroskopis secara morfologi	35
	11.3 Identifikasi secara biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	36
	12. Pengujian aktivitas antibakteri	36
E.	Analisis Hasil.....	37
F.	Jadwal Penelitian	37
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	41
	1. Identifikasi tanaman.....	41
	2. Pengambilan bahan	41
	3. Isolasi minyak atsiri	41
	4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri.....	42
	5. Identifikasi minyak atsiri.....	43
	6. Penetapan indeks bias minyak atsiri	43
	7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri	44
	8. Penetapan kelarutan dalam alkohol	45
	9. Hasil pengujian sifat fisik gel minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>).....	46
	9.1 Organoleptis.....	46
	9.2 Hasil uji homogenitas.....	47
	9.3 Hasil uji pH.....	48
	9.4 Hasil uji viskositas	49
	9.5 Hasil uji daya sebar	50
	9.6 Hasil uji daya lekat.....	52
	10. Hasil pengujian stabilitas gel.....	52
	10.1 Hasil uji organoleptis	52
	10.2 Hasil uji pH.....	54
	10.3 Hasil uji viskositas	54
	11. Pembuatan suspensi bakteri uji	55
	12. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan koloni	56
	13. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 metode pewarnaan	56
	14. Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara biokimia	56
	15. Hasil pengujian aktivitas antibakteri	58
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
	A. KESIMPULAN	62
	B. SARAN.....	62
DAFTAR PUSTAKA		63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema isolasi minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>)	38
Gambar 2. Skema pembuatan gel <i>hand sanitizer</i> minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>)	39
Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri gel <i>hand sanitizer</i> minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	40
Gambar 4. Histogram diameter hambat gel minyak atsiri daun jeruk purut.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Formula standar antibacterial hand gel with triclosan	31
Tabel 2. Rancangan formula gel antiseptik tangan yang telah dimodifikasi	32
Tabel 3. Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>).....	42
Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>).....	42
Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>).....	43
Tabel 6. Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>).....	43
Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>).....	44
Tabel 8. Hasil organoleptis formula gel minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>).....	46
Tabel 9. Hasil homogenitas sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i>) dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri	48
Tabel 10. Hasil pemeriksaan pH gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri	48
Tabel 11, Hasil viskositas sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri	50
Tabel 12. Hasil pengukuran daya sebar gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri	51
Tabel 13. Hasil daya lekat gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri.....	52

Tabel 14. Hasil uji organoleptis stabilitas gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri dengan menggunakan metode <i>freeze thaw</i>	53
Tabel 15. Hasil uji sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode <i>freeze thaw</i> gel minyak atsiri daun jeruk purut	54
Tabel 16. Hasil pengukuran viskositas gel minyak atsiri daun jeruk purut sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode <i>freeze thaw</i>	55
Tabel 17. Hasil uji aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut.....	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman jeruk purut	67
Lampiran 2. Daun jeruk purut dan destilasi	69
Lampiran 3. Minyak atsiri daun jeruk purut.....	70
Lampiran 4. Gambar alat uji gel	71
Lampiran 5. Alat sterilisasi.....	72
Lampiran 6. Bahan uji antibakteri	73
Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol	74
Lampiran 8. Identifikasi minyak atsiri indeks bias.....	74
Lampiran 9. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	75
Lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan difusi	76
Lampiran 11. Perhitungan kadar minyak atsiri daun jeruk purut.....	78
Lampiran 12. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri.....	78
Lampiran 13. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri.....	79
Lampiran 14. Diameter daya hambat	80
Lampiran 15. Komposisi media.....	84

INTISARI

WINARSIH C.T., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL MINYAK ATSIRI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Bakteri *Staphylococcus aureus* bertanggung jawab atas 80% penyakit supuratif, dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya. Penyebaran bakteri *Staphylococcus aureus* paling sering ditularkan dari tangan ke tangan, sehingga perlu adanya suatu gel antiseptik tangan sebagai inovasi yang solutif bagi masyarakat. Beberapa studi menyatakan penggunaan *hand sanitizer* terbukti efektif dalam menurunkan infeksi penyakit gastrointestinal serta respiratory karena bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pembuatan gel dengan konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut adalah 2%, 4% dan 8%, kemudian diuji stabilitas gel. Uji antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut menggunakan metode difusi. Data yang diperoleh diolah dengan analisis statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan metode satu jalur, sehingga didapat hasil signifikansi dari data tersebut.

Hasil dari uji difusi dengan metode *Kirby-Bauer* konsentrasi 2% efektif membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan daya hambat sebesar $13\text{mm} \pm 0,56$. Berdasarkan uji aktivitas yang telah dilakukan, gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kata kunci: Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, Gel, Minyak Atsiri, *Citrus hystrix* DC.

ABSTRACT

WINARSIH C.T., 2017, GEL ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTS ESSENTIAL OIL LIME LEAVES (*Citrus hystrix* DC.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, Surakarta.

Staphylococcus aureus is responsible for 80% of suppurative disease, with the surface of the skin as a natural habitat. The spread of the bacteria *Staphylococcus aureus* is most often passed from hand to hand, so it needs an antiseptic hand gel as solutional innovation for society. Some studies suggest the use of hand sanitizer proven effective in reducing gastrointestinal diseases and respiratory infections due to bacteria. This study aims to determine the antibacterial activity of essential oils gel lime leaves (*Citrus hystrix* DC.) Is efficacious as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Preparation of the gel with the concentration of essential oil of kaffir lime leaves is 2%, 4% and 8%, and then tested the stability of the gel. The method used in this research is diffusion. The data obtained were processed with statistical analysis Analysis of Variance (ANOVA) with a one-track method, so the significance of the results obtained from these data.

The results of the diffusion test with Kirby-Bauer method concentration of 2% effectively kill *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 by inhibition of $13\text{mm} \pm 0.56$. Based on the activity test has been done, gel essential oil of kaffir lime leaves (*Citrus hystrix* DC.) Were able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keywords: Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, Gel, Essential Oil, *Citrus hystrix* DC.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh, bagiannya lebih dari 10% massa tubuh dan memungkinkan sering berinteraksi dengan lingkungan (Gibson 2008). Apabila kulit terluka akan terdapat bakteri seperti *Staphylococcus aureus* maka dapat menyebabkan infeksi. Bakteri *Staphylococcus aureus* bertanggung jawab atas 80% penyakit supuratif, dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya (Ginanjar *et al.* 2010). Penyebaran bakteri *Staphylococcus aureus* paling sering ditularkan dari tangan ke tangan (WHO 2013).

Manifestasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada manusia antara lain adalah impetigo (Salasia *et al.* 2005), serta penyakit kulit lain seperti infeksi folikel rambut, dermatitis, dan kudis, sehingga perlu adanya suatu gel antiseptik tangan sebagai inovasi yang solutif bagi masyarakat. Antiseptik tangan (*hand sanitizer*) dalam bentuk sediaan gel sangat praktis digunakan. Cara pemakaiannya adalah dengan diteteskan pada telapak tangan, kemudian diratakan pada permukaan tangan tanpa dibilas dengan air (Sari dan Isadiartuti 2006). Beberapa studi menyatakan penggunaan *hand sanitizer* terbukti efektif dalam menurunkan infeksi penyakit gastrointestinal serta *respiratory* karena bakteri (Hammond dkk 2000). *Hand sanitizer* juga lebih direkomendasikan untuk para tenaga kesehatan yang harus selalu menjaga kebersihan tangannya karena *hand sanitizer* mampu

mengurangi resiko kulit yang kering akibat terlalu sering mencuci tangan (Shah dkk 2014).

Berbagai sediaan *hand sanitizer* dapat ditemui di pasaran. Bahan aktif dari sediaan *hand sanitizer* yang ada di pasaran adalah senyawa golongan alkohol (etanol, propanol, isopropanol) dengan konsentrasi beragam dari 50% hingga 70%. Apabila digunakan secara terus menerus alkohol dapat mengikis permukaan kulit, dapat melarutkan lapisan lemak dan sebum pada kulit, mengakibatkan kekeringan dan iritasi pada pemakaian berulang terhadap kulit. Selain itu alkohol juga memiliki sifat mudah terbakar (Retnosari dan Isadiartuti 2006).

Perlu dilakukan pengembangan bahan alami untuk mendapatkan sediaan yang lebih aman. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antiseptik adalah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.). Bagian tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang sering digunakan untuk pengobatan maupun diperdagangkan adalah bagian daun, buah, dan kulit buah dari tanaman. Minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan nilai KHM dan KBM berturut-turut sebesar 1% dan 2% (Ratna dkk 2011). Komponen utama minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) adalah β -sitronelal, monoterpen (66,85% dari total minyak atsiri) yang diikuti oleh β -sitronelol, linalool, dan sitronelol (Loh *et al.*, 2011). Sitronelal memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi ditunjukkan dengan zona hambat sebesar 19 mm dan nilai KHM dan KBM sebesar 1,1 mg/ml (Vimol *et al.* 2012).

Antiseptik yang berasal dari minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai potensi antibakteri sebagai pengganti alkohol, karena selama ini banyak *hand sanitizer* berbahan kimia alkohol yang dapat menimbulkan rasa terbakar, iritasi, kulit kering, dan tidak dapat digunakan pada kulit luka (Sweetman 2002).

Sediaan gel lebih banyak digunakan daripada sediaan lainnya karena rasa dingin di kulit, elastis, daya lekat tinggi yang tidak menyumbat pori sehingga pernapasan pori tidak terganggu, mudah mengering, mudah dicuci dengan air dan kemampuan penyebarannya pada kulit baik. Gel merupakan suatu sediaan semipadat yang jernih, tembus cahaya dan mengandung zat aktif, merupakan dispersi koloid mempunyai kekuatan yang disebabkan oleh jaringan yang saling berikatan pada fase terdispersi (British 2009).

Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian dengan menguji aktivitas antibakteri dari gel *hand sanitizer* minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan metode difusi.

B. Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah sediaan gel antiseptik minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

Kedua, berapa konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut yang sudah efektif berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, mengetahui apakah sediaan gel antiseptik minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kedua, mengetahui konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut yang sudah efektif berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah penelitian gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 serta mengetahui konsentrasi efektif dari sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang dapat dijadikan acuan untuk penelitian di masa mendatang. Penelitian ini dapat pula memberikan informasi bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang tanaman obat tradisional yang saat ini masih berdasarkan pengalaman, serta kepada khalayak masyarakat tentang penggunaan gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) sebagai salah satu alternatif dalam penggunaan gel antiseptik terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Jeruk Purut

1. Sistematika tanaman jeruk purut

Sistematika tanaman jeruk purut menurut USDA (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Dicotyledonae
Subkelas : Rosidae
Ordo : Sapindales
Famili : Rutaceae
Genus : *Citrus*
Spesies : *Citrus hystrix* DC.

2. Morfologi tanaman jeruk purut

Jeruk (atau limau/limo) purut (*Citrus hystrix* DC.) merupakan tumbuhan perdu yang dimanfaatkan terutama buah dan daunnya sebagai bumbu penyedap masakan. Di dalam perdagangan internasional dikenal sebagai *kaffir lime*. Tumbuhannya berbentuk pohon kecil (perdu) setinggi 3-5 meter. Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) adalah tanaman yang tumbuh pada daerah tropis, yang

tersebar luas di Asia bagian selatan. Daun dan buah digunakan sebagai bahan tambahan makanan. Daunya berwarna hijau tua, mengkilap, dan permukaan bawah hijau muda atau kekuningan, buram, jika diremas baunya harum. Biasanya daunnya tumbuh berpasangan dan seperti angka delapan. Tangkai daun sebagian melebar menyerupai anak daun. Helainan anak daun berbentuk bulat sampai lonjong, pangkal membundar atau tumpul, ujung tumpul sampai meruncing. Panjangnya 8-15cm. dan lebarnya 2-6cm dan kedua permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih. Bunganya berbentuk bintang, berwarna putih kemerah-merahan atau putih kekuning-kuningan. Buahnya berkerut, berbentuk bulat telur, keras, kulitnya tebal dan berkerut, warna kulit hijau, berbenjol-benjol, rasanya sangat masam dan agak pahit. Buah matang berwarna sedikit kuning (Dalimartha 2006).

3. Kandungan kimia

Jeruk purut mengandung zat seperti naringenin dan hesperidin yang digolongkan sebagai flavonoida (Han *et al.* 2012). Jeruk purut merupakan tanaman dengan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi sehingga banyak dimanfaatkan dalam kebutuhan sehari-hari, baik dalam medis, industri, maupun rumah tangga. Penelitian telah menunjukkan bahwa hasil ekstraksi senyawa aktif tertinggi terdapat pada kulit buah (Ampasavate *et al.* 2010). Kulit buah jeruk purut mengandung tanin, steroid triterpenoid, minyak atsiri kulit buah jeruk purut mengandung sitrat, saponin, polifenol, minyak atsiri sitronelal, sitronellol, linalool, geraniol, hidroksi sitronelal, linalil asetat, flavonoid rutin, naringin, dan hesperidin. Daun jeruk purut mengandung alkaloid polifenol, α -tokoferol, minyak

atsiri, tannin, steroid triterpenoid, sitronelal, flavanoid sianidin, myricetin, peonidin, quercetin, luteolin, hesperetin, apigenin, dan isorhamnetin. Minyak atsiri daun jeruk purut mengandung sitronelal 81,49%, sitronelol 8,22%, linalool 3,69%, geraniol 0,31%, serta komponen lainnya 6,29% (Munawaroh 2010). Minyak atsiri buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Senyawa aktif antibakteri dalam minyak atsiri daun jeruk purut adalah sitronelal yang ditunjukkan dengan zona hambat sebesar 19mm dan nilai KHM dan KBM sebesar 1,1 mg/ml (Vimol *et al.* 2012). Hasil dari penelitian lain kandungan terbesar dalam minyak atsiri daun jeruk purut dengan proses pemeraman yaitu sitronelal yang memiliki kadar terbesar yakni 64,15%. Selain sitronelal (64,15%) komponen utama dari minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) adalah beta-citronellol (10,71%), trans-caryophillene (5,54%), dan linalool (5,31%). Senyawa aktif utama yang ditemukan pada penelitian tersebut adalah sitronelal sebesar 64,15%. Sitronelal bersama dengan sitral, geraniol, linalool, dan sitronelol merupakan salah senyawa terpena yang paling penting, sitronelal yang terdiri dari campuran terpenoid yang dapat memberikan aroma khusus pada minyak daun jeruk purut merupakan salah satu komponen utama yang terkandung dalam minyak daun jeruk purut. Sitronelal termasuk senyawa minyak atsiri yang berwarna kekuningan dan mudah menguap pada suhu kamar (Lia dkk 2015).

4. Kegunaan tanaman

Jeruk purut termasuk suku Rutaceae yang berpotensi sebagai penghasil minyak atsiri. Daun jeruk purut mengandung sabinena dan limonene yang berguna

untuk kosmetik, aromaterapi pencuci rambut, antelmintik, obat sakit kepala, nyeri lambung, dan biopestisida. Daunnya juga sering digunakan sebagai rempah yang berfungsi untuk memberi aroma yang khas pada masakan. Minyak atsiri daun jeruk purut disebut *kaffir lime oil* yang banyak digunakan dalam industri makanan, minuman, farmasi, *flavor*, parfum, pewarna. Minyak atsiri beberapa bagian tanaman jeruk purut juga dapat digunakan sebagai antibakteri. Beberapa peneliti telah menguji aktivitas antibakteri jeruk purut terhadap banyak bakteri. Chowdhury *et al.* (2009) melaporkan bahwa ekstrak metanol buah jeruk purut dan beberapa fraksinya mempunyai aktivitas antibakteri dengan tingkat sedang sampai kuat terhadap beberapa bakteri gram positif dan gram negatif. Ekstrak etil asetat dan minyak atsiri kulit buah jeruk purut lebih poten terhadap *S. aureus* dibanding *E. coli* (Chanthaphon *et al.* 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Nanasombat dan Lohasupthawee (2005) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan minyak atsiri daun dan kulit buah jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap beberapa spesies *Salmonella* dan enterobakteri. Hasil penelitian Luangnarumitchai *et al.* (2007) mengindikasikan bahwa minyak atsiri kulit buah dan daun jeruk purut mampu menghambat pertumbuhan 5 strain *Propionibacterium acne*. Minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Ratna dkk 2011).

B. Minyak Atsiri

1. Pengertian

Minyak atsiri lazim juga dikenal dengan nama minyak mudah menguap atau minyak terbang. Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun buah, biji maupun dari bunga dengan cara penyulingan dengan uap. Meskipun kenyataan untuk memperoleh minyak atsiri dapat juga diperoleh dengan cara lain seperti dengan cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut organik maupun dengan cara dipres atau dikempa dan secara enzimatik (Sastroamidjojo 2004). Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini juga disebut minyak menguap, minyak eteris, atau minyak esensial karena pada suhu biasa (kamar) mudah menguap di udara terbuka. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Gunawan dan Mulyani 2004). Minyak atsiri adalah salah satu kandungan tanaman yang sering disebut “minyak terbang” (Inggris: *volatile oil*). Minyak atsiri dinamakan demikian karena minyak tersebut mudah menguap. Selain itu, minyak atsiri juga disebut minyak esensial karena minyak tersebut memberikan bau pada tanaman (Koensoemardiyyah 2010).

2. Sifat minyak atsiri

Adapun sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas. Umumnya bau ini mewakili bau tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, mengigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa dikulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum

tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bisa disabunkan dengan alkali dan tidak biasa berubah menjadi tengik, pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air, tetapi cukup dapat larut hingga dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutanya sangat kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna, selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin). Untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi tersebut, minyak atsiri harus dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri. Minyak atsiri tersebut sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap (misalnya, botol bewarna coklat atau biru gelap) untuk mengurangi sinar yang masuk. Selain itu, botol penyimpan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyyah 2010).

Terdapat beberapa jenis minyak atsiri yang memiliki aroma yang mirip, tetapi tidak persis sama dan sangat bergantung pada komponen kimia penyusun minyak tersebut. Tidak semua jenis tumbuhan menghasilkan minyak atsiri, hanya tumbuhan yang memiliki sel glandula sajalah yang biasa menghasilkan minyak atsiri (Agusta 2000). Bagian utamanya adalah terpenoid, biasanya terpenoid

terdapat pada fraksi yang tersuling uap. Zat inilah penyebab wangi, harum atau bau khas pada tumbuhan (Harborne 2007).

3. Metode isolasi minyak atsiri

Minyak atsiri pada umumnya diisolasi dengan empat metode yang lazim digunakan. Pertama, metode destilasi/ penyulingan terhadap bagian tanaman yang mengandung minyak. Dasar dari metode ini adalah memanfaatkan perbedaan titik didih. Kedua, metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar dari metode ini adalah adanya perbedaan kelarutan. Minyak atsiri sangat mudah larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Ketiga, metode pengepresan dan pemerasan. Metode ini hanya bisa dilakukan terhadap simplisia yang mengandung minyak atsiri dalam kadar yang cukup besar. Bila tidak, nantinya hanya akan habis didalam proses. Keempat, metode perlekatan bau dengan menggunakan media lilin. Cara ini memanfaatkan aktivitas enzim yang diyakini masih terus aktif selama sekitar 15 hari sejak bahan minya atsiri dipanen (Gunawan dan Mulyani 2004).

Metode isolasi yang paling lazim digunakan adalah metode destilasi. Beberapa metode destilasi yang popular dilakukan di berbagai perusahaan industri penyulingan minyak atsiri, antara lain metode destilasi kering (langsung dari bahannya tanpa menggunakan air) dan metode destilasi air. Metode destilasi kering paling sesuai untuk bahan kering dan untuk minyak-minyak yang tahan pemanasan (tidak mengalami perubahan bau dan warna saat dipanaskan). Metode destilasi air, meliputi destilasi air dan uap air dan destilasi uap air langsung. Metode ini dapat digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama

digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat panas kering. Seluruh bahan dihaluskan kemudian dimasukan kedalam bejana yang bentuknya mirip dandang (Gunawan dan Mulyani 2004).

Di dalam industri minyak atsiri dikenal 3 macam metode penyulingan. Penyulingan dengan air, memiliki ciri khas yaitu bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air mendidih. Beberapa jenis bahan misalnya bubuk buah badam, bunga mawar, orange blossoms harus disuling dengan metode ini. Jika digunakan metode uap langsung, bahan ini akan merekat dan membentuk gumpalan besar yang kompak, sehingga uap tidak dapat berpenetrasi ke dalam bahan (Guenther 2010). Penyulingan dengan air dan uap, bahan olah diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air benda tidak jauh dibawah saringan. Air dapat dipanaskan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dengan bertekanan rendah. Ciri khas dari penyulingan ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas, bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas (Guenther 2010). Penyulingan dengan uap, sering disebut penyulingan uap langsung, memiliki kesamaan prinsip dengan metode yang lain hanya dari penyulingan ini adalah air tidak diisikan dalam ketel.

4. Identifikasi minyak atsiri

Minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, bila

dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani 2004).

5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan bobot minyak atsiri dengan bobot air pada suhu dan volume yang sama. Penetapan bobot jenis dilakukan dengan menggunakan metode pignometer dan dilakukan 3 kali pengulangan (Ansel 2006).

6. Uji kelarutan dalam alkohol 70%

Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (2001), uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambahkan alkohol 70% 5 ml dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol dikocok dan diamati kejernihannya. Apabila setiap penambahan alkohol didapatkan larutan yang jernih maka minyak atsiri tersebut larut dalam alkohol.

C. Antiseptik Tangan

1. Pengertian

Antiseptik tangan (*hand sanitizer*) merupakan cairan pembersih tangan berbahan dasar alkohol yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme dengan cara pemakaian tanpa di bilas dengan air. Tidak seperti mencuci tangan dengan sabun dan air, *hand sanitizer* digunakan untuk membersihkan tangan dari kuman, bukan untuk menyingkirkan kotoran tersisa di tangan. *Hand sanitizer* banyak digunakan karena alasan kepraktisan (Benjamin, 2010).

Hand sanitizer mudah dibawa dan bisa cepat digunakan tanpa perlu menggunakan air. *Hand sanitizer* sering digunakan ketika dalam keadaan darurat dimana kita tidak bisa menemukan air. Di negara maju penggunaan antiseptik tangan telah berjalan sangat pesat. Beberapa sediaan antiseptik tangan dapat dijumpai di pasaran, dapat berupa gel dan spray. Sediaan gel *hand sanitizer* digunakan karena alasan praktis, selain itu gel juga dapat memberikan rasa dingin di kulit, dapat melembabkan kulit dengan adanya humektan yang bersifat sebagai emolien. Lebih jauh lagi humektan mampu memperlambat penguapan air dari kulit. Namun, konsentrasi tinggi juga dapat menghapus kelembaban dari kulit, menyebabkan kekeringan (Aulton dan Taylor 2013).

2. Kandungan *Hand Sanitizer*

Secara umum *hand sanitizer* mengandung: alkohol 60 – 95%, benzalkonium chloride, benzethonium chloride, chlorhexidine, gluconate, chloroxylenolfm clofucarbang, hexachlorophen, hexylresocarcinol, iodine (Benjamin 2010). Kandungan aktif yang sering ditemukan pada *hand sanitizer* dipasaran adalah 62% etil alkohol. Dalam penelitian yang dilakukan oleh (Liu *et al.* 2010), menyatakan bahwa efektivitas dari suatu *hand sanitizer* ditentukan oleh berbagai faktor seperti, jenis antiseptik yang kita gunakan dan banyaknya, serta target organisme.

3. Cara Penggunaan *Hand Sanitizer*

Cara pemakaian *hand sanitizer* adalah dengan diteteskan pada telapak tangan, kemudian diratakan pada permukaan tangan selama 20 – 30 detik (Retnosari 2006).

D. Gel

Gel didefinisikan sebagai suatu sistem setengah padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diresapi cairan. Suatu gel yang makro molekulnya disebarluaskan ke seluruh cairan sampai tidak terlihat ada batas di antaranya disebut gel satu fase. Gel dua fase adalah suatu massa gel yang terdiri dari kelompok – kelompok partikel kecil yang berbeda (Ansel 1989). Gel dibuat dengan proses peleburan atau diperlukan suatu prosedur khusus berkenaan dengan sifat mengembang dari gel (Banker and Anderson 1986).

Berdasarkan basis yang digunakan sediaan gel dapat dibedakan menjadi 2 yaitu hidrogel dan lipogel. Hidrogel merupakan sediaan yang dapat dioleskan yang terbentuk melalui pembengkakan terbatas bahan makromolekul organik atau senyawa anorganik dan tergolong dalam kelompok besar heterogel kaya kandungan air (kandungan air 80-90%). Hidrogel memiliki beberapa keuntungan yaitu daya sebarunya pada kulit baik, mudah dicuci dengan air dan tidak menghambat fungsi fisiologis kulit, khususnya respiratio sensibilis oleh karena tidak melapisi permukaan kulit secara kedap dan tidak menyumbat pori – pori (Voigt 1994). Lipogel merupakan suatu gel dengan basis lemak. Lipogel biasa digunakan bersamaan dengan lotion dan untuk kulit kering (Anief 1997). Saat ini penggunaan lipogel mulai berkurang karena kestabilannya, dapat terjadi tengik meskipun dapat diatasi dengan menambah stabilisator kimia dan bahan pengawet. Sediaan gel dengan basis hidrogel lebih dipilih karena lebih banyak keuntungannya daripada sediaan gel dengan basis lipogel. Carbopol sebagai *gelling agent*, fase kontinyu memungkinkan dispersi molekul terlaur dalam

polimer dan karenanya pelepasan obat harus setara dengan jumlah *gelling agent*. Polimer alam seperti carageenans dan polimer sintetis seperti hidroksipropil metilselulosa (HPMC) atau carbopol biasanya digunakan sebagai *gelling agent* (Aulton dan Taylor 2013). Humektan seperti pripilen glikol, gliserin dan sorbitol pada konsentrasi hingga 5%, sering ditambahkan ke sediaan dermatologis untuk mengurangi penguapan air selama penyimpanan dan penggunaan.

E. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* menuurut Garrity *et al* (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan sifat

Staphylococcus berasal dari perkatan *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. Kuman ini merupakan Gram positif yang berbentuk sferis, tidak bergerak, berspora dan menggerombol dalam susunan

yang tidak teratur dengan diameter masing-masing antara 0,8-1,0 mikron (Jawetz *et al.* 2001).

Staphylococcus aureus normal terdapat pada kulit, mulut, tenggorokan, dan hidung manusia. *Staphylococcus aureus* dapat masuk kedalam tubuh melalui kerusakan kulit atau melalui rusaknya folikel rambut dan saluran pada jaringan penghasil keringat. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, oesteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia dan hewan (Jawetz *et al.* 2001).

Staphylococcus aureus mempunyai warna khas kuning keemasan hanya intensitas warnanya dapat bervariasi, koloni yang masih sangat muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, klorofrom, dan benzol. Pigmen ini termasuk dalam golongan lipolirum dengan alam tetap dalam koloni tidak meresap dalam pemberian, tetapi larut dalam eksudat jaringan-jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh kuman ini. Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Jawetz *et al.* 2001).

Staphylococcus aureus dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas protelitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 90°C

selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk 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 antibiotik lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al.* 2012).

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk kedalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen mempunya sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat meluas kejaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Pernanahan yang bersifat menahun atau timbul radang yang disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 2009).

Staphylococcus aureus terdapat di hidung pada 20-50% manusia. Kapasitas patogenik suatu 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. Sekitar 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).

F. Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.* 2001).

Secara umum kemungkinan situs suatu zat antibakteri dapat diduga dengan mengenali struktur serta sel bakteri. Kerusakan pada salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menunjukkan kepada matinya sel tersebut. Perubahan-perubahan yang terjadi yaitu kerusakan pada dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk (Jawetz *et al.* 2001), perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Jawetz *et al.* 2001), penghambatan kerja enzim, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.

G. Metode Pengujian Antibakteri

Metode pengujian antibakteri ada dua yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pemberian padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yan akan diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas anti mikrobanya berdifusi pada lempeng agar *Mueller Hinton* yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat anti mikroba (Harminta 2004). Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar/cakram/sumuran. Cawan petri diisi dengan media MHA (*Mueller Hinton Agar*), menginokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media tersebut, menunggu sampai bakteri menyerap pada media. Membuat sumuran dengan menggunakan boorprop, memasukkan larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda-beda kedalam sumuran yang telah dibuat tadi, menginkubasi selama 24 jam, dan mengamati diameter hambatan. Diameter daerah hambatan ini tergantung pada daya resap larutan uji yang digunakan ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang dan Koeswardono 2004). Metode difusi sumuran lebih sulit dalam perlakuan tetapi

hasil yang diperoleh akan lebih mudah terlihat dan menampakkan hasil yang nyata.

Prinsip dari metode dilusi adalah menghambat pertumbuhan bakteri dalam pembernihian cair oleh suatu obat yang dicampurkan kedalam pembernihian. Pembernihian yang dipakai harus merupakan pembernihian yang dapat menumbuhkan bakteri secara optimum dan tidak menetralkan obat yang dipergunakan (Bonang dan Koeswardono 2004). Metode ini menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat, kemudian sampel uji diinokulasi pada media serta ditambah bakteri uji dan diinokulasi selama 24-48 jam. Keuntungan metode ini ialah memberikan hasil kuantitatif dengan memberikan hasil jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2001).

H. Landasan Teori

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) termasuk suku Rutaceae yang berpotensi sebagai penghasil minyak atsiri. Minyak atsiri daun jeruk purut disebut *kaffir lime oil* yang banyak digunakan dalam industri makanan, minuman, farmasi, *flavor*, parfum, pewarna. Minyak atsiri atsiri daun jeruk purut mengandung sitronelal 81,49%, sitronelol 8,22%, linalol 3,69%, geraniol 0,31% (Munawaroh 2010). Minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) 1%, dengan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) 2% (Ratna dkk 2011).

Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Keadaan segar dan murni tanpa pencemaran, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih tua (gelap). Mencegah supaya tidak berubah warna, minyak atsiri harus terlindung dari cahaya, misalnya disimpan dalam bejana gas yang berwarna gelap. Sifat-sifat minyak atsiri ialah tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas, umumnya bau ini mewakili bau tanaman asalnya, memiliki rasa getir, kadang-kadang berasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau dingin ketika terasa di kulit, tergantung komponen penyusunnya (Gunawan dan Mulyani 2004).

Hand sanitizer merupakan cairan pembersih tangan berbahan dasar alkohol yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme dengan cara pemakaian tanpa di bilas dengan air. Beberapa studi menyatakan penggunaan *hand sanitizer* terbukti efektif dalam menurunkan infeksi penyakit gastrointestinal serta respiratory karena bakteri (Hammond dkk 2000). *Hand sanitizer* juga lebih direkomendasikan untuk para tenaga kesehatan yang harus selalu menjaga kebersihan tangannya karena *hand sanitizer* mampu mengurangi resiko kulit yang kering akibat terlalu sering mencuci tangan (Shah dkk 2014).

Gel didefinisikan sebagai suatu sistem setengah padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diresapi cairan. Suatu gel yang makro molekulnya disebarluaskan ke seluruh cairan sampai tidak terlihat ada batas di antaranya disebut gel satu fase. Antiseptik tangan (*hand sanitizer*) dalam bentuk sediaan gel sangat

praktis digunakan. Cara pemakaianya adalah dengan diteteskan pada telapak tangan, kemudian diratakan pada permukaan tangan tanpa dibilas dengan air (Sari & Isadiartuti 2006).

Staphylococcus aureus adalah bakteri bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al.* 2005).

Penelitian ini menguji aktivitas antibakteri sediaan gel *hand sanitizer* dari minyak atsiri daun jeruk purut. Penggunaan minyak atsiri daun jeruk purut secara langsung pada kulit dianggap kurang efektif dan tidak praktis, sehingga untuk meningkatkan efektivitas penggunaan minyak atsiri daun jeruk purut dibuat sediaan topical seperti dibuat sediaan gel. Alasan bentuk sediaan gel dipilih karena rasa dingin di kulit, elastis, daya lekat tinggi yang tidak menyumbat pori sehingga pernapasan pori tidak terganggu, mudah mengering, mudah dicuci dengan air dan kemampuan penyebarannya pada kulit baik, harga nya yang lebih murah, dan lebih mudah digunakan (Lachman *et al.* 1986). Pada penelitian ini menggunakan metode difusi, dimana minyak atsiri dari daun jeruk purut diuji aktivitasnya bila dibuat dalam sediaan gel, dan pengaruh dari peningkatan konsentrasi dari minyak atsiri daun jeruk purut yang diformulasikan dalam

sediaan gel. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus*.

I. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis yaitu :

Pertama, sediaan gel antiseptik minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kedua, konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut yang sudah efektif berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi adalah konsentrasi terendah yang digunakan pada penelitian ini.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut yang diambil dari desa Blumbang, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari daun jeruk purut segar, yang diambil dari tanaman yang tidak terlalu tua dan berwarna hijau dibuat dalam sediaan gel *hand sanitizer*.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) berbagai konsentrasi.

Variabel utama kedua penelitian ini adalah aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung sedang pengertian variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah gel minyak atsiri jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan konsentrasi yaitu 2%, 4%, dan 8%.

Variabel terkendali dalam penelitian adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), formulasi gel, bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

Variabel tergantung adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam suatu penelitian. Variabel tergantung dari penelitian ini adalah aktivitas antibakteri gel *hand sanitizer* minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 paling optimum.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang diambil secara acak dari desa Blumbang, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri

populasi dan sampel daun jeruk purut yaitu yang segar dan yang tidak berpenyakit.

Kedua, minyak atsiri daun jeruk purut adalah minyak atsiri hasil destilasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan menggunakan metode destilasi uap air.

Ketiga, konsentrasi masing – masing minyak atsiri yang diformulasikan ke dalam sediaan gel adalah 2%, 4% dan 8%.

Keempat, bakteri uji dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi dengan menggunakan metode difusi.

Kelima, kontrol positif adalah gel *hand sanitizer* merk “ANTIS” antiseptik tangan yang mengandung zat aktif alkohol 70%.

Keenam, uji aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) adalah dengan menggunakan metode difusi dan melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik, timbangan, seperangkat alat destilasi uap air, tabung reaksi, cawan petri, kapas lidi steril, jarum ose, lampu spiritus, pipet volume, autoklaf, inkubator, gelas ukur, refraktometer, batang pengaduk, erlenmeyer, beaker glass, cawan porselin, mortir, stamfer, batu didih, wadah gel, alat moisture balance, stop watch, viskometer,

water bath, seperangkat alat uji daya sebar, mikroskop, obyek glas, pH meter, dan kaca bulat.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri adalah minyak atsiri dalam daun jeruk purut yang masih segar, tidak terlalu tua, dan juga tidak terlalu muda yang diambil dari desa Blumbang, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Bahan kimia yang digunakan antara lain Na sulfat eksikatus, larutan NaCl 0,9%, karbopol, gliserin, trietanolamin, metil paraben, alkohol 70%, cat kristal violet, lugol iodine, etanol aseton, dan H₂O₂ 3%. Media yang digunakan adalah *Nutrien Agar* (NA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI), kalium tellurit, dan plasma sitrat.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Pengambilan bahan

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang diperoleh dari desa Blumbang, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Bagian tanaman yang digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri adalah daun yang tidak terlalu tua dan juga tidak terlalu muda. Daun digunakan dalam keadaan segar tanpa pengeringan untuk menghasilkan minyak atsiri yang lebih maksimal karena dalam pengeringan dapat menyebabkan minyak atsiri dalam tanaman menguap.

3. Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air

Daun jeruk purut segar yang sudah dicuci dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam alat penyulingan minyak dan air yang menyerupai dandang dengan penyangga berlubang yang telah terisi air. Penyulingan dilakukan di atas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa kebagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut terbawa dengan minyak atsiri. Pemanasan dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian tampung destilat dan ukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan Na_2SO_4 eksikatus untuk memisahkan antara minyak dan air, seberat 1% dari volume minyak atsiri sehingga didapat hasil sulingan daun jeruk purut murni. Minyak diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan ditempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi (Depkes 2003).

4. Analisa minyak atsiri

4.1 Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya.

4.2 Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) seperti identifikasi minyak atsiri pada umumnya yaitu diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan pemukulan air tidak akan keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, jika dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani 2004).

4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Penetapan indeks bias ditetapkan dengan alat refraktometer dan diulang sebanyak tiga kali. Badan prisma dibuka dan kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol. Refraktometer diatur sehingga garis dan skala tampak jelas, mencatat suhu ruang tempat bekerja kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Pemutar sebelah kanan diatur sehingga batas gelap dan terang tepat pada garis dan dibaca skala dicatat indeks biasnya (Stahl 2008).

4.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol timbang dikeringkan dengan cara dioven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) ditimbang dalam botol timbang dan dicatat hasilnya,

penimbangan diulang sebanyak tiga kali. Data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri daun jeruk purut dikurangkan bobot botol timbang kosong sehingga didapatkan bobot minyak atsiri. Dibandingkan bobot minyak dengan bobot air sehingga didapatkan bobot jenis dari minyak atsiri. Bobot minyak atsiri = bobot botol timbang berisi minyak atsiri – bobot botol timbang kosong. (Ansel 2006)

4.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol. Uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambah alkohol 70% dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol kocok dan amati kejernihannya.

5. Sterilisasi

Media dan alat – alat gelas seperti beker glass dan gelas ukur yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin (Suriawiria 2005).

6. Formula gel

Tabel 1. Formula Standar Antibacterial Hand Gel with Triclosan (Lubrizol 2010)

		INCI Name, <i>Trade Name</i>	Weight %	Function
A.	1.	Deionized Water	46.40	Diluent
	2.	Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolimer, Carbopol Ultrez 20 Polymer	0.50	Rheology Modifer
B.	3.	Alcohol, <i>Ethyl Alcohol, 200 Proof, Absolute</i>	50.00	Solvent
	4.	Triclosan	0.30	Antimicrobial Agent
	5.	Glycerin	2.00	Humectant
	6.	Triethanolamin (99%)	0.80	Neutralizer

Tabel 2. Rancangan Formula Gel Antiseptik Tangan yang telah Dimodifikasi

Bahan	Satuan	Kontrol basis	F_I	F_{II}	F_{III}
Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut	ml	-	2,00	4,00	8,00
Karbopol	g	0,20	0,20	0,20	0,20
Gliserin	mL	2,00	2,00	2,00	2,00
Trietanolamin	mL	0,80	0,80	0,80	0,80
Metil Paraben	g	0,10	0,10	0,10	0,10
Aquadest ad	mL	100	100	100	100

Sumber: Lubrizol (2010)

7. Pembuatan Sediaan gel

Cara pembuatan gel adalah: karbopol dimasukkan ke dalam air, diaduk hingga larut, ditambahkan trietanolamin (TEA) untuk mengembangkan karbopol. Di dalam wadah terpisah, metil paraben dilarutkan dalam akuades yang telah dipanaskan hingga larut kemudian dimasukkan ke dalam karbopol yang sudah dikembangkan. Minyak atsiri daun jeruk purut dilarutkan dengan gliserin, kemudian dimasukkan ke dalam campuran sebelumnya pada suhu 30°C. Diaduk hingga terbentuk massa gel yang kental, jernih dan homogen, dimasukkan dalam wadah cocok dan tertutup rapat.

8. Pembuatan kontrol

8.1 Kontrol negatif. Kontrol negatif yang digunakan adalah gel yang tidak mengandung minyak atsiri daun jeruk purut.

8.2 Kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan adalah gel *hand sanitizer* merk “ANTIS” antiseptik tangan yang mengandung zat aktif alkohol 60%.

9. Pengujian sifat fisik sediaan gel

9.1 Uji organoleptik. Uji organoleptik meliputi pemeriksaan konsistensi, warna, dan bau dari gel.

9.2 Uji homogenitas gel. Masing – masing gel yang akan diuji dioleskan pada 5 buah gelas obyek untuk diamati homogenitasnya pada mikroskop. Apabila tidak terdapat butiran – butiran kasar di atas kelima obyek tersebut maka gel yang diuji homogen. Uji dilakukan pada minggu pertama dan minggu keempat.

9.3 Uji pH gel. Penentuan pH sediaan dilakukan dengan menggunakan stik pH meter yang dicelupkan ke dalam masing – masing gel *hand sanitizer* yang telah diencerkan. Setelah tercelup dengan sempurna, kemudian dilihat dan dicatat nilai pH yang muncul pada pH meter. Cara di atas diulangi pada formula masing – masing 3 kali. Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 4 minggu.

9.4 Uji viskositas gel. Penetapan viskositas gel dilakukan dengan menggunakan viskometer VT-04. Ketika rotor mulai berputar jarum penunjuk viskositas secara otomatis bergerak maju ke kanan kemudian setelah penunjuk stabil, dibaca viskositasnya pada skala rotor yang digunakan menurut JIS 28809 standart viskositas yang telah dikalibrasi untuk VT-04 adalah desipaskal second (d-pas) setelah selesai pengukuran viskotester dimatikan. Pengujian direplikasi 3 kali untuk setiap gel yang diperiksa (Voigt 1984). Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 4 minggu.

9.5 Uji daya lekat gel. Gel diletakkan di atas obyek yang telah ditentukan luasnya. Gelas obyek yang lain diletakkan di atas gel tersebut dan ditekan dengan beban 1kg selama 5 menit, kemudian gelas obyek dipasangkan pada alat tes. Selanjutnya beban seberat 80 gram dilepaskan dan dicatat waktunya sehingga kedua gelas obyek tersebut terlepas. Masing – masing percobaan direplikasi 3 kali

untuk setiap gel yang diperiksa (Voigt 1984). Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 4 minggu.

9.6 Uji daya sebar gel. Pengujian daya sebar gel dilakukan dengan cara gel sebanyak 0,5 gram diletakkan di tengah alat (kaca bulat), kaca bulat bagian atas ditimbang terlebih dahulu dan diletakkan di atas massa gel, dibiarkan selama 1 menit, diukur diameter gel yang menyebar (diambil panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi), ditambah 50 gram, 100 gram, 150 gram, dan 200 gram. Sebagai beban tambahan secara bertahap, setiap penambahan beban didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameter gel yang menyebar seperti sebelumnya. Cara di atas diulangi untuk setiap formula gel yang diperiksa masing-masing 3 kali (Voigt 1984). Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 4 minggu.

9.7 Uji stabilitas sediaan gel. Pengujian dilakukan dengan metode *freeze thaw* yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 48 jam (1 siklus). Setelah itu dilanjutkan sampai lima siklus. Setiap satu siklus selesai, dilihat ada tidaknya pemisahan fase atau perubahan, uji pH dan uji viskositas gel (Priani *et al.* 2014).

10. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Pembuatan suspensi untuk difusi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

11. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

11.1 Identifikasi makroskopik. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning. Kemampuan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol membentuk suasana asam dan fenol red maka medium di sekitar koloni berwarna kuning (Jawetz *et al.* 2007).

11.2 Identifikasi mikroskopis secara morfologi. Pewarnaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat sarfanian sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir kemudian keringkan preparat. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati dibawah mikroskop.

11.3 Identifikasi secara biokimia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Identifikasi secara fisiologi ada dua yaitu uji katalase dan koagulase, uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dengan H_2O_2 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai katalase. Penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2O dan O_2 , hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan bekuan atau gumpalan selama 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawets *et al.* 2007).

12. Pengujian aktivitas antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji daya antibakteri adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 8%. Dibuat 5 sumuran dengan menggunakan boorprop pada media yang berisi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Sumuran 1 diisi gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan konsentrasi 2%, sumuran 2 diisi gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan konsentrasi 4%, dan sumuran 3 diisi gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan konsentrasi 8%. Sumuran 4 diisi kontrol positif gel *hand sanitizer* merk “ANTIS”, sumuran 5 diisi basis gel tanpa minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix*

DC.). Kemudian diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Dilakukan pengamatan terhadap penghambatan bakteri (Diameter zona hambat).

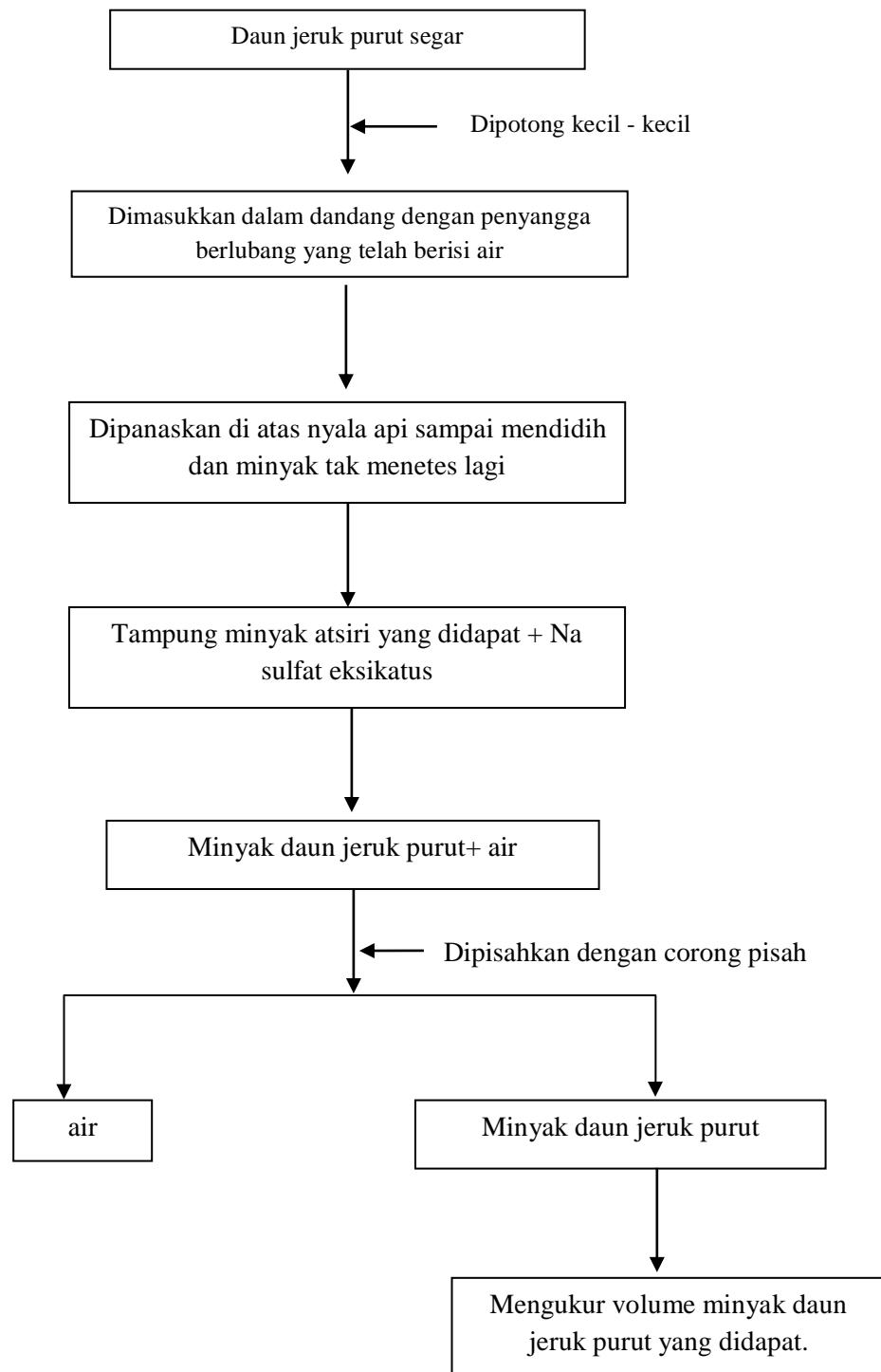
E. Analisis Hasil

Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekeliling sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari lingkaran yang menunjukkan zona jernih. Data yang diperoleh dianalisis statistik dengan menggunakan *Kolmogorof-Smirnov* untuk melihat distribusi normal data, uji statistik *one-way* ANOVA untuk melihat perbedaan secara keseluruhan kemudian dilanjutkan dengan LSD (*Least Significant Difference*) untuk melihat perbedaan antar formula.

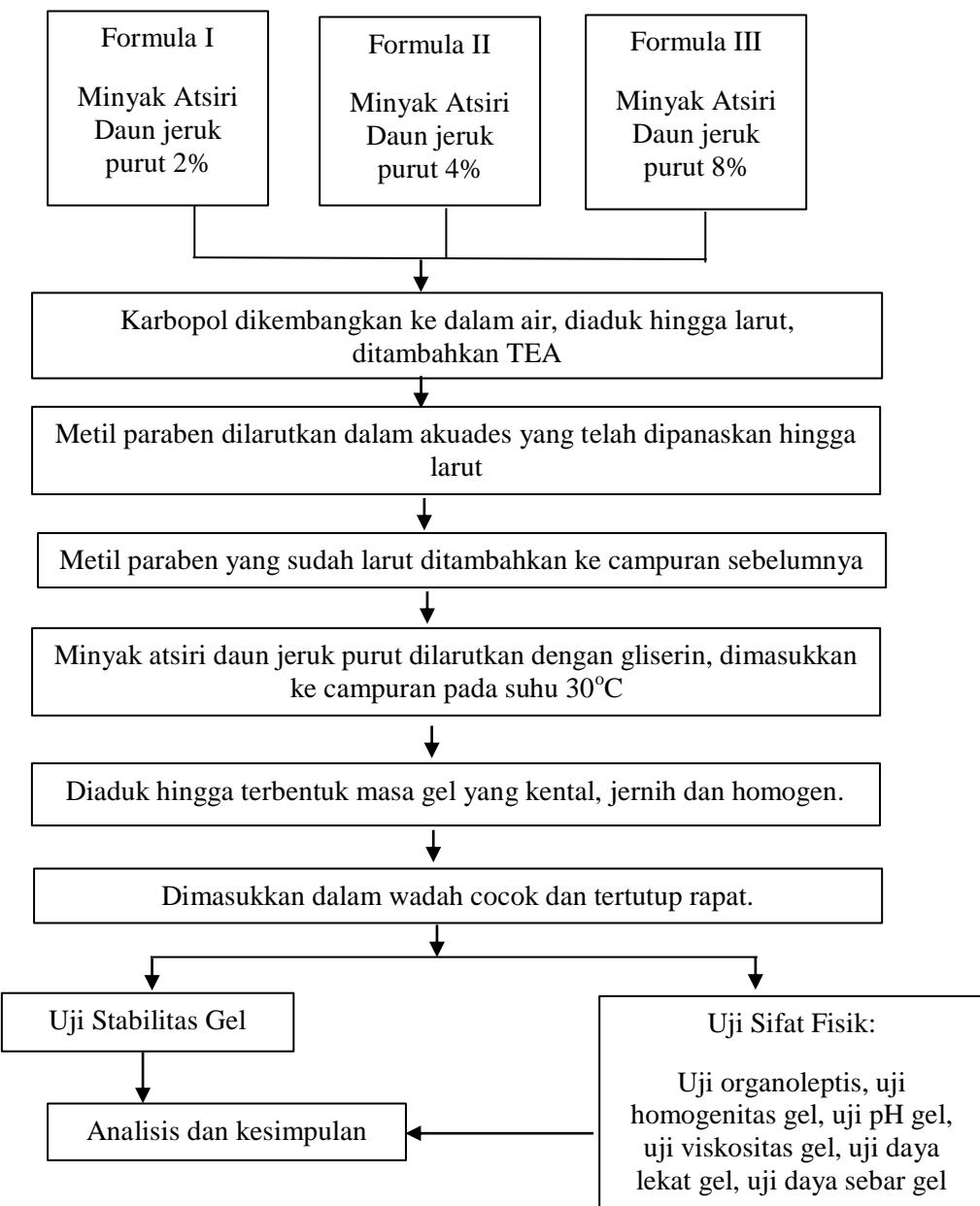
F. Jadwal Penelitian

No.	Jenis Kegiatan	Tahun 2016				Tahun 2017	
		Sept	Okt	Nov	Des	Jan	Feb
1	Studi Pustaka						
2	Determinasi tanaman						
3	Pengumpulan tanaman						
4	Isolasi minyak atsiri						
5	Analisa minyak atsiri						
6	Formulasi gel						
7	Pembuatan kontrol						
8	Uji fisik sediaan gel						
9	Pembuatan suspensi bakteri uji						
10	Identifikasi bakteri uji						
11	Pengujian aktivitas antibakteri						
12	Analisis Hasil						

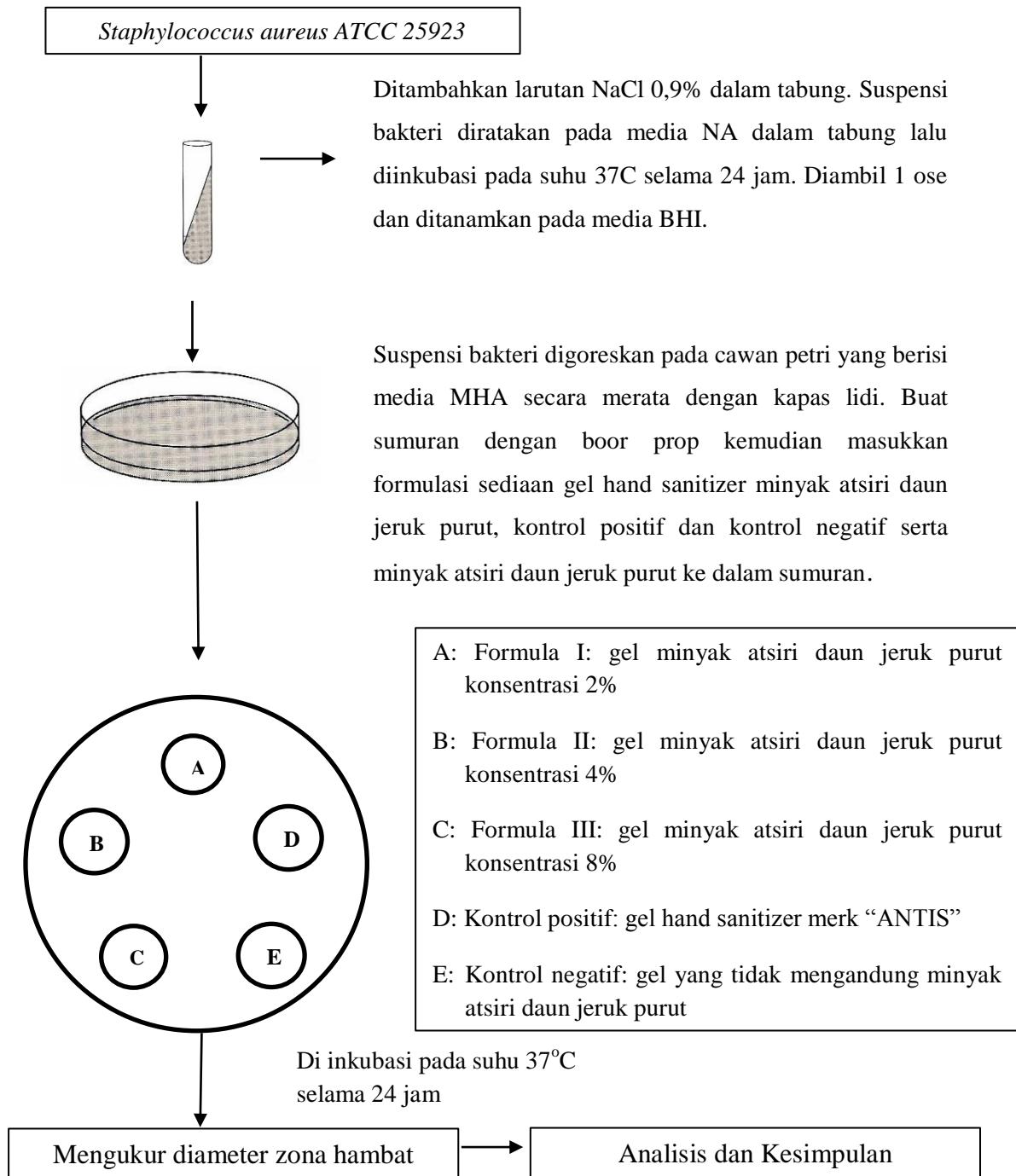
G. Skema Penelitian



Gambar 1. Skema isolasi minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)



Gambar 2. Skema pembuatan gel *hand sanitizer* minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)



Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri gel *hand sanitizer* minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Identifikasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan sampel dan menghindari tercampurnya bahan sampel dengan bahan tanaman lain serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci identifikasi. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.). Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pengambilan Bahan

Tanaman yang digunakan adalah daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dalam penelitian ini diperoleh dari desa Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah, pada bulan Desember tahun 2016. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi dari percobaan didapat rendemen

minyak atsiri, rendemen yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam satu kali destilasi

Tabel 3. Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
5000	42	0,84

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mengandung minyak atsiri yang terdiri sitronelal 81,49%, sitronelol 8,22%, linalool 3,69%, geraniol 0,31%, serta komponen lainnya 6,29% (Munawaroh 2010). Kadar minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dalam praktik yang didapat dengan hasil rendemen adalah 0,84%. Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 11.

4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri

Hasil uji organoleptis dapat dilihat dengan pengamatan secara organoleptik. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning pucat	Kuning muda (Sait & Lubis 1991)
2.	Bau	Khas jeruk purut	Khas jeruk purut (Sait & Lubis 1991)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Sait & Lubis 1991)
4.	Rasa	Khas jeruk purut	Khas jeruk namun lebih kuat dan segar (Pudil <i>et al.</i> 1998)

Warna minyak atsiri hasil destilasi sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan minyak pembanding pada sampel minyak atsiri. Bau dan rasa minyak atsiri pada sampel memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya.

5. Identifikasi minyak atsiri

Hasil identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) seperti yang terlampir dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila diteteskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
	1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, bila 1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh, jika diteteskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 7.

6. Penetapan indeks bias minyak atsiri

Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Minyak atsiri	Hasil indeks bias	Pustaka
Daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	1,452	1,448-1,460 (Dyah et al., (2009) Standar Perdagangan Thailand (2004), Sait dalam Hidayat (1999), Harnum (2012), Hidayat (1999).

Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yaitu sebesar 1,452 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Indeks bias pada minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) adalah 1,448-1,460 bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus

sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer, putaran optik menunjukkan besar sudut pemutaran bidang polarisasi yang terjadi jika sinar terpolarisasi dilewatkan melalui cairan pada suhu (-5°C) sampai dengan 0°C. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al.* 2000). Hasil perhitungan indeks bias dapat dilihat pada Lampiran 8.

7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,8485	Bobot jenis minyak atsiri
II	0,8484	(25°C) = 0,696-1,1188
III	0,8585	Nugraheni (2012)
Rata-rata	0,8519	

Hasil bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) menurut hasil penelitian adalah 0,8519. Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) pada suhu 25°C adalah 0,696-1,1188. Bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) pada hasil penelitian sudah dikonversi suhu ruangannya yaitu pada suhu 31°C adalah 0,7002-

1,123. Bobot jenis ialah salah satu kriteria yang penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Besarnya bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak atsiri, maka semakin banyak komponen kimia dalam minyak atsiri dengan begitu semakin tinggi pula bobot jenisnya (Wiyono *et al.* 2000). Perhitungan konversi lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 13.

8. Penetapan kelarutan dalam alkohol

Hasil kelarutan minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri dilarutkan dalam 1 ml etanol 70%). Uji kelarutan dalam alkohol memberi gambaran apakah suatu minyak mudah larut atau tidak. Semakin mudah larut minyak dalam alkohol maka semakin banyak kandungan senyawa polar dalam minyak. Kelarutan alkohol merupakan faktor penting dalam pengujian minyak atsiri karena dapat menentukan kualitas minyak atsiri tersebut. Menurut Guenther (1987) alkohol merupakan gugus hidroksil (OH), karena itu alkohol dapat larut dengan minyak atsiri, oleh sebab itu pada komposisi minyak atsiri yang dihasilkan tersebut terdapat komponen-komponen terpena teroksigenasi. Kelarutan minyak dalam alkohol ditentukan oleh jenis komponen kimia yang terkandung dalam minyak. Pada umumnya minyak atsiri yang mengandung senyawa terpena teroksigenasi lebih mudah larut dalam alkohol daripada yang mengandung terpena tak teroksigenasi. Semakin tinggi kandungan terpena tak teroksigenasi maka semakin rendah daya larutnya atau makin sukar larut dalam alkohol (pelarut polar), karena

senyawa terpena tak terokksigenasi merupakan senyawa nonpolar yang tidak mempunyai gugus fungsional. Hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin besar kelarutan minyak atsiri pada alkohol (biasanya alkohol 70%) maka kualitas minyak atsirinya semakin baik. Hasil gambar kelarutan minyak atsiri daun jeruk purut dalam alkohol 70% dapat dilihat pada Lampiran 7.

9. Hasil pengujian sifat fisik gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Uji sifat fisik gel yang dilakukan meliputi pengamatan organoleptis, uji homogenitas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji viskositas, uji pH.

9.1 Organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan untuk mendeskripsikan warna, bau dan konsistensi dari sediaan gel. Sediaan yang dihasilkan sebaiknya memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan, dan konsistensi yang bagus agar nyaman dalam penggunaan. Hasil yang diperoleh terhadap pemeriksaan organoleptis gel dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil organoleptis formula gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.).

Pemeriksaan	Waktu	Formula I	Formula II	Formula III
Warna	Minggu 0	PS	PS	PS
	Minggu 3	PS	PS	PS
Bau	Minggu 0	***	***	***
	Minggu 3	**	**	**
Konsistensi	Minggu 0	+++	+++	++
	Minggu 3	++	++	+

Keterangan:

- PS : Putih susu
- *** : menunjukkan bau aromatis daun jeruk purut yang lebih intensif
- ** : menunjukkan bau aromatis daun jeruk purut yang sudah berkurang
- + : menunjukkan konsistensi gel yang encer
- ++ : menunjukkan konsistensi gel yang agak kental
- +++ : menunjukkan konsistensi gel yang kental
- Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%
- Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%
- Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Tabel 8 menunjukkan bahwa dari minggu pertama sampai minggu ketiga gel mengalami warna putih susu yang dikarenakan fase minyak bercampur dengan fase air yang disertai pengadukan yang keras saat pembuatan.

Gel yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada penyimpanan minggu pertama memiliki bau minyak daun jeruk purut yang tinggi, tetapi setelah penyimpanan beberapa minggu bau minyak daun jeruk purut berkurang, hal ini kemungkinan disebabkan minyak daun jeruk purut yang digunakan tidak bisa bertahan lama dalam campuran basis yang jumlahnya lebih besar.

Konsistensi yang dihasilkan dari setiap formula berbeda-beda, hal ini disebabkan karena kandungan minyak atsiri dalam setiap formula berbeda-beda, konsistensi pada formula I paling kental karena kandungan minyak atsiri paling kecil daripada formula lainnya yaitu 2% atau 2 ml dalam 100 ml gel dengan basis air (hidrogel), konsistensi formula II kental karena kandungan minyak atsiri 4% atau 4 ml dalam 100 ml gel dengan basis air (hidrogel), sedangkan konsistensi formula III agak kental dikarenakan kandungan minyak atsiri yang paling banyak diantara ketiga formula. Semakin besar kandungan minyak atsiri yang digunakan, menghasilkan gel dengan konsistensi semakin encer.

9.2 Hasil uji homogenitas. Uji homogenitas sediaan dimaksudkan untuk mengetahui apakah minyak atsiri daun jeruk purut dalam sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas sangat pengaruh terhadap efektivitas terapi dari sediaan tersebut, jika sediaan telah homogen maka konsentrasi zat aktif diasumsikan pada saat pemakaian atau pengambilan akan selalu sama atau seragam.

Tabel 9. Hasil homogenitas sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri.

Formula	Minggu 0	Minggu 3
Formula I	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen

Keterangan:

Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Hasil pengamatan terhadap homogenitas gel menunjukkan bahwa ketiga formula gel minyak atsiri daun jeruk purut memiliki homogenitas yang baik karena tidak terbentuk partikel yang memisah, fase terdispersi terdistribusi merata pada fase pendispersi. Uji homogenitas dengan cara lain menunjukkan bahwa gel yang dioleskan pada sekeping kaca atau objek glass menunjukkan hasil yang homogen yaitu terlihat merata dan tidak ada gumpalan komponen gel berarti hasil penelitian sudah sesuai dengan pustaka.

9.3 Hasil uji pH. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah kadar pH dalam sediaan gel memenuhi persyaratan untuk sediaan topikal. Hasil penentuan pH sediaan gel dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil pemeriksaan pH gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Minggu 0	6,61	6,48	6,81
Minggu 3	6,59	6,50	6,78

Keterangan:

Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Hasil pengamatan uji pH gel minyak atsiri daun jeruk purut pada tabel 10 menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 3 minggu atau 21 hari, sediaan gel mengalami penurunan dan kenaikan pH. Kemungkinan disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam dan masuk ke dalam gel, akan tetapi pada penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada setiap formula tidak terlalu signifikan dan sehingga dapat dikatakan pH sediaan relatif stabil pada penyimpanan. Berdasarkan hasil penelitian diketahui pH sediaan dalam rentang 6,48-6,81, pH tersebut memenuhi persyaratan pH sediaan topikal yaitu 5,0-6,8 (Ansari 2009). Kulit yang normal memiliki pH 5,0-6,8 sehingga sediaan topikal harus memiliki pH yang sama dengan pH normal kulit. Kesesuaian pH kulit dengan pH sediaan topikal mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan. Sediaan topikal yang ideal adalah tidak mengiritasi kulit. Kemungkinan iritasi kulit akan sangat besar apabila sediaan terlalu asam atau terlalu basa.

9.4 Hasil uji viskositas. Viskositas sediaan berhubungan terhadap kemudahan sediaan dari pemakaian suatu sediaan. Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektivitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dalam penggunaan sehingga tidak boleh terlalu kental dan terlalu encer. Viskositas gel yang terlalu encer akan menurunkan daya lekat gel pada kulit sehingga efektivitas penghantaran zat aktif menjadi rendah, sedangkan apabila viskositas sediaan terlalu kental dapat memberikan ketidaknyamanan saat sediaan digunakan. Hasil pengamatan viskositas gel minyak atsiri dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil viskositas sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Minggu 0	42,27 ± 1,12	33,33 ± 0,76	21 ± 1,33
Minggu 3	38,23 ± 0,93	29,23 ± 1,21	20,83 ± 0,40

Keterangan:

Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Data di atas menunjukkan bahwa formula 1 lebih kental dari ketiga formula karena konsentrasi minyak atsiri yang paling kecil diantara ketiga formula. Konsentrasi minyak atsiri dengan konsentrasi 2% dan 4% menghasilkan gel dengan viskositas yang besar. Sedangkan gel minyak atsiri konsentrasi 8% menghasilkan viskositas yang encer atau viskositas kecil. Hasil pengamatan terhadap viskositas gel menunjukkan bahwa viskositas dari ketiga formula dari minggu ke minggu cenderung menurun. Penurunan viskositas tersebut dapat disebabkan karena pengaruh suhu selama penyimpanan. Adanya kenaikan suhu akan memperbesar jarak antar atom sehingga gaya antar atom akan berkurang, jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas sediaan menjadi turun. Viskositas suatu sediaan berpengaruh pada luas penyebarannya. Semakin rendah viskositas suatu sediaan maka penyebarannya akan semakin besar sehingga kontak antara obat dengan kulit semakin luas dan absorpsi obat ke kulit akan semakin cepat (Maulidaniar dkk, 2011).

9.5 Hasil uji daya sebar. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan basis menyebar pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Gel yang

baik adalah gel yang memiliki daya sebar paling luas, mudah dicuci dan diabsorbsi dengan baik oleh kulit sehingga kontak antara zat aktif dengan kulit semakin bagus. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil pengukuran daya sebar gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Formula	Beban (g)	Luas penyebaran (cm ² ± SD)	
		Minggu 0	Minggu 3
Formula I	49,307	5,2 ± 0,72	5,35 ± 0,35
	99,307	6,3 ± 0,53	6,5 ± 0,75
	149,307	7,47 ± 0,12	7,53 ± 0,23
	199,307	7,63 ± 0,21	7,73 ± 0,25
Formula II	49,307	6,53 ± 0,32	6,6 ± 0,44
	99,307	7,13 ± 0,49	7,13 ± 0,49
	149,307	7,23 ± 0,15	7,4 ± 0,43
	199,307	8,17 ± 0,21	8,27 ± 0,15
Formula III	49,307	7,2 ± 0,1	7,23 ± 0,15
	99,307	8,07 ± 0,15	8,13 ± 0,21
	149,307	8,7 ± 0,26	8,77 ± 0,359,3
	199,307	9,3 ± 0,15	9,3 ± 0,15

Keterangan:

Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Data di atas menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi minyak atsiri, maka semakin besar daya sebaranya, karena besarnya konsentrasi minyak atsiri di dalam gel menyebabkan konsistensi gel menjadi semakin encer, sehingga lebih mudah menyebar dan menyebabkan daya sebar yang semakin besar. Daya sebar yang baik menyebabkan kontak antara obat dengan kulit menjadi luas, sehingga absorpsi obat ke kulit berlangsung cepat.

9.6 Hasil uji daya lekat. Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan gel melekat pada tempat aplikasinya. Daya lekat akan berhubungan dengan lamanya kontak antara basis dengan permukaan kulit dan kenyamanan penggunaan basis.

Semakin lama gel melekat, maka semakin lama kontak yang terjadi antara kulit dan gel sehingga penghantaran obat makin efektif. Hasil pengukuran daya lekat gel dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil daya lekat gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Minggu 0	$3,25 \pm 0,63$	$2,63 \pm 0,79$	$1,91 \pm 0,33$
Minggu 3	$2,18 \pm 0,23$	$1,85 \pm 0,18$	$1,64 \pm 0,45$

Keterangan:

Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Data pada tabel 13 menunjukkan hubungan antara viskositas dan daya lekat gel adalah berbanding searah, artinya semakin besar viskositas maka daya lekatnya akan semakin meningkat, begitu juga sebaliknya, semakin kecil viskositas maka daya lekatnya akan semakin menurun. Formula yang memiliki daya lekat paling tinggi adalah gel minyak atsiri daun jeruk purut 2% dan formula yang memiliki daya lekat paling rendah adalah gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%.

10. Hasil pengujian stabilitas gel.

Pengujian stabilitas sediaan gel ini dilakukan untuk mengetahui stabil tidaknya gel yang dibuat berdasarkan penyimpanan pada suhu yang berbeda.

Pengujian dilakukan dengan metode *freeze thaw* yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 48 jam (1 siklus). Setelah itu dilanjutkan sampai lima siklus. Parameter yang digunakan dalam penentuan stabilitas gel yaitu organoleptis, pH dan viskositas gel.

10.1 Hasil uji organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual (pengamatan) dengan melihat ada tidaknya perubahan yang terjadi pada gel minyak atsiri daun jeruk purut setelah diuji dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji organoleptis stabilitas gel fengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil uji organoleptis stabilitas gel minyak atsiri daaun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri dengan menggunakan metode *freeze thaw*.

Siklus	Formula I	Formula II	Formula III
1	Stabil	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil	Stabil
4	Stabil	Stabil	Berubah
5	Stabil	Berubah	Berubah

Keterangan:

- Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%
 Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%
 Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Dari hasil pengamatan secara visual uji stabilitas pada tabel 13 menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang berbeda selama lima siklus, sediaan gel formula III pada siklus ke empat dan limas serta sediaan gel formula II pada siklus ke lima mengalami perubahan fase/terpisah. Hal ini dikarenakan minyak atsiri keluar dari basis gel dan berkumpul di permukaan sehingga pada pengamatan visual terbentuk lapisan cairan di permukaan gel yang mengindikasikan tidak stabilnya sediaan gel.

10.2 Hasil uji pH. Indikator lain yang diamati yaitu pH. Pada perlakuan sebelum dan setelah proses uji stabilitas gel dengan metode *freeze thaw* terlihat bahwa terjadi penurunan pH pada semua formula. Hasil pengujian pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* gel minyak atsiri daun jeruk purut.

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
T0	6,61	6,48	6,81
T20	6,40	6,65	6,70

Keterangan:

- Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%
 Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%
 Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Dari data tersebut, dapat dilihat hasil pengamatan terhadap pH ketiga formula sebelum dan setelah uji kestabilan dengan *freeze thaw* terlihat adanya penurunan dan kenaikan pH. Penyebabnya bukan karena pengaruh minyak atsiri tetapi karena pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam yang masuk dalam sediaan gel. Akan tetapi, pada penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada tiap formula tidak terlalu signifikan dan sehingga dapat dikatakan pH sediaan relatif stabil.

10.3 Uji viskositas. Pengukuran viskositas menunjukkan bahwa terjadi penurunan hampir di setiap formula setelah perlakuan kondisi pengujian metode *freeze thaw*. Hasil pengukuran viskositas gel sebelum dan setelah perlakuan uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Hasil pengukuran viskositas gel minyak atsiri daun jeruk purut sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw*.

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
T0	42,27 ± 1,12	33,33 ± 0,76	21 ± 1,33
T20	37,4 ± 1,23	27,97 ± 0,83	19,53 ± 0,96

Keterangan:

Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%

Hasil pengamatan terhadap viskositas gel menunjukkan bahwa viskositas ketiga formula sebelum dan setelah dilakukan pengujian dengan metode *freeze thaw* cenderung menurun. Penurunan viskositas tersebut dapat disebabkan karena pengaruh suhu selama penyimpanan. Adanya kenaikan suhu akan memperbesar jarak antar atom sehingga gaya antar atom akan berkurang, jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas gel menjadi turun. Penyebab lain yaitu terjadinya proses sineresis di dalam sediaan gel. Sineresis terjadi akibat adanya kontraksi di dalam massa gel. Adanya perubahan pada gel akan mengakibatkan jarak matriks berubah, sehingga cairan yang terjerat keluar dan berada di atas permukaan gel.

11. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil masing-masing satu sampel dua ose kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang berisi BHI (*Brain Heart Infusion*), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah diinkubasi dipipet sebanyak 0,01 ml dimasukkan dalam 10 ml NaCl dengan pengenceran 1:1000, kemudian kekeruhan

hasil suspensi bakteri uji disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 untuk difusi. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada Lampiran 6.

12. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dengan melakukan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media diferensial *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian menunjukkan koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam), dimana dalam kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 9.

13. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode pewarnaan

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi. Hasil pengamatan dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran kuat (100x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal daripada Gram negatif, sehingga pada pengecatan

Gram *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk Gram positif atau Gram negatif. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet dan iodin, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestraksinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelezar dan Chan 2000). Hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran 9.

14. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara biokimia

Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang diinokulasi pada medium nutrien cair dengan H_2O_2 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase, dimana H_2O_2 yang dituang akan terurai menjadi H_2O (air) dan O_2 (oksigen), hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2 . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H_2O_2 yang dihasilkan sendiri. Bakteri katalase positif akan

memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen seperti pada percobaan yang telah dilakukan. (Waluyo 2004). Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada Lampiran 9.

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi nama asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil pengamatan tabung diperiksa dengan melihat pembentukan gumpalan selama 1-4 jam. Hasil positif kuat jika tabung tes dibalik atau dimiringkan, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. *Staphylococcus aureus* yang bersifat koagulase positif akan menggumpalkan plasma dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al* 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Tes koagulasi ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulase atau biokimia dapat dilihat pada Lampiran 9.

15. Hasil pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut dilakukan terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar khususnya metode sumuran. Pengujian dilakukan terhadap sampel uji ketiga formula (formula 1, formula 2 dan formula 3), kontrol positif gel *hand sanitizer* Antis dan kontrol negatif basis tanpa minyak atsiri. Gel dari masing-masing

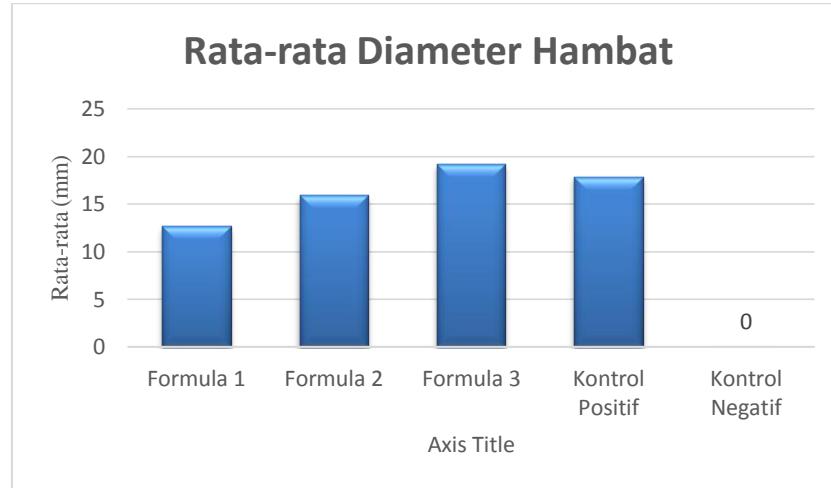
formula dimasukkan kurang lebih 100 mikroliter ke dalam beberapa sumuran dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA), kemudian diamati diameter zona hambatnya setelah diinkubasi selama 24 jam. Berikut adalah tabel hasil uji aktivitas antibakteri dari masing-masing formula.

Tabel 17. Hasil uji aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut

Formula	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm)	\pm SD
	Replikasi				
I	12	12,7	13,5	12,5	12,7
II	15,6	15,9	16	15,8	16,2
III	19	19,2	19,5	19,5	19
Kontrol positif	17,5	17,9	18	17,5	18
Kontrol negatif	-	-	-	-	-

Keterangan:

- Formula I : gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%
- Formula II : gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%
- Formula III : gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%
- Kontrol (+) : produk “ANTIS” (alkohol 70%)
- Kontrol (-) : basis gel tanpa minyak atsiri



Gambar 3. Histogram diameter hambat formula gel minyak atsiri daun jeruk purut.

Data pada Tabel 17 menunjukkan adanya perbedaan dari daya hambat ketiga formula tersebut. Hal tersebut dikarenakan adanya pengaruh perbedaan kandungan minyak atsiri dari ketiga formula gel tersebut. Kontrol negatif yang berupa basis gel tanpa minyak atsiri tidak menunjukkan adanya zona hambat,

artinya gel basis tanpa minyak atsiri tidak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Urutan zona hambat pertumbuhan bakteri dimulai dari yang paling besar ke yang kecil yaitu formula III (gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%), formula II (gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%) dan formula I (gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%). Pengaruh perbedaan besar kecil zona hambat adalah dari kandungan minyak atsiri pada ketiga gel tersebut. Semakin besar minyak atsiri yang terkandung di dalam gel maka menghasilkan zona hambat yang semakin besar. Minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) 1%, dengan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) 2% (Ratna dkk 2011). Sitronelal hasil isolasi menurut penelitian Vimol *et al.* (2012) mempunyai efek antibakteri terhadap *H. Influenzae*, *H. Influenzae* ATCC 49766, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* (MRSA), *S. aureus* (MSSA), *S. pneumoniae*, *S. pneumoniae* ATCC 49619 masing-masing mempunyai daya hambat 20 mm, 20 mm, 22 mm, 14 mm, 15 mm, 24 mm, dan 23 mm, sedangkan nilai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) masing-masing adalah 0,5 mg/ml, 0,5 mg/ml, 1,1 mg/ml, 8,6 mg/ml, 8,6 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,5 mg/ml. Di dalam hasil isolasi minyak atsiri daun jeruk purut menurut penelitian Vimol *et. al* (2012) juga dihasilkan senyawa limonen, terpinene-4-ol dan α -terpineol, ketiga senyawa ini juga mempunyai efek antibakteri terhadap *H. Influenzae*, *H. Influenzae* ATCC 49766, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* (MRSA), *S. aureus* (MSSA), *S. pneumoniae*, *S. pneumoniae* ATCC 49619, dengan daya bunuh limonen masing-masing 12 mm, 12 mm, 11 mm, 6 mm, 6 mm, 11 mm, dan 8 mm, nilai MBC

(*Minimum Bactericidal Concentration*) masing-masing adalah 67 mg/ml, 67 mg/ml, >134 mg/ml, >134 mg/ml, >134 mg/ml, 33 mg/ml, dan 67 mg/ml. Nilai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) terpinene-4-ol masing-masing 0,3 mg/ml, 5 mg/ml, 20 mg/ml, 5 mg/ml, 20 mg/ml, 0,15 mg/ml, 2,50 mg/ml. Nilai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) α -terpineol adalah 0,70 mg/ml, 0,07 mg/ml, 1,20 mg/ml, 2,40 mg/ml, 2,40 mg/ml, 0,30 mg/ml, 0,60 mg/ml. Sitronelal atau rhodinal atau 3,7-dimethyloct-6-en-1-al ($C_{10}H_{18}O$) adalah monoterpenoid. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (Cowan, 1999). Limonen dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja menembus dinding sel bakteri sehingga merusak permeabilitas membran sitoplasma (Ajizah, 2004). Mekanisme kerja senyawa yang ada di dalam minyak atsiri daun jeruk purut sebagai antibakteri adalah menghambat sintesis protein dan merusak dinding sel bakteri. Melihat data tersebut di atas dapat diasumsikan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut membunuh bakteri patogen yang lain.

Hasil uji statistik dari ketiga formula gel dengan minyak atsiri, kontrol positif (antis) dan kontrol negatif (gel tanpa minyak atsiri) terdapat perbedaan bermakna dari masing-masing formula, hal tersebut menunjukkan bahwa pengaruh penggunaan besar kecilnya konsentrasi minyak atsiri yang dimasukkan ke dalam gel berpengaruh pada besar kecilnya daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Semakin besar konsentrasi minyak atsiri yang digunakan pada gel, maka semakin besar daya hambatnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

B. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Pertama, gel minyak atsiri daun jeruk (*Citrus hystrix* DC.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut yang sudah efektif berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi adalah 2%.

C. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan pada peneliti selanjutnya agar didapatkan hasil yang lebih maksimal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan percobaan variasi karbopol untuk mendapatkan konsentrasi basis yang lebih optimal dalam membantu aktivitas antibakteri.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut menggunakan spesies bakteri patogen yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB.
- Anief, 1997. *Apa yang Perlu Diketahui Tentang Obat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ansel H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Ansel HC. 2006. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi IV*. Farida Ibrahim. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 605-608. Terjemahan dari: *Introduction Forms Pharmaceutical Preparations*.
- Banker , GS and Anderson, N.R. 1986. Semisolid in Lachman, L, Lieberman, H.A., Kanig, J.L., *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3rd Ed*, Lea and Febiger, Philadepia
- Benjamin, DT. 2010. *Introduction to Hand Sanitizer*.
- Bonang G, Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- British Pharmacopoeia. 2009. *British Pharmacopoeia Vol. 1 % 2*. London: Medicine and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA). Hal: 4788.
- Cowan, M., M., 1999, Plant products as antimicrobial agents, *Clinical microbiology reviews*. Vol.12, No.4, 564-82
- Dyah, S., Mamik, P.R., dan Rini, P. 2009. *Efek Penolak Serangga dan Larvasida Ekstrak Daun Jeruk Purut Terhadap Aedes aegypti*. Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi. Surakarta.
- [Depkes] RI. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] RI. 2001. *Materia Medika Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Garrity GM, Lilburn JR, Cole SH, Harrison, J Euzeby, and BJ Tindall. 2007. *Taxonomic Outline Of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364-464.

- Gibson M. 2008. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation Second edition*. Leicestershire: Informa Kesehatan. Hlm 476.
- Ginanjar, E. F., Retnaningrum, E., Septiani, N. I., Octaviani, A., Wiyati, D. A. T. M., & Rosrinda, E., 2010, *Handy Gel Carrota Hasil Fermentasi Daun Wortel Sebagai Antibakteri Penyebab Penyakit Kulit, Seminar Nasional Biologi*, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1169.
- Guenther E. 2010. *Minyak Atsiri*. RS Ketaren. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: Essential Oils.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hammond, B., Ali, Y., Fendler, M., Dolan, M., Donovan, S., 2000. *Effect of Hand Sanitizer Use on elementary School Absenteeism, American Journal of Infection Control*, 28 (5), 340 – 346.
- Harbone. 2007. *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Harminta. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI. PT Gramedia.
- Harnum, M. 2012. *Metode Distilasi Vakum Untuk Pembuatan Minyak Jeruk Purut Dengan Menggunakan Air Sebagai Pelarut*. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hidayat, F. K. 1999. *Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix DC) pada Skala Pilot-Plant*. Sripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Jawetz *et al.* 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universtas Airlangga. Surabaya: Penebar Swadaya.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2005. *Medical Microbiology*. 23th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2012. *Medical Mirobiology*. 26th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Koensoemardiyyah S. 2010. *A to Z Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aroma terapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI
- Lia Umi Khasanah, Kawiji, Rohula Utami, Yoga Meidiantoro Aji. 2015. *Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Terhadap Karakteristik Mutu Minyak*

- Atsiri Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix DC).* Surakarta: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret.
- Liu P, Yuen Y, Hsiao H M, Jaykus L A, Moe C, 2010. *Effectiveness of LiquidSoap and Hand Sanitizer against Norwalk Virus on Contaminated Hand.* *Appl Environ Microbiol*, 2010 January; 76(2): 394-399.
- Luangnarumitchai, S., Lamlerthon, S., dan Tiyaboonchai, W., 2007, *Antimicrobial Activity of Essential Oils Against Five Strains of Propionibacterium acnes*, *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34 (1-4), 60-64.
- Maulidaniar, R., Rahima, S. R., Rita, M., Hamidah, N. dan Yuda, A. W. (2011). *Gel Asam Salisilat*. Universitas Lambung Mangkurat Banjar Baru, dipublikasikan.
- Munawaroh Safaatul dan Prima Astuti handayani. 2010. *Ekstraksi minyak daun jeruk purut (Citrus hystrix) dengan pelarut etanol dan n-heksana*. Jurnal Kompetensi Teknik.
- Nugraheni, K.S. 2012. *Pengaruh Perlakuan Pendahuluan dan Metode Destilasi Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Kayu Manis*. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret Surakarta. Surakarta.
- Ratna Y, Peni I, Septi SR. 2011. *Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix) Terhadap Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli*. SURAKARTA: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Retnosari, Isadiartuti, D., 2006, *Studi Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih (Piper betle Linn.)*, Majalah Farmasi Indonesia, 17(4), 163-169.
- Sait, S dan Lubis, E. 1991. *Potensi Minyak Atsiri Indonesia Sebagai Tanaman Obat. BPTO*. Bogor.
- Salasia, S.I.O. 2005. *Karakterisasi Fenotipe Isolat Staphylococcus aureus dari Sampel Susu Sapi Perah mastitis Subklinis*. J Sain Vet. FKH UGM Vol. 23 No.34 : 72-78
- Sastroamidjojo, Hardjono. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Jogjakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Shah, M. A., Natarajan, S.B., Gousuddin, M., 2014, *Formulation, Evaluation and Antibacterial Efficiency of Herbal Hand Wash Gel*, International Journal of Pharmaceutical Science, 25(2), 120-124

Suardi, M., Armenia, & Maryawati, A., 2008, *Formulasi dan Uji Klinik Gel Anti Jerawat Benzoil Peroksida-HPMC*, Fakultas Farmasi FMIPA Universitas Andalas, Padang, 1-3.

Suryono B. 2009. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analis Kesehatan Bhakti Jaya.

The US Department og Agriculture. 2015. *USDA National Nutrient Database*.

Vimol S, Chanwit T, Veena N, Nuntavan B, Kulkanya C, Siwimol P, Sirirat C, Somporn S. 2012. *Antibacterial activity of essential oils from Citrus hystrix (makrut lime) against respiratory tract pathogens*. Department of Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Phayathai Road, Bangkok 10400 Thailand

Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi ke – 5*. Diterjemahkan oleh Soewandhi, S.N. dan Widianto, M.B. Edisi V. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm 311-370, 560-567.

Warsa, V.C. *Kokus Positif Gram*. Dalam buku ajar mikrobiologi kedokteran. Staf pengajar fakultas kedokteran UI, Jakarta: Binarupa aksara 1994.

Wiyono B, Hartoyo dan Poedji Hastoeti. 2000. Sifat-sifat dasar minyak atsiridan kemungkinan penerapan baku mutunya. *Buletin Penelitian Hasil Hutan* (2). Pusat penelitian Hasil Hutan. Bogor: hal 130-135.

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman jeruk purut

Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Kunci Determinasi :

- 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15b, 197b, 208b, 219b, 220a,
 221b, → Familia: Rutaceae
 1a, → Genus : Citrus
 1a, 2a, → Species : *Citrus hystrix* DC.

Klasifikasi :

- Divisio : Spermatophyta
 Sub Divisio : Angiospermae
 Classis : Dicotyledoneae
 Sub Classis : Dialypetalae
 Ordo : Rutaless
 Familia : Rutaceae
 Genus : Citrus
 Species : *Citrus hystrix* DC.

Tabel Deskripsi tanaman *Citrus hystrix* DC.:

Keterangan	Deskripsi
Akar	Tanaman perdu dengan akar tunggang.
Batang	Batang silindris, banyak percabangan, batang tua berwarna coklat dengan permukaan sedikit kasar, batang muda kehijauan dengan permukaan terlihat mengkilat, berduri. Rumus batang 1/3 atau 2/5.
Daun	Daun unifoliat atau majemuk menyirip tunggal atau dengan satu anak daun, tangkai bersayap lebar dengan panjang \pm 1 – 4,5 cm dan kadang memiliki ukuran yang hampir sama dengan helai daun di ujungnya, sayap sering terlihat daun bertumpuk atau terlihat seolah-olah anak daun yang satu di atas yang lain. Helaian daun bagian ujung dengan basis tumpul sampai membulat dan apex tumpul, bentuk bangun daun elips sampai bulat telur, pertulangan menyirip.

	tepi bertoreh halus atau bergelombang sampai beringgit meleukuk ke dalam.
Bunga	Bunga tunggal sampai berangkaian 1 – 15 kuntum pada batang atau ketiak daun atau pada bagian ujung, berkelamin ganda. perhiasan bunga berbilangan 4 – 5, sepala atau daun kelopak berwarna hijau berlekatani membentuk lonceng dengan panjang \pm 1.5mm, petala atau daun mahkota berwarna putih kekuningan atau sedikit keunguan, petala saling berlepasan dengan bentuk petala bulat telur (<i>ovate</i>) sampai memanjang (<i>oblongus</i>), aktinomorf atau bunga bersimetri banyak, bakal buah menumpang, embryo putih atau putih kehijauan, stamen 24 – 30.
Buah	Berwarna hijau atau hijau kekuningan, bentuk bola sampai bentuk buah bulat telur dengan bagian ujung sedikit menonjol atau terdapat bagian yang meruncing tumpul, buah dengan tiga lapisan kulit, dengan ukuran 5 – 7 cm. Jenis buah: Buah sejati tunggal berdaging, buah jeruk (<i>hesperidium</i>). Struktur buah: exocarpium/epicarpium, mesocarpium, endocarpium, bulir, biji, tembuni. Tekstur buah: kulit luar berkerut kasar, mesocarpium bergabus, endocarpium membentuk sekat tipis pemisah bulir-bulir, bulir lembut berair. Warna: kulit luar hijau sampai hijau kekuningan, mesocarpium putih, endocarpium putih pucat sedikit transparan, bulir putih pucat, biji keputihan.
Biji	Biji dengan kulit biji yang sedikit licin dan keras. Biji buah: setiap sekat terdiri lebih dari 1 biji, bentuk bulat telur.
Manfaat	Buah sering dimanfaatkan untuk obat atau dibuat memasak.

Sumber :

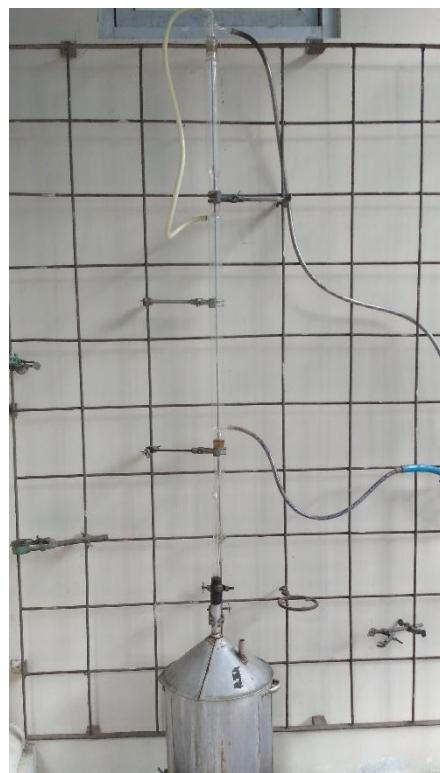
Becker, D.Sc , C.A. and Van den Brink Jr, PH.D., R.C. Bakhuizen. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only)* Vol II. Groningen-The Netherlands:Wolters-Noordhoff N.V.

Steenis, C.G.G.J. van. 2005. *Flora*. Jakarta : PT. Pradnya Paramita.

Tjitrosoepomo, G. 2007. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta : UGM Press.

Lampiran 2. Daun jeruk purut dan destilasi

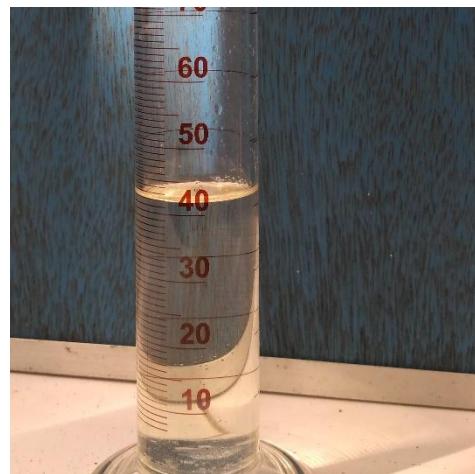
Daun jeruk purut



Rangkaian alat destilasi uap dan air



Pemisahan minyak dan air

Lampiran 3. Minyak atsiri Daun Jeruk Purut

Minyak atsiri daun jeruk purut



Refraktometer



Neraca analitik

Lampiran 4. Gambar alat uji gel**Alat uji daya sebar****Alat uji pH meter****Alat uji viskositas****Alat uji daya lekat**

Lampiran 5. Alat sterilisasi



Autoklaf



Oven



Inkubator



Inkas

Lampiran 6. Bahan uji antibakteri

Gel Minyak atsiri daun jeruk purut



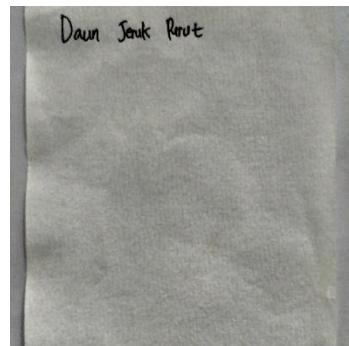
Bakteri murni



Suspensi bakteri



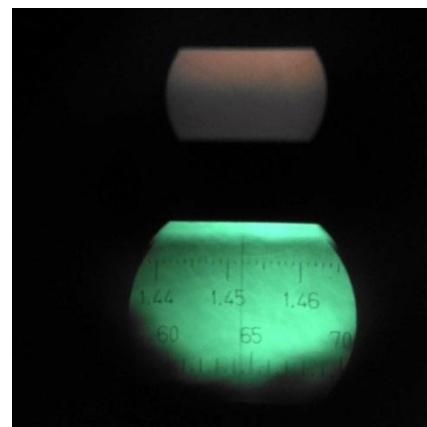
Kontrol (+)

Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol

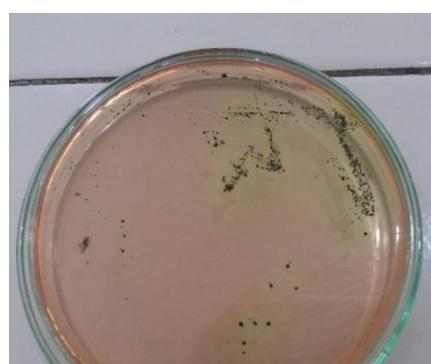
Minyak atsiri daun jeruk purut



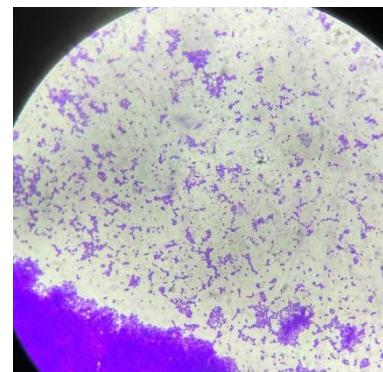
Minyak atsiri daun jeruk purut kelarutan dalam alkohol

Lampiran 8. Identifikasi minyak atsiri indeks bias

Indeks bias daun jeruk purut

| Lampiran 9. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

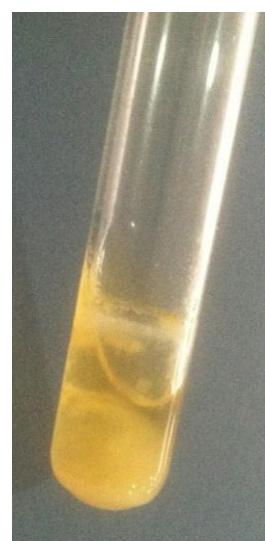
Uji makroskopik koloni



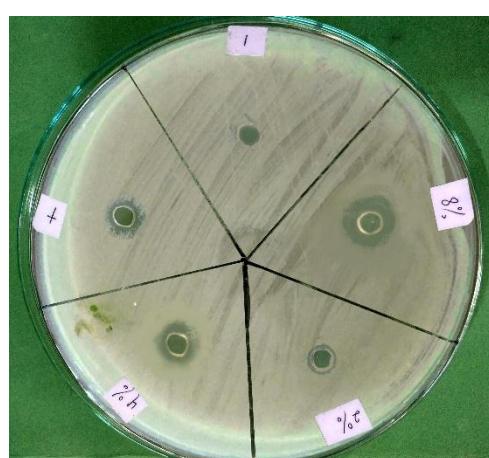
Uji pewarnaan Gram



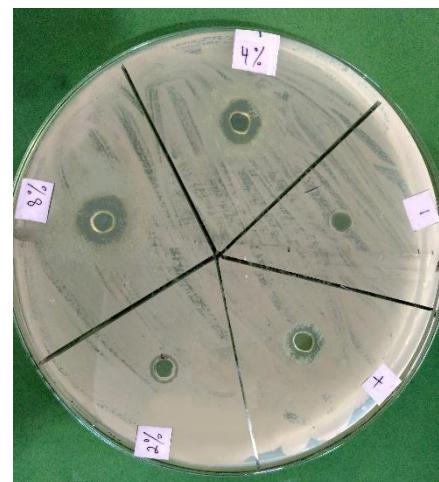
Uji katalase



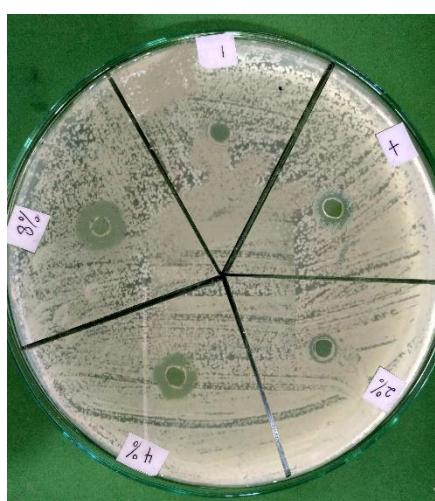
Uji koagulase

Lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan difusi

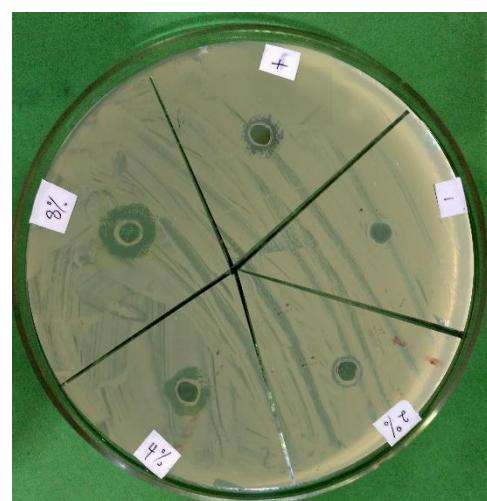
Replikasi 1



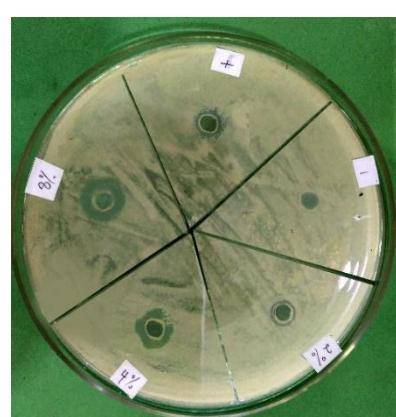
Replikasi 2



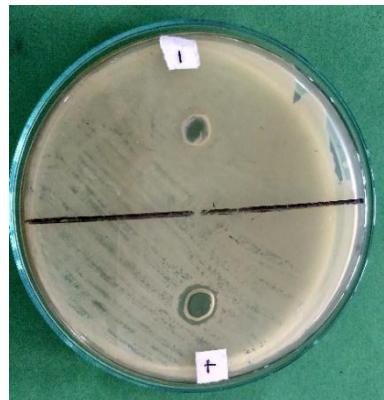
Replikasi 3



Replikasi 4



Replikasi 5



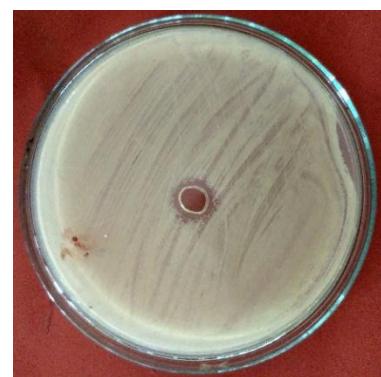
Orientasi Kontrol (+) dan (-) replikasi 1



Orientasi Kontrol (+) dan (-) replikasi 2



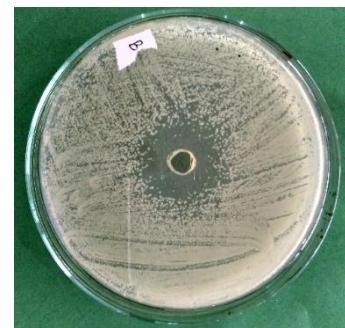
Orientasi Kontrol (+) dan (-) replikasi 3



Orientasi gel 2%



Orientasi gel 4%



Orientasi gel 8%

Lampiran 11. Perhitungan kadar minyak atsiri daun jeruk purut

Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
5000	42	0,84 %

Perhitungan % Rendemen :

$$\% \text{ Rendemen daun jeruk purut} = \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100 \%$$

$$\frac{42 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,84 \%$$

Jadi, kadar minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) adalah 0,84 %

Lampiran 12. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri

Sampel	Indeks bias praktek	Indeks bias pustaka
Daun Jeruk Purut	1,452	1,449-1,50 pustaka: Sait dan Lubis (1991); Kurniawan (2011)

Jadi, Indeks bias menurut hasil penelitian sama dengan indeks bias menurut pustaka.

Lampiran 13. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri

Bobot timbang kosong (g)	Bobot timbang + air (g)	Bobot timbang + minyak (g)	Bobot minyak (g)
		Daun jeruk purut	Daun jeruk purut
37,66	38,78	38,50	0,84
37,66	38,78	38,50	0,84
37,66	38,78	38,51	0,85
Rata -Rata		0,86	

Perhitungan bobot jenis :

I. Bobot jenis daun jeruk purut :

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 38,78 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{37,79} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,99 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,84}{0,99} = 0,8485
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 38,78 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{37,79} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,99 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,84}{0,99} = 0,8485
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 38,78 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{37,79} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,99 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,85}{0,99} = 0,8586
 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut} = \underline{0,8485+0,8485+0,8586} = 0,8519$$

3

Jadi, bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut adalah 0,8519

Perhitungan konversi suhu ruang dalam percobaan bobot jenis :

Faktor konversi pada suhu setiap kenaikan 1°C = 0,0007

Berat jenis minyak daun jeruk purut teoritis $25^{\circ}\text{C} = 0,696-1,1188$

Suhu ruang praktik = 31°C

Perhitungan :

$$(31-25) \times 0,0007 = 0,0042$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} &= (0,696 + 0,0042) - (1,1188 + 0,0042) \\ &= 0,7002-1,123 \text{ g/ml} \end{aligned}$$

Jadi, bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut praktik sesuai dengan bobot jenis menurut pustaka.

Lampiran 14. Diameter daya hambat

Formula	Diameter hambat (mm)					Rata-rata	± SD
	I	II	III	IV	V		
1	12	13,5	12,5	12,7	13	12,74	± 0,56
2	17,5	18	17,5	18	18,5	17,9	± 0,42
3	19	19,5	19,5	19	19	19,2	± 0,27
Kontrol positif	15,6	16	15,8	16,2	16	15,92	± 0,23
Kontrol negatif	-	-	-	-	-	-	-

Perhitungan rata-rata diameter hambatan :

➤ Antis (Kontrol (+)) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,57 + 1,55 + 1,56 + 1,54}{4} = 1,55 \text{ cm} = 15,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,6 + 1,6 + 1,6 + 1,6}{4} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,58 + 1,58 + 1,57 + 1,59}{4} = 1,58 \text{ cm} = 15,8 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi IV} = \frac{1,62 + 1,63 + 1,62}{3} = 1,62 \text{ cm} = 16,2 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi V} = \frac{1,6 + 1,6 + 1,6}{3} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm}$$

➤ Formula 1 (Gel minyak atsiri daun jeruk purut 2%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,15 + 1,25 + 1,2 + 1,2}{4} = 1,2 \text{ cm} = 12 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,35 + 1,33 + 1,37 + 1,35}{4} = 1,35 \text{ cm} = 13,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,3 + 1,25 + 1,25 + 1,2}{4} = 1,25 \text{ cm} = 12,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi IV} = \frac{1,27 + 1,27 + 1,28 + 1,27}{4} = 1,27 \text{ cm} = 12,7 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi V} = \frac{1,3 + 1,3 + 1,3}{3} = 1,3 \text{ cm} = 13 \text{ mm}$$

➤ Formula 2 (Gel minyak atsiri daun jeruk purut 4%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,75 + 1,71 + 1,79 + 1,75}{4} = 1,75 \text{ cm} = 17,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,8 + 1,8 + 1,6 + 1,8}{4} = 1,8 \text{ cm} = 18 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,73 + 1,73 + 1,75 + 1,79}{4} = 1,75 \text{ cm} = 17,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi IV} = \frac{1,8 + 1,8 + 1,8}{3} = 1,8 \text{ cm} = 18 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi V} = \frac{1,85 + 1,89 + 1,81 + 1,85}{4} = 1,85 \text{ cm} = 18,5 \text{ mm.}$$

➤ Formula 3 (Gel minyak atsiri daun jeruk purut 8%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,9 + 1,9 + 1,9 + 1,9}{4} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,95 + 1,99 + 1,93 + 1,93}{4} = 1,95 \text{ cm} = 19,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,9 + 2,0 + 1,95 + 1,95}{4} = 1,95 \text{ cm} = 19,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi IV} = \frac{1,9 + 1,9 + 1,85 + 1,95}{4} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi V} = \frac{1,85 + 1,95 + 1,9 + 1,9}{4} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm}$$

Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis one way anova aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
DIAMETER HAMBAT	20	16,4000	2,53585	12,00	19,50

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DIAMETER HAMBAT
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16,4000
	Std. Deviation	2,53585
Most Extreme Differences	Absolute	,168
	Positive	,128
	Negative	-,168
Kolmogorov-Smirnov Z		,750
Asymp. Sig. (2-tailed)		,627

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

DIAMETER HAMBAT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,698	3	16	,567

Descriptives

DIAMETER HAMBAT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
FORMULA1	5	12,6800	,54037	,24166	12,0090	13,3510	12,00	13,50
FORMULA 2	5	15,9000	,22361	,10000	15,6224	16,1776	15,60	16,20
FORMULA 3	5	19,2400	,25100	,11225	18,9283	19,5517	19,00	19,50
KONTROL	5	17,7800	,25884	,11576	17,4586	18,1014	17,50	18,00
POSITIF								
Total	20	16,4000	2,53585	,56703	15,2132	17,5868	12,00	19,50

ANOVA

DIAMETER HAMBAT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	120,292	3	40,097	339,808	,000
Within Groups	1,888	16	,118		
Total	122,180	19			

Multiple Comparisons

DIAMETER HAMBAT

LSD

(I) FORMULA GEL	(J) FORMULA GEL	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
FORMULA1	FORMULA 2	-3,22000*	,21726	,000	-3,6806	-2,7594
	FORMULA 3	-6,56000*	,21726	,000	-7,0206	-6,0994
	KONTROL	-5,10000*	,21726	,000	-5,5606	-4,6394
	POSITIF					
FORMULA 2	FORMULA1	3,22000*	,21726	,000	2,7594	3,6806
	FORMULA 3	-3,34000*	,21726	,000	-3,8006	-2,8794
	KONTROL	-1,88000*	,21726	,000	-2,3406	-1,4194
	POSITIF					
FORMULA 3	FORMULA1	6,56000*	,21726	,000	6,0994	7,0206
	FORMULA 2	3,34000*	,21726	,000	2,8794	3,8006
	KONTROL	1,46000*	,21726	,000	,9994	1,9206
	POSITIF					
KONTROL	FORMULA1	5,10000*	,21726	,000	4,6394	5,5606
	FORMULA 2	1,88000*	,21726	,000	1,4194	2,3406
	FORMULA 3	-1,46000*	,21726	,000	-1,9206	-,9994

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

Lampiran 15. Komposisi media

a. Formulasi dan pembuatan *Nutrien Agar* (NA)

Pepton from meat	5,0 gram
Meat extract	3,0 gram
Agar	15,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat infusion	2,0 gram
Bacto asam kasamino	17,5 gram
Kanji	1,5 gram
Agar	17,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

c. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potassium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-)mannitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.