

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan bahan baku minyak atsiri daun cengkeh sebagai bahan aktif gel antiseptik. Minyak atsiri daun cengkeh ini berasal dari Palu, Sulawesi Tengah, Indonesia. Tanaman ini termasuk jenis tumbuhan dari family *Myrtaceae*. Pada daun cengkeh mengandung senyawa *eugenol*, *eugenol aetat* dan *caryophyllene* (Zulchi dan Nurul, 2006). Kadar *eugenol* dalam minyak atsiri daun cengkeh umumnya antara 80-88% (Nurdjannah, 2004). Senyawa *eugenol* ini dapat berkhasiat sebagai antibakteri. *Eugenol* merupakan salah satu turunan dari *senyawa fenol* yang potensial memiliki daya antibakteri. Mekanisme antibakteri *eugenol* berkaitan dengan interaksi pada membrane sel, dimana menyebabkan kehancuran pada membrane sel. *Eugenol* berpotensi mengakibatkan perubahan permeabilitas dinding sel sampai pada batas tertentu dan mengakibatkan kebocoran ion potassium. Kebocoran ion potassium merupakan indikator awal terjadinya kerusakan membrane sel. Selain itu, diketahui bahwa *eugenol* juga menghambat peningkatan level ATP yang terjadi, sehingga mengakibatkan penurunan ATP sebagai sumber energi sel.

A. Evaluasi kandungan minyak atsiri daun cengkeh

Analisis ini dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa *eugenol* dalam minyak atsiri daun cengkeh yang telah terbukti menghambat pertumbuhan bakteri. Instrument ini berupa GC dengan detektor MS. Pemisahan senyawa dengan GC menggunakan kolom RTX5MS dengan

panjang 30 meter serta memiliki ketebalan internal 0,25 mm. Fase gerak menggunakan gas helium dengan kecepatan 0,54 ml/menit. Sistem pemanasan diatur suhu 60° hingga 300°C dengan peningkatan sebesar 10°C setiap menit.

Menurut Harborne 1987 minyak atsiri umumnya mengandung senyawa golongan terpenoid yaitu monoterpena (C_{10}) dan seskuiterpena (C_{15}). Dari hasil uji menggunakan GC-MS untuk minyak atsiri daun cengkeh yang diperoleh dari Palu, diperoleh 6 komponen penyusunan minyak atsiri daun cengkeh yaitu *eugenol* 74,8%, *alpha-copaene* 0,66%, *beta-caryophyllene* 19,83%, *Alpha-humulene* 2,26%, *delta-cadinene* 0,16%, dan *caryophyllene oxide* 2, 29% (tabel 4).

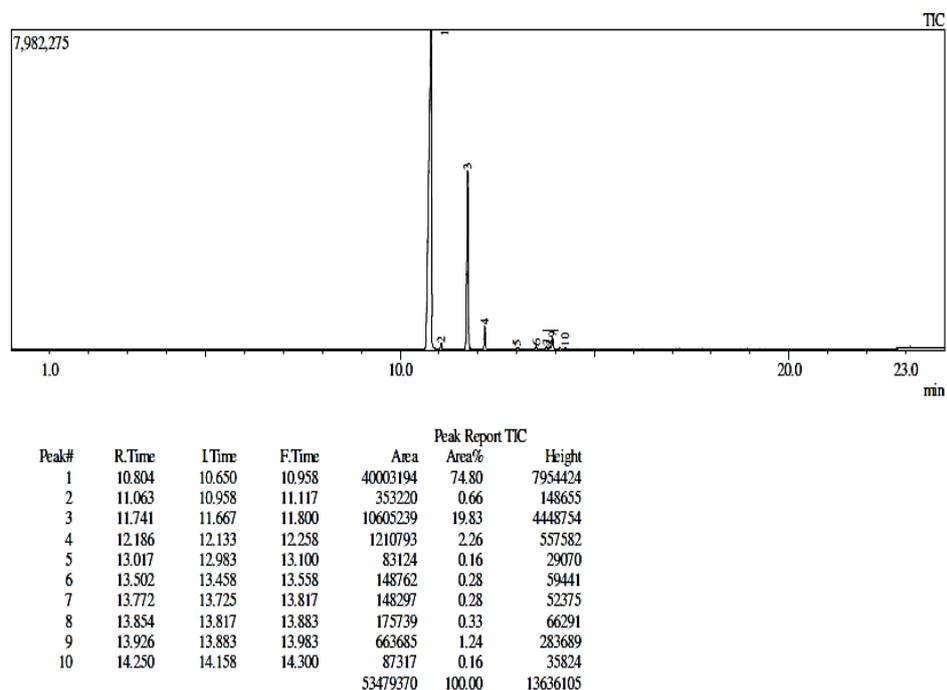
Menurut Hasim (2014) eugenol merupakan senyawa organik bahan alam yang mengandung cincin aromatik. Biosintesis senyawa eugenol mengikuti jalur shikimat sehingga senyawa ini tergolong ke dalam fenilpropanoid. Pemisahan suatu campuran senyawa menggunakan GC dipengaruhi oleh dua faktor utama, yakni titik didih senyawa dan interaksi senyawa dengan fase diam. Senyawa yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap terlebih dahulu dan dideteksi oleh detektor. Sementara itu, senyawa yang memiliki kepolaran lebih mirip dengan fase diam akan cenderung tertahan lebih lama dan memiliki waktu retensi lebih besar. Nurhasanah *et al.* (2002) melaporkan bahwa eugenol memiliki titik didih 252,66°C, sifatnya cenderung polar menyebabkan interaksi yang terjadi

dengan fase diam sangat kecil sehingga eugenol memiliki waktu retensi yang lebih cepat dibandingkan dengan senyawa lainnya.

Untuk melihat kandungan lengkap dari minyak atsiri daun cengkeh dapat dilihat pada lampiran 2.

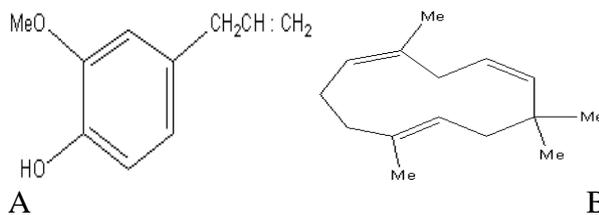
Tabel 4. Kandungan dari minyak atsiri daun cengkeh dari Palu

No.peak	Rt (menit)	BM	Nama Senyawa
1	10.804	164	Eugenol
2	11.063	204	Alpha- Copaene
3	11.741	204	Beta-Caryophyllene
4	12.186	204	Alpha- Humulene
5	13.017	204	Naphthalene
6	13.502	220	Caryophyllene oxide
7	13.772		
8	13.854	220	Caryophyllene oxide
9	13.926	220	Caryophyllene oxide
10	14.250	220	Caryophyllene oxide



Gambar 9. Hasil uji kromatografi gas minyak atsiri daun cengkeh

Kandungan minyak atsiri yang digunakan dalam penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Ayoola et.al, 2008 yang mana melaporkan bahwa minyak atsiri daun cengkeh dengan kadar tertinggi yaitu *p-eugenol*, *caryophyllene*, dan *eugenol acetate*. Terdapat sedikit perbedaan komposisi pada penelitian sebelumnya sebabkan oleh asal dari cengkeh yang dipakai. Asal daun cengkeh yang dipakai ikut menentukan komposisinya karena senyawa yang terkandung dalam daun cengkeh dipengaruhi salah satunya oleh kondisi tempat tumbuh, sehingga asal atau tempat tumbuh yang berbeda akan menyebabkan perbedaan dari kandungan komponen minyak atsiri (Arum, 2012). Struktur kimia *eugenol* dan *Caryophyllene* terdapat pada gambar 10 (A) dan (B).



Gambar 10. Struktur kimia dari *eugenol* (A), dan *Caryophyllene* (B)

Dari kedua senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri daun cengkeh, senyawa yang diduga berfungsi sebagai antibakteri adalah *eugenol* dan *caryophyllene*. Namun dari kedua tersebut yang paling berpengaruh sebagai antibakteri yaitu eugenol. Karena komponen utama dan bahan aktif dalam minyak atsiri daun cengkeh ialah *eugenol* sekitar 74.80 %.

B. Formulasi Gel Antiseptik Minyak Atsiri Daun Cengkeh

Formulasi gel antiseptik pembersih tangan (hand sanitizer) dilakukan dengan mencoba beberapa macam formula untuk menghasilkan produk terbaik.

Formulasi yang menghasilkan produk yang terbaik dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Formulasi gel antiseptik minyak atsiri daun cengkeh

Hal	F1	F2	F3	F3	Keterangan
Bahan	Konsentrasi 0 %	Konsentrasi 1 %	Konsentrasi 10 %	Konsentrasi 20 %	
Minyak Atsiri Daun Cengkeh	0 g	0,3 g	3 g	6 g	Bahan dasar antibakteri
CMC-Na	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	Bahan basis gel
Gliserin	3 g	3 g	3 g	3 g	Humektan
Propilen glikol	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	Humektan
Air ad	30 ml	30 ml	30 ml	30 ml	Pelarut

Salah satu faktor terpenting dari keberhasilan pembuatan produk gel pembersih tangan dari minyak atsiri daun cengkeh adalah menghasilkan formulasi yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Selain itu penggabungan bahan-bahan pembentuk juga menjadi faktor penting sehingga akan menghasilkan gel yang cukup kental, pH yang tidak terlalu basa (dibawah 10), tidak menyebabkan terjadinya iritasi kulit (Sari dan Isadiartuti, 2006). Rancangan formulasi yang dibuat untuk penelitian ini adalah formulasi dari penelitian sebelumnya (Titaley dkk., 2014).

C. Uji Sifat Fisik Gel

1. Uji Organoleptik

Uji organoleptis penting mengetahui bentuk, warna dan bau pada sediaan gel minyak atsiri daun cengkeh. Gel biasanya jernih dengan konsisten semi padat (Ansel, 1989).

Hasil pengujian organoleptik bisa dilihat pada tabel 6. Pengujian organoleptik dilakukan pada formula 1, 2, 3, dan 4 pada minggu ke 0 atau pada hari dimana gel selesai dibuat kemudian diuji lagi pada tiap minggunya selama 1 bulan atau sampai minggu ke-4 pada suhu ruangan. Pada formula 1 berwarna putih dan tidak mempunyai bau khas cengkeh karena pada formula 1 tidak mengandung minyak atsiri daun cengkeh. Dan untuk formula 1, 2, 3, dan 4 selama penyimpanan tidak mengalami perubahan.

Tabel 6. Hasil Uji Organoleptis

Pengamatan Organoleptis	Formula	Minggu Ke-				
		0	1	2	3	4
Bentuk	I	Gel	Gel	Gel	Gel	Gel
	II	Gel	Gel	Gel	Gel	Gel
	III	Gel	Gel	Gel	Gel	Gel
	IV	Gel	Gel	Gel	Gel	Gel
Warna	I	A	A	A	A	A
	II	B	B	B	B	B
	III	C	C	C	C	C
	IV	C	C	C	C	C
Bau	I	Tidak Bau				
	II	Khas cengkeh				
	III	Khas cengkeh				
	IV	Khas cengkeh				

Keterangan :

F I konsentrasi minyak cengkeh 0%

F II konsentrasi minyak cengkeh 1%

F III konsentrasi minyak cengkeh 10%

F IV konsentrasi minyak cengkeh 20%

A : warna putih

B : warna agak kuning

C : warna kuning

2. Pemeriksaan Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah minyak atsiri daun cengkeh sebagai zat aktif terdispersi dan tercampur secara homogen dengan excipien dan basis agar dapat memberikan efek secara maksimal sebagai antiseptik. Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan gel pada lempeng kaca secara merata. Homogenitas mencerminkan tidak terbentuknya partikel-partikel yang memisah atau fase terdispersi terdistribusi merata pada fase

pendispersi (Arum, 2012). Hasil uji homogenitas gel minyak atsiri daun cengkeh dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil pemeriksaan homogenitas

Formula	Minggu ke 0	Minggu ke 1	Minggu ke 2	Minggu ke 3	Minggu ke 4
I	homogen	homogen	homogen	homogen	Homogen
II	homogen	homogen	homogen	homogen	Homogen
III	homogen	homogen	homogen	tidak homogen	tidak homogen
IV	tidak homogen				

Keterangan:

F I konsentrasi minyak cengkeh 0%

F II konsentrasi minyak cengkeh 1%

F III konsentrasi minyak cengkeh 10 %

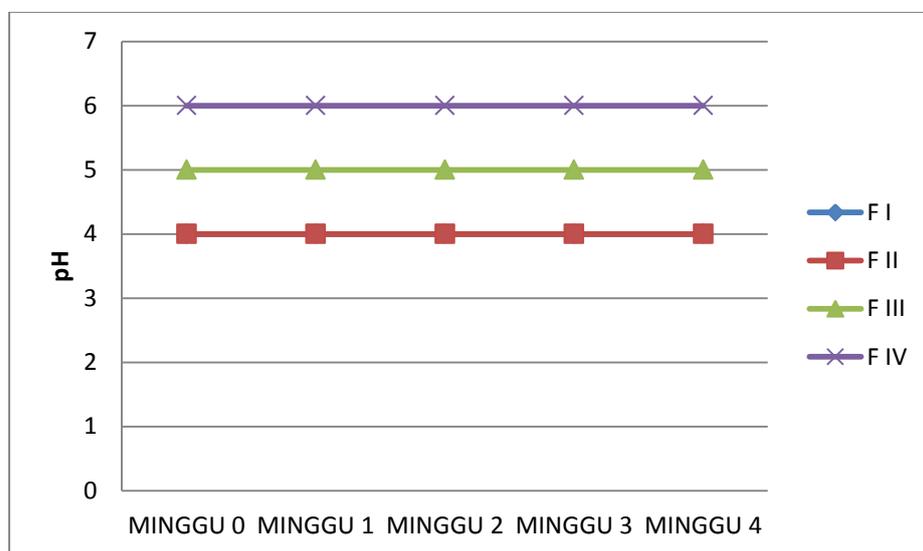
F IV konsentrasi minyak cengkeh 20%

Pemeriksaan homogenitas dilakukan pada formula 1, 2, 3, dan 4 pada minggu ke 0 atau pada hari dimana gel selesai dibuat kemudian diuji lagi pada tiap minggunya selama 1 bulan atau sampai minggu ke-4 pada suhu ruangan (Widia, 2012). Dari hasil pengujian homogenitas untuk formula 1, 2, 3 dan 4 selama satu bulan, formula 1 dan 2 selama satu bulan tidak mengalami perubahan. Pada minggu ke 2 untuk formula 3 mengalami perubahan yaitu sudah tidak homogen dimana fase minyak terpisah. Dan pada formula ke 4 sudah tidak homogen dari awal selesai pembuatannya.

Gel pada formula 2, 3, dan 4 apabila didiamkan dalam jangka panjang akan mengalami pemisahan 2 fase. Fase atas menunjukkan minyak atsiri daun cengkeh yang bersifat lipofilik dan fase bawah menunjukkan basis gel yang sebagian besar bersifat hidrofilik, sehingga keduanya tidak saling bercampur.

3. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa besar pH gel yang dihasilkan serta perubahan selama penyimpanan. Gel antiseptik minyak atsiri daun cengkeh formula 1, 2, 3, dan 4 diuji pH menggunakan kertas pH indikator pada minggu ke 0 atau pada hari dimana gel selesai dibuat kemudian diuji lagi tiap minggunya selama 1 bulan pada suhu ruangan. Hasil uji pH dapat dilihat di gambar 11.



Gambar 11. pH gel selama satu bulan

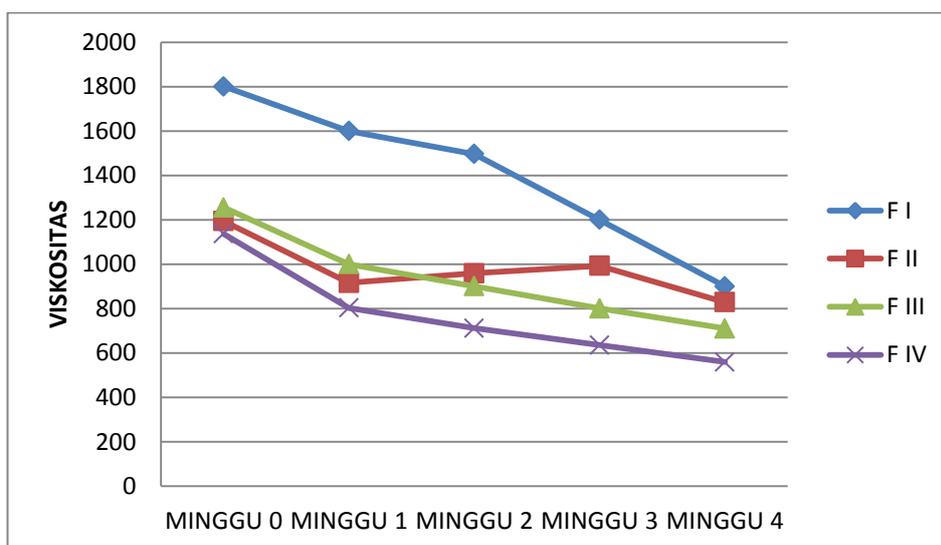
Dari hasil pengamatan uji pH ternyata didapatkan bahwa dengan adanya variasi konsentrasi minyak atsiri daun cengkeh mempengaruhi pH pada tiap formula. Setelah penyimpanan pH selama satu bulan pH

tetap stabil pada pH 4-6. Pada pH formula 1 dan 2 tidak bisa diterima oleh kulit karena < 4,5-6,5 sedangkan untuk pH formula 3 yaitu 5,00 dan formula 4 yaitu 6,00 menunjukkan bahwa sediaan gel yang dibuat masih bisa diterima oleh kulit karena range pH untuk kulit yaitu 4,5-6,5 (Tranggono dan Latifa, 2007). Jadi dapat dikatakan pH untuk formula 3 dan 4 sesuai.

4. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa kental gel yang dihasilkan. Gel antiseptik minyak atsiri daun cengkeh formula 1, 2, 3, dan 4 diuji viskositas menggunakan viskometer Brookfield DV2T.

Pada minggu ke 0 atau pada hari dimana gel tersebut selesai dibuat kemudian diuji lagi pada tiap minggunya selama 1 bulan atau minggu ke 4 pada suhu ruangan. Hasil uji viskositas dapat dilihat pada gambar 12 dan untuk data lebih lengkapnya bisa dilihat pada lampiran 3.



Gambar 12. Hasil Uji Viskositas selama satu bulan

Pada uji viskositas menunjukkan bahwa adanya variasi konsentrasi minyak atsiri daun cengkeh mempengaruhi viskositas sediaan gel. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri maka sediaan akan semakin kecil viskositasnya. Urutan nilai viskositas dari yang tertinggi hingga terendah adalah formulasi 1, 2, 3, dan 4. Minyak yang berbentuk cairan akan mempengaruhi sifat matriks gel. Dengan variasi minyak atsiri serta penambahan gelling agent yang tetap pada setiap formula akan menurunkan dan melemahkan matriks gel, sehingga viskositasnya juga akan menurun (Arum, 2012).

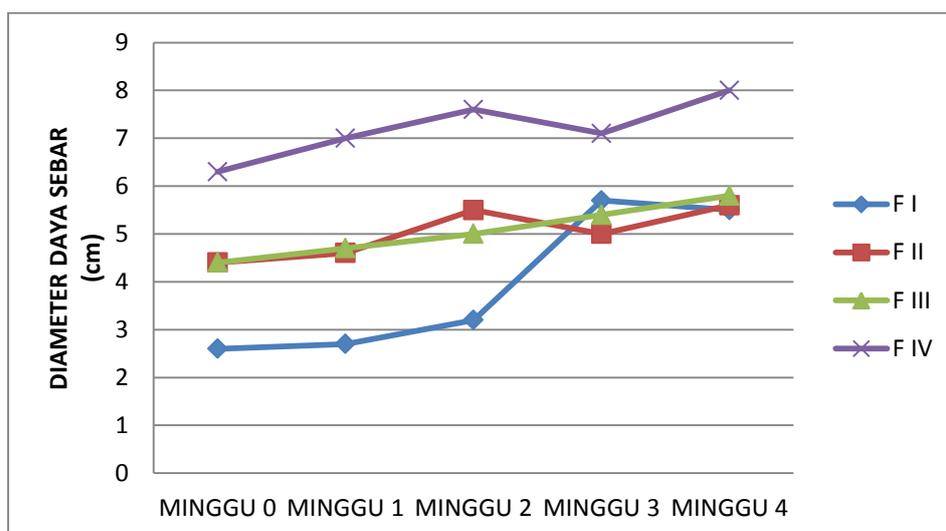
Penurunan nilai viskositas pada penyimpanan selama satu bulan disebabkan karena partikel-partikel dalam gel lama kelamaan ikatannya akan semakin lemah seiring lamanya penyimpanan yang menyebabkan kekentalannya akan semakin menurun (Arum, 2012). Penurunan viskositas juga dapat disebabkan oleh kondisi lingkungan penyimpanan seperti cahaya dan kelembapan udara. Kemasan yang kurang kedap dapat menyebabkan gel menyerap uap air dari luar, sehingga menambah volume air dari luar.

Uji statistik dari hasil data uji viskositas menggunakan one way ANOVA karena dari hasil uji normalitas sig. > 0.05 untuk melihat hasil uji normalitas dapat dilihat pada lampiran 7. Dan untuk hasil dari uji statistik one way annova hasilnya sig. 0.001 (sig < 0.05) menunjukkan bahwa penambahan minyak atsiri didalam formula yang diujikan mempunyai perbedaaan yang bermakna terhadap kekentalan gel. Hal ini

memberikan arti bahwa peningkatan minyak atsiri berpengaruh negatif terhadap viskositas gel.

5. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan gel dalam menyebar pada lokasi pemberian. Gel antiseptik minyak atsiri daun cengkeh formula 1, 2, 3, dan 4 dilakukan pengujian daya sebar pada minggu ke-0 atau pada hari dimana gel tersebut dibuat kemudian diuji lagi pada tiap minggunya selama 1 bulan atau hingga minggu ke 4. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada gambar 13 dan untuk melihat data lebih lengkap dapat dilihat pada lampiran 4.



Gambar 13. Hasil uji daya sebar selama satu bulan

Dari hasil uji daya sebar gel secara keseluruhan menunjukkan bahwa terjadi peningkatan diameter penyebaran gel. Seiring dengan penambahan minyak atsiri. Penambahan minyak atsiri mempengaruhi kemampuan penyebaran gel karena viskositasnya yang semakin kecil. Semakin tinggi penambahan minyak atsiri akan menyebabkan diameter

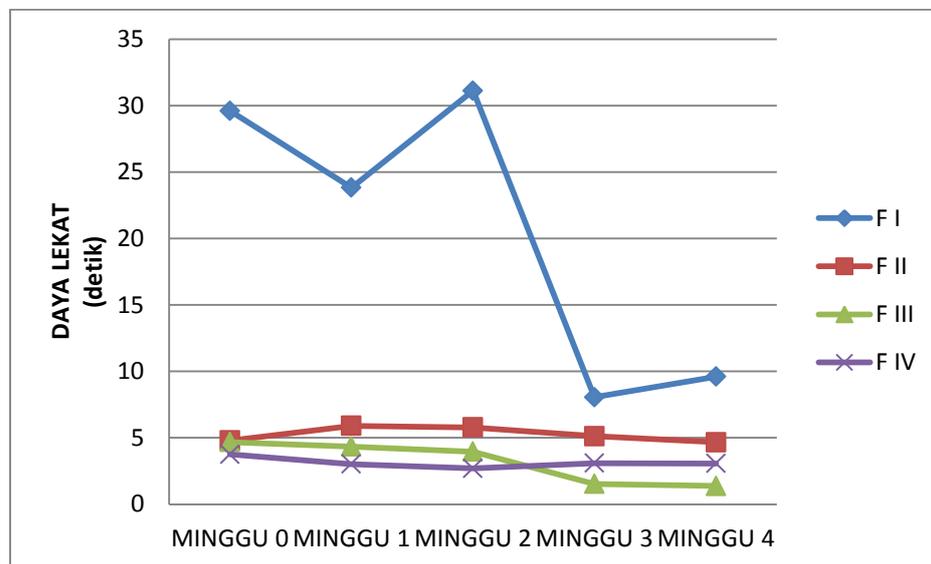
penyebaran semakin luas. Semakin lama penyimpanan gel nilai daya sebar nya akan semakin besar, hal ini dikarenakan daya sebar gel dipengaruhi oleh viskositas sediaan, selama penyimpanan satu bulan viskositas sediaan semakin menurun sehingga menyebabkan daya sebar nya ikut berubah. Kemampuan daya sebar juga bisa dipengaruhi oleh kondisi luar seperti suhu, cahaya dan kelembaban. Semakin tinggi temperatur maka akan menyebabkan sediaan berubah menjadi cair dan daya sebar nya akan meningkat.

Uji statistik dari hasil data uji viskositas menggunakan oneway anova karena dari hasil uji normalitas sig. > 0.05 untuk melihat hasil uji normalitas dapat dilihat pada lampiran 8. Dan untuk hasil dari uji statistik one way ANOVA menunjukkan bahwa penambahan minyak atsiri didalam formula yang diujikan mempunyai perbedaaan yang bermakna terhadap peningkatan daya sebar dengan nilai sig. $0,00$ (sig. $<0,05$). Hal ini memberikan arti bahwa peningkatan minyak atsiri berpengaruh terhadap daya sebar gel.

6. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan gel melekat dikulit. Gel antiseptik minyak atsiri daun cengkeh formula 1, 2, 3, dan 4 dilakukan pengujian daya lekat pada minggu ke-0 atau pada hari dimana gel tersebut dibuat kemudian diuji lagi pada tiap minggunya selama 1 bulan atau hingga minggu ke 4.

Dapat dilihat pada gambar 14 dan untuk melihat data lebih lengkap dapat dilihat pada lampiran 5.



Gambar 14. Hasil uji daya lekat selama 1 bulan

Uji daya lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan gel melekat dikulit. Dari hasil daya lekat menunjukkan pada formula 1 paling lama melekatnya karena tidak ada konsentrasi minyak atsiri didalam gel. Dan pada formula 4 cenderung menurun disebabkan karena waktu lekat yang semakin cepat. Waktu gel dipengaruhi oleh viskositas gel. Viskositas yang rendah akan karena penambahan minyak atsiri mengakibatkan waktu lekat yang singkat karena gel ada pada keadaan encer dan tidak dapat melekat lebih lama. Dari gambar 10 dapat dilihat bahwa semakin lama penyimpanan maka daya lekatnya akan semakin menurun. Gel yang baik adalah gel yang memiliki daya lekat yang tinggi sehingga mudah dioleskan dan melekat pada kulit dan nyaman ketika dipakai. Semakin lama penyimpanan maka nilai daya

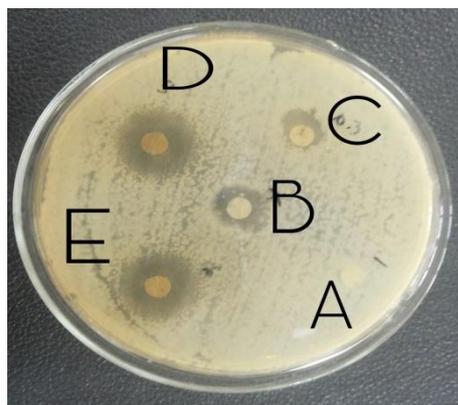
lekatnya semakin rendah. Hal ini dikarenakan daya lekat sama dengan daya sebar gel yang dipengaruhi oleh viskositas sediaan, selama penyimpanan satu bulan viskositas sediaan semakin turun sehingga menyebabkan daya sebar dan daya lekatnya ikut berubah karena sediaan akan menjadi semakin encer. Gel yang baik adalah gel yang tidak mengalami perubahan daya lekat, namun seiring dengan lamanya penyimpanan gel akan mengalami perubahan.

Uji statistik dari hasil data uji daya lekat menggunakan one way ANOVA karena dari hasil uji normalitas sig. > 0.05 untuk melihat hasil uji normalitas dapat dilihat pada lampiran 9. Dan untuk hasil uji statistik menunjukkan bahwa penambahan minyak atsiri didalam formula yang diujikan mempunyai perbedaaan yang bermakna terhadap peningkatan daya lekat dengan nilai sig. 0.013 (sig. <0.05). Hal ini memberikan arti bahwa peningkatan minyak atsiri berpengaruh terhadap daya lekat gel.

D. Uji Mikrobiologi

Bakteri yang digunakan data uji mikrobiologi adalah *S.aureus* dengan ciri-ciri berbentuk bulat, memiliki susunan bergerombol seperti anggur, berwarna ungu dan bersifat Gram positif (Jawetz et al., 1991) .

Dan dari hasil uji mikrobiologi ini menunjukkan bahwa minyak atsiri daun cengkeh setelah diformulasikan dalam gel dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan adanya zona hambat sebesar 12.5 mm pada F IV (minyak atsiri 6 g).



Gambar 15. Hasil Uji Mikrobiologi

Keterangan :

A= F I kontrol –

B= kontrol + (antiseptik carex)

C= F II (konsentrasi minyak atsiri cengkeh 1%)

D= F III (konsentrasi minyak atsiri cengkeh 10%)

E= F IV (konsentrasi minyak atsiri cengkeh 20%)

Tabel 8. Hasil uji mikrobiologi formulasi gel minyak atsiri daun cengkeh

Formula	Diameter zona hambat (mm)			Mean \pm SD
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
Kontrol +	4.5	11.5	3	6.3 \pm 4.5
F I	0	0	0	Tidak ada zona hambat
F II	5	1	1	2.3 \pm 2.3
F III	11	4.5	7	7.5 \pm 3.2
F IV	12	16.7	9	12.5 \pm 3.8

Keterangan :

Hasil merupakan rata-rata dan standar deviasi dari 3 kali pengujian

Kontrol + formula pembanding

F I konsentrasi minyak cengkeh 0%

F II konsentrasi minyak cengkeh 1%

F III konsentrasi minyak cengkeh 10%

F IV konsentrasi minyak cengkeh 20%

Aktivitas antibakteri yang dimiliki daun cengkeh dikarenakan adanya kandungan *eugenol* yang merupakan *fenol*. Mekanisme aktivitas antibakteri oleh minyak cengkeh adalah dengan merusak langsung dinding

sel bakteri sehingga menyebabkan denaturasi dan penghambatan sintesis protein serta meningkatkan permeabilitas dari dinding sel bakteri sehingga terjadi gangguan pada fungsi normal sel bakteri yang selanjutnya mengalami lisis dan mati (Prestanya dkk., 2012; Andries dkk., 2014).

Untuk hasil uji statistik daya hambat ini menggunakan independent sample t-test untuk membandingkan antara kontrol positif dengan formula 3. Hasil uji menunjukkan bahwa diameter zona hambat kontrol positif dan formula 3 lebih besar tetapi tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan hasil nilai signifikansi 0.453 (sig. <0.05). Untuk melihat hasil uji statistik bisa dilihat pada lampiran 10.

Untuk hasil uji statistik daya hambat membandingkan antara kontrol negatif dengan formula 3 menunjukkan bahwa diameter zona hambat kontrol negatif lebih kecil dari formula 3 lebih kecil dan menunjukkan perbedaan signifikan. Dengan hasil signifikansi 0.016 (sig <0.05). Untuk melihat hasil uji statistik bisa dilihat pada lampiran 11.