

KARYA TULIS ILMIAH

FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTISEPTIK GEL EKSTRAK ETANOLIK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz. and Pav.)

**Disusun untuk Memenuhi Sebagian Syarat Memperoleh Derajat Serjana
Farmasi pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta**



**Disusun oleh
RIZKY HIDAYATURAHMAH
20120350025**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA**

2016

HALAMAN PENGESAHAN

FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTISEPTIK GEL EKSTRAK
ETANOLIK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz. and Pav.)

Disusun oleh :

RIZKY HIDAYATURAHMAH

20120350025

Telah disetujui dan diseminarkan tanggal 17 Juni 2016

Dosen Pembimbing

Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt
NIK : 19730223 201310 173 127

Dosen Penguji 1

Dosen Penguji 2

Andy Eko Wibowo, M.Sc., Apt
NIK : 19880602 201504 173 237

Rifki Febriansah, M.Sc., Apt
NIK : 19870227 201210 173 188

Mengetahui,
Kepala Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt
NIK : 19730223 201310 173 127

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda-tangan dibawah ini :

Nama : Rizky Hidayaturahmah
NIM : 20120350025
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantum dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yogyakarta, 17 Juni 2016

Yang membuat Pernyataan

Rizky Hidayaturahmah
NIM : 20120350025

MOTTO

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui”

(Al-Baqarah: 216)

“Allah mencintai orang yang bekerja, apabila bekerja maka ia selalu memperbaiki prestasi kerja”

(H.R. Tabrani)

"Kau cuma bisa hidup sekali saja di dunia ini, tetapi jika kau hidup dengan benar, sekali saja sudah cukup."

(Uzumaki Naruto - Naruto)

"Tidak peduli seberapa kecil harapan ku, aku takkan pernah menyerah."

(Allen Walker - D. Gray Man)

“Jangan berharap hidupmu akan dihargai ketika dirimu tidak menghargai dirimu sendiri, waktu dan orang lain”

(Rizky Hr)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin,

Kupersembahkan Karya Tulis Ilmiah ini untuk ibunda tercinta Musifaturahmah dan Bapak Jumadi, si kembar Dian dan Dina, sahabat-sahabatku MISC (Mita, Ratih, Seftina, Jihan, Indah, Anggi, Nopril, Farida (Dae) dan Neng) serta Almamater tercinta Program Studi Farmasi UMY.

Rizky Hidayaturahmah

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan semesta alam yang menciptakan manusia dan segala kehidupan. Shalawat dan salam tercurah kepada teladan umat manusia yaitu Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, para sahabat dan pengikutnya yang selalu setia hingga akhir zaman.

Alhamdulillah, atas rahmat dan karunia Allah SWT, penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini yang berjudul “Formulasi dan Uji Efektivitas Antiseptik gel Ekstrak Etanolik Daun Sirih Merah (*Piper crocatum.*, Ruiz. and Pav.)”. Karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi tugas akhir blok Metode Penelitian dan selanjutnya akan digunakan untuk memenuhi tugas akhir kuliah berupa Karya Tulis Ilmiah sebagai salah satu syarat kelulusan di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Penulisan karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, saya mengucapkan terimakasih kepada :

1. dr. Ardi Pramono Sp. An, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
2. Ibu Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., PhD.,Apt selaku Kepala Program Studi Farmasi dan selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu dan selalu memotivasi sehingga penulis bisa menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
3. Bapak Andy Eko Wibowo M.Sc, Apt dan Bapak Rifki Febriansah M.Sc, Apt selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran maupun masukan kepada penulis dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
4. Bapak Hari Widada M.Sc, Apt selaku dosen pembimbing akademik (DPA) yang selalu memberikan motivasi dan dukungan selama perkuliahan.
5. Seluruh dosen Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta yang telah memberikan ilmu, dukungan, wawasan dan pengetahuan yang luas selama perkuliahan.

6. Kepada Mas Satria dan Mbak Zelmi yang telah membantu dalam proses pembuatan gel.
7. Para responden penelitian yang telah bersedia meluangkan waktunya sehingga penelitian ini bisa terlaksana dengan lancar dan baik.
8. Seluruh teman-teman Farmasi UMY 2012 yang saling mendukung satu sama lain selama menempuh pendidikan.
9. Lembaga Penelitian, Publikasi dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Yogyakarta atas dana unggulan Prodi Farmasi yang mendanai penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan karya tulis ilmiah ini, sehingga penulis berharap ada masukan, kritik ataupun saran yang membangun dari semua pihak. Penulis juga berharap karya tulis ilmiah ini akan bermanfaat bagi penulis maupun pihak yang terkait.

Yogyakarta, 17 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

KARYA TULIS ILMIAH.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	iii
MOTTO.....	iv
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Penelitian.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Keaslian Penelitian.....	4
D. Tujuan Penelitian.....	5
E. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i> Ruiz. & Pav.).....	6
B. Ekstraksi.....	10
C. Pemilihan Pelarut.....	12
D. Kromatografi Lapis Tipis.....	13
E. Mikroorganisme pada Kulit Manusia.....	14
F. Gel.....	16
G. Kontrol Kualitas Sediaan Gel.....	17
H. Deskripsi Bahan Formulasi Gel.....	20
I. Antiseptik.....	24
K. Kerangka Konsep.....	25
L. Hipotesis.....	27
BAB III METODE PENELITIAN.....	28
A. Desain Penelitian.....	28

B.	Waktu dan Tempat.....	28
C.	Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional.....	28
D.	Instrumen Penelitian.....	30
E.	Cara Kerja	30
F.	Skema Langkah kerja.....	36
G.	Analisis Data	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		40
A.	Pengumpulan dan Penyiapan Simplisia	40
B.	Ekstraksi Simplisia.....	41
C.	Uji Bebas Etanol	41
D.	Uji Kandungan Senyawa Flavonoid	42
E.	Optimasi Basis Karbomer Sediaan Gel Antiseptik	46
F.	Formulasi Gel Antiseptik ESM	47
F.	Uji karakteristik Gel Ekstrak Daun Sirih Merah	50
1.	Uji Organoleptik dan Uji Homogenitas.....	52
2.	Uji Viskositas.....	52
3.	Uji pH Sediaan	55
4.	Uji Daya Sebar	55
5.	Uji Daya Lekat	56
G.	Uji Antiseptik Gel ESM	57
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		63
A.	Kesimpulan	63
B.	Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA		65
LAMPIRAN.....		70

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Penelitian mengenai uji antimikroba dan formulasi sediaan gel antiseptik	4
Tabel 2.	Konsentrasi bahan untuk standar pembuatan sediaan gel.....	33
Tabel 3.	Rancangan formula sediaan gel antiseptik ekstrak tumbuhan.....	33
Tabel 4.	Rancangan formula sediaan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah.....	34
Tabel 5.	Hasil Ekstraksi daun sirih merah	41
Tabel 6.	Optimasi Sediaan Gel antiseptik ESM.....	46
Tabel 7.	Fungsi Bahan.....	47
Tabel 8.	Perhitungan Jumlah Bahan.....	48
Tabel 9.	Massa Jenis Bahan Cair.....	48
Tabel 10.	Data Uji karakteristik Gel antiseptik Ekstrak Daun Sirih Merah selama 7 minggu.....	51
Tabel 11.	Hasil uji antiseptik gel ESM.....	58
Tabel 12.	Nilai signifikansi penurunan jumlah koloni antara sebelum dan setelah menggunakan gel antiseptik ESM.....	60
Tabel 13.	Tes Normalitas.....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Tanaman Sirih Merah.....	6
Gambar 2.	Struktur Karbomer.....	21
Gambar 3.	Struktur TEA.....	22
Gambar 4.	Struktur Metil Paraben atau Nipagin.....	23
Gambar 5.	Sruktur Propil Paraben atau Nipasol.....	23
Gambar 6.	Struktur Gliserin.....	24
Gambar 7.	Kerangka Konsep Penelitian.....	26
Gambar 8.	Skema Langkah Kerja.....	38
Gambar 9.	Uji Bebas Etanol.....	42
Gambar 10.	Reaksi kimia antara kalium dikromat, asam sulfat dan etanol.....	42
Gambar 11.	Hasil Uji KLT Senyawa Flavonoid.....	43
Gambar 12.	A. Struktur Quersetin. B. Strukur Rutin.....	44
Gambar 13.	Hasil Analisis Rutin Menggunakan Densitometer.....	45
Gambar 14.	Hasil Analisis ESM Menggunakan Densitometer.....	45
Gambar 15.	Ilustrasi Interaksi antara Karbomer, flavonoid, TEA dan Air.....	50
Gambar 16.	Uji Viskositas Sediaan Gel Antiseptik ESM.....	53
Gambar 17.	Rata-rata Daya sebar Gel Antiseptik ESM.....	56
Gambar 18.	Uji daya Antiseptik (pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak vs % penurunan jumlah koloni bakteri).....	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tanaman Sirih Merah.....	71
Lampiran 2.	Formula Optimasi Sediaan Gel ESM.....	72
Lampiran 3.	Organoleptik gel.....	73
Lampiran 4.	Daya Lekat.....	74
Lampiran 5.	Daya Sebar.....	78
Lampiran 6.	Hasil Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih Merah.....	81
Lampiran 7.	Hasil Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih Merah (lanjutan).....	82
Lampiran 8.	Hasil Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih Merah (lanjutan).....	83
Lampiran 9.	<i>Informed Concern</i>	84
Lampiran 10.	Hasil Uji Antiseptik.....	85
Lampiran 11.	<i>Paired sample t test</i>	92
Lampiran 12.	Uji Kruskal- Wallis.....	96
Lampiran 13.	Uji Mann-Whitney.....	96
Lampiran 14.	Signifikansi uji Mann Whitney.....	99
Lampiran 15.	Uji Korelasi.....	100
Lampiran 16.	Uji Regresi.....	100

FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTISEPTIK GEL EKSTRAK ETANOLIK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum.*, Ruiz and Pav.)

Rizky Hidayaturahmah, Sabtanti Harimurti

Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

INTISARI

Daun sirih merah adalah salah satu tanaman asli Indonesia yang memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan. Secara empiris sirih merah telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional salah satunya sebagai obat luka dan antiseptik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan sediaan gel antiseptik dengan bahan aktif yaitu ekstrak etanolik dari daun sirih merah.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Formulasi sediaan dibuat menggunakan karbomer sebagai *gelling agent*. Konsentrasi ekstrak daun sirih merah yang digunakan adalah 0%, 2,5%, 5%, 10% dan 15%. Pengujian terhadap efektivitas antiseptik sediaan dilakukan dengan metode replika sebelum dan sesudah pemberian sediaan gel. Metode replika dilakukan dengan meneteskan dan meratakan sediaan gel ke tangan dan kemudian dilakukan *swabbing* ke media agar. Media diinkubasi dalam oven selama 24 jam dengan temperatur 37⁰C, kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Kontrol positif yang digunakan adalah sediaan gel "C" yang telah beredar di pasaran. Pengujian terakhir adalah uji statistika antara kontrol positif dengan F1, F2, F3, F4 dan F5 menggunakan SPSS 16.0.

Hasil dari uji replika sebelum dan sesudah penggunaan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah dengan kadar 0%, 2,5%, 5%, 10% dan 15% , diperoleh penurunan jumlah koloni bakteri berturut-turut sebesar 1,38% ± 0.29, 2,89% ± 1.04, 27,19% ± 3.59, 68,10% ± 7.44 dan 85,62% ± 6.59. Sedangkan penurunan jumlah koloni bakteri yang dihasilkan dari sediaan "C" sebesar 99,14% ± 0.46. Hasil dari F1, F2, F3, F4 dan F5 berbeda signifikan (P<0,05) dibandingkan dengan kontrol positif. Maka dapat disimpulkan bahwa sediaan gel antiseptik daun sirih merah efektif sebagai antiseptik tangan, walaupun efektivitas antiseptiknya masih kurang apabila dibandingkan dengan sediaan antiseptik yang tersedia dipasaran.

Kata kunci : Sirih Merah (*Piper crocatum.*, Ruiz. and Pav.) - Antiseptik – Flavanoid – Gel - Formulasi

**FORMULATION AND EFFECTIVENESS TEST ANTISEPTICS OF
ANTISEPTICS GEL OF ETHANOLIC RED BETEL (*Piper crocatum.*, Ruiz
and Pav.) LEAF EXTRACT**

Rizky Hidayaturahmah, Sabtanti Harimurti

Department of Pharmacy
Faculty of Medical and Health Sciences
Muhammadiyah Yogyakarta University

ABSTRACT

Red betel plant is Indonesia's original plant which has many benefits on health care. Empirically, red betel has been widely used by people as a traditional medicine. One of them used as a cure wounds and antiseptic. The purpose of this study was to develop an antiseptic gel formulation using ethanolic extract of red betel leaf as the active ingredient.

The extraction was conducted by maceration method using ethanol 70% as the solvent. Carbomer was used for the gelling agent and the extract concentration that was tested are 0%, 2,5%, 5%, 10% and 15%. The effectiveness test of antiseptic gel was using replica method by testing after and before applying the gel on the hand. The antiseptic gel was dropped on the clean hand and than swabbed using cotton bud than inoculate on the agar media. Further, the agar than incubated in the incubator for 24 hours at 37⁰C. The evaluation was conducted by calculating the number of colony of the bacteria. Gel Antiseptic C was used as the positive control. Then statistical tests between positive control and F1, F2, F3, F4, F5 were using SPSS 16.0.

The results of the replica test before and after applays the antiseptic red betel extract leaf with levels of 0%, 2.5%, 5%, 10% and 15%, obtained a decrease in the total number of germs, i.e 1,38% ± 0.29, 2,89% ± 1.04, 27,19% ± 3.59, 68,10% ± 7.44 and 85,62% ± 6.59, respectively. The decline of the total number of germs resulting from the positive control of gel "C" are 99.14% ± 0.46. The F1, F2, F3, F4, F5 results obtained significant difference (p<0,05) compare to positive control. It can be concluded that the red betel leaf antiseptic gel effective as antiseptic hand, although the antiseptic effectiveness is still lacking when compared with antiseptic preparations commercially available.

Keyword : Red betel leaf (*Piper crocatum.*, Ruiz. and Pav.) - Antiseptic – Flavanoid – Gel - Formulation

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Salah satu indikator yang menggambarkan keseluruhan mengenai kesejahteraan masyarakat adalah kualitas hidup. Menurut Faturochman (1990), pada awalnya kualitas hidup hanya berdasar pada GNP, namun banyak ahli yang tidak setuju dengan hal tersebut. Pada tahun 1978, kualitas hidup masyarakat dinyatakan dengan dua indikator penting, yaitu kesehatan dan pendidikan.

Kesehatan merupakan aspek penting yang dapat mempengaruhi *quality of life* setiap individu. Salah satu cara yang efektif untuk menjaga kesehatan tubuh adalah dengan menjaga kebersihan, salah satunya adalah kebersihan tangan (Radji, 2010). Islam adalah salah satu agama yang sangat menganjurkan umatnya untuk menjaga kebersihan, hal tersebut tertulis pada Al Qur'an surat Al Baqoroh ayat 222, yang berbunyi :

إِنَّ اللَّهَ يُحِبُّ التَّوَّابِينَ وَيُحِبُّ الْمُتَطَهِّرِينَ

Artinya : “Sesungguhnya Allah mencintai orang yang taubat dan mencintai orang-orang yang menjaga kebersihan.”

Makna dari ayat di atas adalah orang yang mau bertaubat dan orang-orang yang menjaga kebersihan sangat dimuliakan oleh Allah karena Allah akan mencintainya. Ayat tersebut diperkuat oleh Hadist Riwayat Tirmidzi yang berbunyi “Diriwayatkan dari Sa’ad bin Abi Waqas dari bapaknya, dari

Rasulullah saw.: Sesungguhnya Allah SWT itu suci yang menyukai hal-hal yang suci, Dia Maha Bersih menyukai kebersihan, Dia Maha Mulia dan menyukai kemuliaan, Dia Maha Indah yang menyukai keindahan, maka bersihkanlah tempatmu.”

Menjaga kebersihan tangan merupakan salah satu hal yang sangat penting untuk menjaga kesehatan tubuh. Tangan merupakan salah satu media penularan berbagai penyakit. Hal tersebut disebabkan oleh virus, bakteri dan jamur yang menempel pada tangan ketika seseorang melakukan aktivitas. Salah satu cara yang paling mudah, sederhana, efektif dan umum dilakukan oleh masyarakat adalah mencuci tangan menggunakan air mengalir dan sabun. Manfaat mencuci tangan menggunakan sabun adalah untuk mencegah terjangkitnya penyakit yang dapat ditularkan melalui media tangan, seperti diare, kolera dan cacangan (Kemenkes, 2014).

Sabun diperlukan karena lebih efektif untuk menghilangkan kotoran dan kuman yang terdapat pada tangan. Selain itu, sabun dapat mengurangi angka atau jumlah mikroorganisme penyebab penyakit yang menempel pada tangan secara signifikan yaitu 92% mikroorganisme penyebab infeksi (Kemenkes, 2014). Dengan demikian, mencuci tangan menggunakan air dan sabun lebih efektif dalam membersihkan kotoran dan mikroorganisme penyebab penyakit daripada hanya menggunakan air mengalir. Namun, kesadaran akan pentingnya mencuci tangan pada masyarakat Indonesia sangat kurang (Kemenkes, 2014). Akar permasalahan dari hal tersebut sangat sederhana, yaitu malasnya untuk mencuci tangan ataupun tidak sempat untuk mencuci tangan (Pramita, 2013).

Seiring berkembangnya zaman serta bertambahnya kesibukan masyarakat terutama masyarakat diperkotaan dan meningkatnya tuntutan masyarakat untuk produk yang praktis dan cepat, maka muncul produk inovasi yang dapat digunakan sebagai pengganti air dan sabun untuk mencuci tangan yang dikenal dengan *antiseptic hand sanitizer* atau pembersih tangan antiseptik. Antiseptik merupakan suatu substansi senyawa kimia yang digunakan mencegah pertumbuhan atau kerja mikroorganisme dengan cara menghancurkan atau menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme (Pelczer dan Chan, 1988) pada jaringan yang hidup seperti pada permukaan kulit.

Sediaan gel digunakan oleh masyarakat karena memiliki nilai estetika yang baik, yaitu transparan, mudah merata jika dioleskan pada kulit tanpa penekanan, memberi sensasi dingin, tidak menimbulkan bekas dikulit dan mudah digunakan (Ansiah, 2014). Selain itu, keinginan masyarakat akan penggunaan bahan alam pada saat ini juga semakin meningkat. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah atau disebut *mega biodiversity country*. Salah satu keanekaragaman hayati yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antiseptik adalah daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz. & Pav.) yang mengandung senyawa sebagai antiseptik.

Berdasar pada pemaparan di atas, maka penulis ingin memanfaatkan ekstrak daun sirih merah yang terbukti memiliki khasiat antibakteri sebagai sediaan gel antiseptik dan menguji efektivitas sediaan gel tersebut terhadap kuman yang ada pada kulit tangan.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ada kandungan flavonoid dalam ekstrak daun sirih merah sebagai *antiseptic agent*?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap karakteristik gel antiseptik ekstrak daun sirih merah?
3. Berapakah pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah terhadap penurunan jumlah koloni bakteri sebelum dan setelah menggunakan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah?

C. Keaslian Penelitian

Tabel 1. Penelitian mengenai uji antimikroba dan formulasi sediaan gel antiseptik

HAL	KETERANGAN
Peneliti	1. Buanasari, ST 2. Dra. Tunik Saptawati., Apt
Judul (Tahun)	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Sirih Merah Dalam bentuk Sediaan Gel Antiseptik Tangan Terhadap bakteri Gram Positif dan Gram Negatif (2014)
Desain Penelitian	Eksperimental Ekstrasi : Infusa
Hasil penelitian	Uji antibakteri gel ekstrak air daun sirih merah menunjukkan bahwa pada kadar 15 % mampu menghambat pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> ATCC 35922 sampai lebih dari 50%, sedangkan penghambatan pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> AT CC 25923 pada gel dengan kadar ekstrak 25 % baru bisa menghambat 44%.
Peneliti	Restuningtias Dwi Prahastiwi
Judul (Tahun)	Efek Ekstrak Daun Sirih Merah Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14745 Dan <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022 Serta Mekanisme Penghambatannya (2014)
Desain Penelitian	Ekperimental Ekstraksi Maserasi
Hasil penelitian	Ekstrak etil asetat daun sirih merah dapat memberikan hambatan tertinggi pada pertumbuhan bakteri <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14745 Dan <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022 pada kadar 6,25 %

Tabel 1 menjelaskan bahwa pada penelitian terdahulu, metode ekstraksi yang dilakukan sebelum pembuatan gel antiseptik adalah infusa sedangkan pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Pelarut yang digunakan pada proses maserasi adalah etanol 70%.

D. Tujuan Penelitian

1. Mengkaji ada atau tidaknya senyawa flavonoid pada ekstrak sirih merah yang bermanfaat sebagai *antiseptic agent*.
2. Mengkaji pengaruh konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap karakteristik gel antiseptik ekstrak daun sirih merah.
3. Mengkaji perbedaan signifikan secara statistik jumlah koloni bakteri sebelum dan sesudah menggunakan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah.

E. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan sebuah karya ilmiah yang dapat dipublikasi dan dapat digunakan sebagai referensi pada penelitian-penelitian mengenai manfaat ekstrak daun sirih merah sebagai antiseptik.
2. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan formulasi gel antiseptik dengan bahan aktif dari ekstrak tumbuhan.
3. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas dan potensi antibakteri dari ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz. & Pav.*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz. & Pav.)



Gambar 1. Tanaman Sirih Merah

1. Klasifikasi (Tjitrosoepomo, 2005)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Piperales
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper cf. Fragile, Benth.</i>
Sinonim	: <i>Piper crocatum, Ruiz. & Pav.</i>

2. Deskripsi Tanaman

Tanaman sirih merah tumbuh menjalar seperti halnya sirih hijau. Batangnya bulat bertangkai berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing. Bertepi rata dan permukaannya mengkilap atau tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15–20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak putih keabu-abuan, bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5–10 cm, disetiap buku tumbuh bakal akar.

Hal yang membedakannya dengan sirih lain terutama dengan sirih hijau adalah selain daunnya berwarna merah keperakan, bila daunnya disobek maka akan berlendir serta aromanya lebih wangi. Sirih merah dapat beradaptasi dengan baik di setiap jenis tanah dan tidak terlalu sulit dalam pemeliharannya. Selama ini umumnya sirih merah tumbuh tanpa pemupukan. Selama pertumbuhannya yang paling penting adalah pengairan yang baik dan cahaya matahari yang diterima sebesar 60-75%

3. Nama Daerah dan Nama Asing

Tanaman sirih merah memiliki banyak sebutan, diantaranya Sirih Pait (Maluku), Tali Pait (Maluku), Gumi Momadi (Ternate), Sulamu Tali (Ternate) (Heyne,1987). Di luar negeri dikenal dengan nama Guan Shang Jiao (Cina) dan Ornamental Pepper (Inggris) (Mardiana, 2004).

4. Distribusi/Penyebaran tanaman

Tanaman sirih merah adalah tanaman yang dapat tumbuh dengan baik ditempat yang teduh dan tidak terlalu banyak terkena sinar matahari. Jika terkena sinar matahari langsung pada siang hari secara terus menerus warna merah daunnya bisa menjadi pudar, buram, dan kurang menarik. Tanaman sirih merah akan tumbuh baik jika mendapatkan 60–75 % cahaya matahari (Sudewo, 2008).

5. Kandungan Kimia

Daun sirih merah memproduksi atau menghasilkan berbagai macam senyawa kimia yang sering disebut metabolit sekunder. Fungsi metabolit sekunder bagi tanaman adalah untuk melindungi diri atau untuk berkompetisi dengan makhluk hidup lainnya. Metabolit sekunder yang terkandung dalam sirih merah adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, *cyanogenic*, glikosida, isoprenoid, *nonprotein amino acid*, eugenol (Sudewo, 2008). Pada umumnya senyawa yang termasuk dalam jenis glikosida yang banyak terdapat pada tumbuhan adalah flavonoid.

Flavonoid merupakan metabolit yang diproduksi oleh tanaman sebagai salah satu respon yang dihasilkan terhadap infeksi mikroba pada tanaman. Hal tersebut merupakan dasar untuk menjadikan senyawa flavonoid sebagai bahan antimikroba. Aktivitas yang dimiliki flavonoid sebagai antimikroba adalah karena kemampuan dari flavonoid dalam membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dari mikroba sehingga akan menghambat aktivitas dari bakteri tersebut. Selain membentuk kompleks

dengan protein ekstraseluler bakteri, flavonoid juga dapat merusak dinding sel bakteri. Beberapa flavonoid yang lipofilik juga juga dapat merusak membran sel bakteri dengan cara membentuk kompleks dengan adesin yang terdapat di permukaan sel, merusak polipeptida pada dinding sel dan merusak enzim yang terikat pada membran sel.

6. Manfaat dan Penggunaan Tanaman

Tanaman sirih merah adalah salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat dalam membantu menyembuhkan berbagai macam penyakit. Selain itu, terdapat nilai-nilai spiritual yang dimiliki oleh tanaman sirih merah pada daerah tertentu di Indonesia, salah satunya adalah di Keraton Yogyakarta dalam upacara adat “*ngadi saliro*”.

Daun sirih merah secara empiris digunakan untuk mengatasi diabetes melitus, jantung koroner, radang prostat tuberkulosis, hiperurisemia, kanker payudara dan kanker rahim, penyakit ginjal, hepatitis (Sudewo, 2008).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa sirih merah memiliki khasiat membunuh bakteri (Haryadi, 2010) yang menyatakan bahwa ekstrak daun sirih merah pada konsentrasi 18% dan sirih hijau 10% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kandungan senyawa kimia dari sirih merah yang bermanfaat sebagai antibakteri adalah flavonoid.

Senyawa flavonoid di dalam sirih merah inilah yang berfungsi sebagai anti mikroba (Samudera, 2010). Berdasarkan penelitian secara *in vitro* diketahui bahwa sirih merah mempunyai aktivitas sebagai antibakteri

(Juliantina, 2009), antiproliferatif (Wicaksono, 2009), antioksidan (Suratmo, 2010). Sedangkan dalam penelitian *in vivo*, aktivitas farmakologis sirih merah yaitu sebagai antihiperlipidemia (Safitri, 2008), antiinflamasi (Arbianti *et al*, 2008) dan penyembuhan luka pada diabetes (Astuti, 2010; Fimani, 2010).

B. Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode penyarian atau penarikan komponen senyawa kimia yang terdapat di dalam tumbuhan atau simplisia dengan bantuan pelarut atau solven. Terdapat dua jenis senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia yang diekstraksi, yaitu senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa aktif yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain (Ditjen POM, 2000). Hasil dari proses ekstraksi disebut ekstrak. Menurut Voigt (1995), Ekstrak dikelompokkan berdasarkan sifatnya, yaitu :

- a. Ekstrak encer (*Extractum tenue*). Sediaan ini memiliki konsistensi yang mudah untuk dituang.
- b. Ekstrak kental (*Extractum spissum*). Sediaan ini pada keadaan dingin bersifat liat dan sulit untuk dituangkan.
- c. Ekstrak kering (*Extractum siccum*). Sediaan ini memiliki konsistensi kering.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Maserasi merupakan proses penarikan zat-zat aktif yang terkandung pada simplisia dengan cara merendam simplisia tersebut ke dalam cairan pelarut atau solven (Syamsuni, 2006). Selain itu, maserasi juga didefinisikan sebagai sebuah

proses ekstraksi dengan merendam simplisia ke dalam pelarut yang dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan yang dilakukan pada suhu ruang (Ditjen POM, 2000). Hasil penarikan dari proses maserasi disebut maserat.

Proses penarikan senyawa-senyawa aktif atau maserat adalah pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel dari tanaman dan masuk ke dalam rongga sel pada tanaman yang didalamnya mengandung zat aktif. Dari peristiwa tersebut, maka akan ada perbedaan konsentrasi antara zat aktif dalam sel tumbuhan dengan pelarut yang berada di luar sel, sehingga memungkinkan zat aktif yang larut pada pelarut akan terdesak untuk keluar dari sel. Proses keluarnya zat aktif yang larut akan terjadi berulang-ulang sampai mencapai keseimbangan antara larutan yang terdapat di dalam sel dan di luar sel tumbuhan tersebut. Untuk membantu proses maserasi, biasanya dilakukan pengadukan. Proses maserasi membutuhkan waktu 3–5 hari dan dilanjutkan pada suhu kamar (Ansel, 1989). Setelah proses maserasi biasanya dilanjutkan dengan proses remaserasi dengan tujuan untuk menarik zat aktif yang masih ada yang tidak dapat diambil dalam proses maserasi.

Setelah zat aktif atau maserat diambil, maka proses selanjutnya adalah proses pemisahan antara zat aktif dan pelarut dengan cara penguapan. Pelarut tersebut akan menguap dan yang tertinggal adalah zat aktif dalam bentuk filtrat pekat. Pelarut yang biasa digunakan adalah etanol, air dan campuran lainnya. Maserasi memiliki kelebihan yaitu mudah dilakukan, murah dan tidak memerlukan banyak peralatan.

C. Pemilihan Pelarut

1. Kriteria Pelarut

Faktor penting yang harus diperhatikan dalam proses ekstraksi adalah dalam pemilihan pelarut atau solven. Menurut Guenther (1987), pelarut sangat berperan dalam proses ekstraksi. Hal yang harus diperhatikan dalam memilih pelarut yang akan digunakan, yaitu :

- a. Mempunyai kemampuan melarutkan solut tetapi sedikit atau tidak sama sekali melarutkan diluen.
- b. Mempunyai perbedaan titik didih yang cukup besar dengan solut.
- c. Bersifat *inert*.
- d. Mempunyai kemurnian tinggi.
- e. Tidak beracun.
- f. Tidak meninggalkan bau.

2. Pelarut Yang Sering Digunakan

Etanol adalah pelarut alkohol yang paling sering digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi bahan alam karena selain memiliki sifat yang tidak beracun, etanol juga memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat menarik senyawa dari bahan alam lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Etanol merupakan jenis pelarut polar. Karakteristik etanol:

Rumus molekul	: C ₂ H ₅ OH
Berat Molekul	: 46,07 kg/mol
<i>Spesific gravity</i>	: 0,789
<i>Melting point</i>	: - 112 °C

<i>Boiling point</i>	: 78,4 °C
Kelarutan di dalam air	: larut sempurna
<i>Density</i>	: 0,7991 gr/cc
Temperatur kritis	: 243,1 °C

D. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan senyawa yang menggunakan fase gerak atau pelarut yang sesuai, fase gerak akan bergerak disepanjang fase diam. Sedangkan fase diam adalah lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh pelat plastik, pelat aluminium, atau lempeng kaca. KLT dilakukan di dalam bejana pemisah yang mampu menampung pelat dan tertutup rapat, jumlah cuplikan atau bercak yang ditotolkan biasanya 1- 10 µl (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Untuk mendeteksi senyawa hasil KLT biasa dilakukan dengan bantuan sinar ultra violet (UV) dengan panjang gelombang pendek atau panjang (Stahl, 1985).

Proses yang terdapat pada KLT adalah partisi dan adsorpsi. Lempeng KLT sudah banyak tersedia dipasaran dengan berbagai ukuran dengan penambahan reagen fluoresen untuk mendeteksi bercak dan ada juga ditambah agen pengikat berupa kalsium sulfat (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Fase diam yang biasa digunakan pada penelitian adalah selulosa dan silika, sedangkan fase gerak yang sering digunakan adalah fase gerak yang sudah pernah atau sering digunakan pada penelitian terdahulu, tetapi untuk lebih mudah biasanya dipilih dari pustaka.

Sistem yang biasa digunakan dan paling sederhana adalah campuran dua pelarut organik. Hal tersebut dikerenakan oleh daya elusi campuran kedua pelarut

ini mudah untuk diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan berlangsung secara optimal (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007).

Keuntungan menggunakan KLT dalam proses ini adalah :

- a. KLT banyak digunakan pada penelitian untuk tujuan analisis.
- b. Proses pemisahan komponen berlangsung cepat, kepekaan yang tinggi, dapat dilakukan menggunakan pereaksi warna, fluoresensi atau radiasi menggunakan sinar UV.

Dalam buku karangan Gandjar dan Abdul Rohman (2007), KLT dapat digunakan untuk analisis kualitatif, kuantitatif dan preparatif. Analisis kualitatif adalah analisis mengenai identifikasi senyawa baku yang menjadikan nilai R_f sebagai parameternya. Analisis kuantitatif adalah analisis dengan tujuan mencari kadar dari senyawa yang diamati. Cara yang dilakukan ada dua yaitu bercak diukur langsung pada lempeng dengan mengukur luas yang diperoleh atau dengan teknik densitometri atau dengan mengerok bercak lalu menetapkan kadar senyawa tersebut menggunakan metode analisis lain, seperti spektrofotometri. Sedangkan analisis preparatif adalah analisis yang bertujuan untuk memisahkan analit dalam jumlah yang banyak dilanjutkan dengan analisis lebih lanjut, seperti spektrofotometri atau teknik kromatografi yang lainnya.

E. Mikroorganisme pada Kulit Manusia

Kulit manusia walaupun terlihat bersih secara visual namun pada kenyataannya tidak selalu bebas dari mikroorganisme, terlebih lagi untuk flora normal yang ada di kulit maupun di lingkungan sekitar manusia. Flora normal adalah mikroorganisme yang tidak akan menimbulkan penyakit pada inang

bagian luar yang ditempatinya, seperti kulit. Kulit normal biasanya ditempati oleh mikroorganisme dengan ukuran antara 10^2 - 10^6 cfu/cm² (Trampuz *et al.*, 2004). Flora normal yang terdapat pada kulit terbagi menjadi dua jenis, yaitu mikroorganisme sementara (*transient microorganism*) dan mikroorganisme tetap (*resident microorganism*).

Mikroorganisme sementara (*transient microorganism*) adalah flora non pathogen atau potensial pathogen yang akan tinggal di kulit selama kurun waktu tertentu (tidak selalu ada pada kulit). Flora ini biasanya berasal dari lingkungan yang terkontaminasi. Menurut Rahmawati dan Triyana (2008), flora ini tidak akan menimbulkan penyakit karena memiliki patogenitas lebih rendah pada kondisi perubahan keseimbangan yang dapat menimbulkan penyakit. Mikroorganisme pathogen yang berada pada kulit sebagai mikroorganisme sementara adalah *E. coli*, *Salmonella sp*, *shigella sp*, *Giardia lamblia*, virus hepatitis A dan virus Norwalk (Rahmawati dan Triyana, 2008).

Mikroorganisme tetap (*resident microorganism*) adalah flora yang tinggal pada kulit pada sebagian besar orang sehat dan ditemukan pada celah kulit maupun pada epidermis kulit (Rahmawati dan Triyana, 2008). Flora ini merupakan flora tetap dan terdiri dari mikroorganisme jenis tertentu yang biasanya dijumpai pada bagian tubuh tertentu dan pada usia tertentu. Flora ini sulit lepas dari kulit walaupun dengan *surgical scrub* karena adanya lemak dan kulit yang mengeras. Mikroorganisme tetap yang sering dijumpai pada kulit adalah *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus coagulase* (Trampuz *et al.*, 2004). Mikroorganisme tetap tidak bersifat pathogen, kecuali *Staphylococcus*

aureus. Bakteri ini dapat mengakibatkan penyakit apabila telah mencapai jumlah 1.000.000 per gram. Karena dengan jumlah tersebut bakteri ini dapat memproduksi toksin yang berbahaya bagi tubuh manusia (Rahmawati dan Triyana, 2008).

F. Gel

Gel merupakan suatu sediaan semipadat yang bersifat jernih, tembus cahaya dan mengandung zat aktif dan merupakan dispersi koloid yang mempunyai kekuatan yang disebabkan oleh jaringan yang saling berkaitan pada fase terdispersi (Ansel, 1989). Zat-zat pembentuk gel berfungsi sebagai zat pengikat dalam granulasi, koloid pelindung dalam suspensi, pengental untuk sediaan oral. Sediaan gel banyak digunakan terutama untuk produk obat, kosmetik dan makanan. Formula umum gel pada umumnya terdiri dari bahan aktif, bahan dasar (zat pembuat gel), humektan (penahan lembab), pelarut.

Berdasarkan komposisinya, basis gel dapat dibedakan menjadi :

1. Basis gel hidrofobik

Basis ini terdiri dari fase anorganik, interaksi antara basis gel dan fase pendispersi hanya sedikit sekali dan bahan hidrofobik tidak secara spontan menyebar (Ansel, 1989). Basis ini sering juga disebut basis *oleogels* atau formal gel yang terdiri dari basis paraffin *liquid* dengan *polyethylene* atau minyak serta penyabunan dengan silikia, zink dan alumunium.

2. Basis gel hidrofilik

Basis gel ini pada umumnya terdiri dari fase organik yang besar. Basis ini dapat larut dari molekul dari fase pendispersi (Ansel, 1989). Gel ini juga

sering disebut *hydrogels* atau suatu formulasi gel air, gliserol atau propilen glikol dan sebagai *gelling agent* yang biasa digunakan adalah derivat selulosa dan karbomer. Keuntungan dari basis ini adalah daya sebar pada kulit yang dihasilkan baik, mudah dicuci dengan air, pelepasan obat yang lebih baik, tidak menyumbat pori-pori kulit, tidak melapisi kulit secara kedap menimbulkan efek dingin dan memungkinkan pemakaian pada bagian kulit yang berambut (Voigt, 1984).

Berdasarkan sistem fase yang membentuk, gel digolongkan menjadi dua macam, yaitu gel satu fase dan gel dua fase. Gel satu fase adalah gel yang terbentuk dari makromolekul organik yang tersebar secara merata pada suatu cairan sehingga tidak terlihat adanya ikatan antara makromolekul terdispersi dalam cairan. Terbuat dari makromolekul sintetik seperti karbomer atau tragakan dan fase pembawa dalam gel satu fase ini adalah etanol, air, dan minyak (Depkes, 1994).

Sedangkan gel dua fase adalah gel yang memiliki massa yang terdiri dari jaringan partikel kecil yang terpisah. Pada sistem ini apabila ukuran dari zat terdispersi terlalu besar, maka gel yang dihasilkan sering disebut magma. Magma ini dapat bersifat tigsotropik, apabila didiamkan akan membentuk sediaan semipadat dan apabila dilakukan pengocokan akan menjadi cair. Sebelum digunakan, gel dua fase harus dikocok terlebih dahulu untuk agar tercampur dengan merata dan mudah saat dituangkan ke tangan (Depkes, 1994).

G. Kontrol Kualitas Sediaan Gel

Kontrol kualitas suatu sediaan adalah hal yang harus diperhatikan dalam pembuatannya. Pada sediaan gel, kontrol kualitas yang harus dilakukan berupa

pengujian terhadap karakteristik yang dimiliki seperti pengujian organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar dan daya lekat. Sediaan gel yang baik berciri *swelling* dan tidak ada sineresis dan memberikan tampilan visual yang stabil dan baik.

Swelling adalah kemampuan gel untuk mengembang. Hal tersebut terjadi karena komponen yang digunakan sebagai bahan pembuat gel mampu mengabsorpsi larutan dan membuat volume bertambah. Pelarut yang digunakan akan berpenetrasi dengan matriks dari gel, sehingga pelarut dapat berinteraksi dengan gel.

Sineresis adalah proses yang terjadi karena adanya kontraksi didalam massa gel. Cairan yang terjat di dalamnya akan keluar dan berada dan berada pada permukaan gel.

Kontrol karakteristik sediaan gel yang baik, antara lain :

1. Uji Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara langsung berkaitan dengan bentuk, warna dan bau dari sediaan gel yang telah dibuat. Tujuan dilakukannya uji organoleptis pada sediaan gel adalah untuk mengetahui kualitas sediaan secara visual.

2. Uji Homogenitas

Pengujian ini dilakukan dengan cara sampel gel antiseptik ekstrak daun sirih merah dioleskan pada kaca preparat, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Ditjen POM, 1985). Manfaat dilakukannya uji homogenitas adalah untuk mengetahui keseragaman partikel dari sediaan gel. Penyebaran partikel yang merata membuktikan bahwa

zat aktif terdispersi secara merata pada sediaan. Sehingga apabila digunakan akan memberikan hasil yang maksimal.

3. Uji pH

Pengujian pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter. Cara pengujian yaitu *probe* pH meter dicelupkan pada sediaan dan hasil pH dapat dilihat langsung pada alat yang telah terhubung pada *probe* pH meter. Uji pH dilakukan untuk mengetahui keamanan dari sediaan gel apabila digunakan. Sediaan gel yang terlalu asam atau terlalu basa akan menyebabkan iritasi pada kulit pengguna. Nilai pH ideal untuk sediaan gel adalah sama dengan pH kulit, yaitu berkisar antara 4,5 – 6,0 (Draeos dan Lauren, 2006).

4. Uji Viskositas

Penentuan viskositas dan sifat alir dilakukan dengan viskometer Brookfield. Sediaan dimasukkan dalam gelas beaker 100 ml, spindel diturunkan ke dalam sediaan hingga batas yang ditentukan, jalankan *spindle*, dan amati viskositasnya. Tujuan dilakukannya uji viskositas adalah untuk mengetahui kekentalan gel. Kekentalan dari sediaan gel akan mempengaruhi sifat alir dari sediaan gel. Sediaan gel yang baik memiliki sifat alir yang baik. Nilai viskositas ideal untuk sediaan gel berkisar antara 2000-4000 cPause (Septiani dkk., 2011).

5. Uji Daya Lekat

Uji ini berkaitan dengan kemampuan gel untuk melapisi permukaan kulit secara kedap dan tidak menyumbat pori-pori kulit serta tidak menghambat fungsi fisiologi kulit dengan penghantaran obat yang baik. Daya lekat berhubungan langsung dengan viskositas sediaan, semakin tinggi daya lekat yang dihasilkan,

maka viskositas atau kekentalan sediaan akan semakin tinggi. Hal tersebut akan berdampak pada susah untuk dituangkannya gel tersebut dari wadah, daya lekat yang baik sebaiknya lebih dari 1 detik (Lieberman *et al.*, 1998).

6. Uji daya Sebar

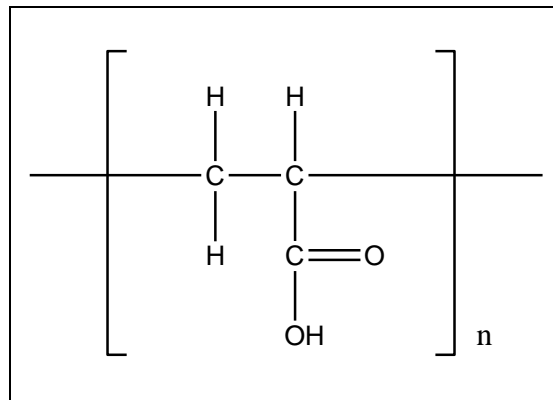
Daya sebar suatu sediaan berkaitan dengan kenyamanan suatu sediaan apabila digunakan. Gel yang baik akan memiliki daya sebar baik apabila diaplikasikan pada kulit. Daya sebar yang baik untuk sediaan gel memiliki diameter antara 3-5 cm (Garg *et al.*, 2002).

H. Deskripsi Bahan Formulasi Gel

Berikut ini merupakan bahan-bahan yang digunakan formulasi sediaan gel antiseptik ekstrak sirih merah (ESM).

a. Karbomer

Karbomer adalah sebuah polimer sintetis yang stabil, higroskopis, dan dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi dalam sediaan gel, krim, *lotion*, dan salep. Bentuk pemerian dari bahan ini berupa serbuk halus, berwarna putih, bersifat asam, larut dalam air hangat, etanol, dan gliserin, higroskopis, material koloid hidrofilik, tidak toksik dan tidak mengiritasi kulit, dapat meningkatkan viskositas sediaan kosmetik, dan sifat gelling agen yang kuat (Rowe *et al.*, 2009). Struktur karbomer terdapat pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur Karbomer (Rowe *et al.*, 2009)

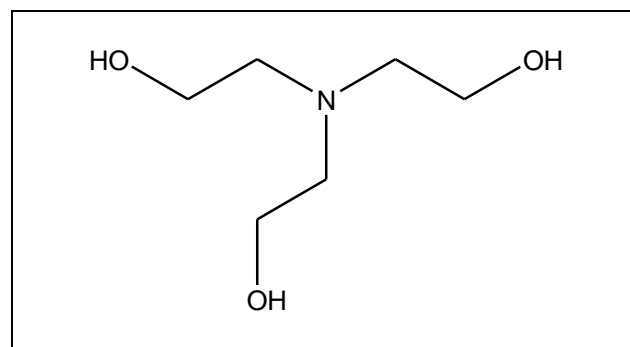
Karbomer dipilih karena memiliki bentuk basis yang bening transparan dan dengan tekstur yang baik, memiliki stabilitas yang baik seperti dapat mengikat air dengan cepat sedangkan pelepasan cairan lambat, memiliki viskositas yang paling baik, tidak mengiritasi kulit, memiliki karakteristik dan stabilitas fisik yang terbaik dalam formulasi gel dengan konsentrasi *gelling agent* sebesar 0,5-2 % (Rowe *et al.*, 2009).

pH optimum sediaan gel dengan menggunakan karbomer sebagai *gelling agent* adalah 6-11 (Rowe *et al.*, 2009). Inkompatibel dengan senyawa fenol, polimer kationik, asam kuat dan elektrolit kuat. Viskositas sediaan dapat menurun akibat adanya ion-ion dan mikroba, oleh karena itu perlu ditambahkan bahan preservatif seperti metil paraben dengan konsentrasi 0,18% w/v dan propil paraben dengan konsentrasi 0,02%. Pembuatan dilakukan dengan cara mendispersikan atau melarutkan serbuk karbomer kedalam air panas atau dingin atau pelarut organik sambil diaduk untuk mencegah adanya gumpalan. Setelah pengadukan dilakukan sampai

terbentuknya larutan dengan viskositas yang baik, maka dilanjutkan dengan penambahan zat penetral atau zat alkali (Rowe. *et al.* 2009).

b. Trietanolamin (TEA)

Bentuk pemerian dari TEA adalah cairan kental, berwarna kuning pucat hingga tidak berwarna, dapat dicampur dengan aseton, larut dalam kloroform dan etanol (Rowe *et al.*, 2009). Bahan ini sering digunakan pada formulasi sediaan topikal sebagai agen penetral, agen pengemulsi, dimana dengan adanya gliserol akan bereaksi dengan membentuk sabun *anionic* dengan pH sekitar 8 – 10,5 dan bersifat stabil.



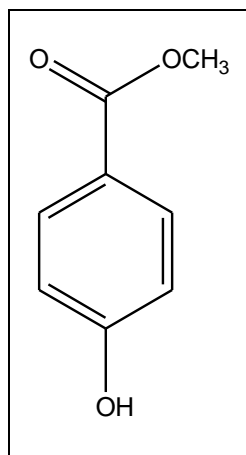
Gambar 3. Struktur TEA (Rowe *et al.*, 2009)

Apabila terkena udara dan sinar cahaya langsung, maka TEA akan mengalami *discoloration* atau berubah warna menjadi coklat. Pada formulasi gel, TEA berfungsi sebagai agen penetral pH dengan mengurangi tegangan permukaan dan meningkatkan kejernihan, pada konsentrasi 2-4 % w/v (Rowe *et al.*, 2009).

c. Metil Paraben (Nipagin)

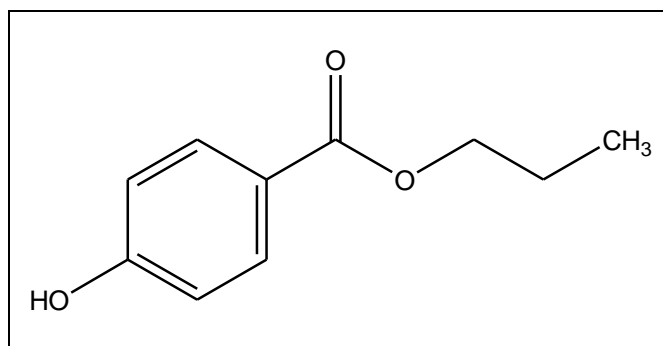
Nipagin biasanya digunakan sebagai bahan pengawet atau preservatif, mencegah kontaminasi, perusakan dan pembusukan oleh bakteri atau fungi

dalam formulasi sediaan farmasetika, produk makanan dan kosmetik. Rentang pH berkisar antara 4-8. Dalam sediaan topikal, konsentrasi nipagin yang umum digunakan adalah 0,02-0,3%. Bahan ini dapat larut pada air panas, etanol dan methanol (Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 4. Struktur Metil Paraben atau Nipagin (Rowe *et al.*, 2009).

d. Propil Paraben (Nipasol)

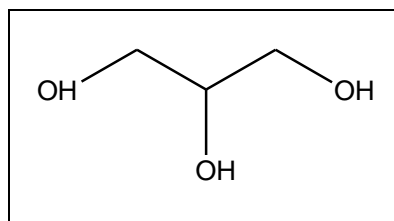


Gambar 5. Struktur Propil Paraben (Rowe *et al.*, 2009).

Konsentrasi nipasol yang digunakan sebagai bahan pengawet sediaan topikal, bahan makanan dan kosmetik adalah 0,01- 0,6 % w/v (Rowe *et al.*, 2009). Biasanya digunakan dengan kombinasi antara metil dan propil paraben dengan tujuan untuk meningkat efek preservatif, metil paraben lebih efektif pada jamur sedangkan propil paraben lebih efektif pada bakteri.

e. Gliserin atau Gliserol

Pada sediaan topikal, gliserin memiliki fungsi sebagai humektan (menjaga kelembaban sediaan) dan *emollient* (menjaga kehilangan air dari sediaan). Konsentrasi gliserin yang dapat digunakan sebagai humektan dan *emollient* adalah < 30% (Rowe *et al.*, 2009). Bahan ini juga berfungsi sebagai *levigating agent* atau mengurangi ukuran partikel dalam sediaan.



Gambar 6. Struktur Gliserin (Rowe *et al.*, 2009).

f. Aquadest

Aquadest dalam sediaan farmasi digunakan sebagai bahan pelarut dan medium pendispersi. Aquadest merupakan air murni yang bebas akan kotoran dan mikroba jika dibandingkan dengan air biasa (Ansel, 1989). Air murni biasanya digunakan untuk pembuatan sediaan farmasi yang mengandung air, kecuali sediaan injeksi (Ansel, 1989).

I. Antiseptik

Antiseptik adalah agen kimia yang mencegah, memperlambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (kuman) pada permukaan luar tubuh dan membantu mencegah infeksi (Sari dan Isadiartuti, 2006). Beberapa antiseptik mampu membunuh kuman (bakteriosida), sedangkan yang lain hanya mencegah atau menghambat pertumbuhan mereka (bakteriostatik). Antiseptik berbeda

dengan antibiotik, yang menghancurkan kuman di dalam tubuh, dan dari disinfektan, yang menghancurkan kuman pada benda mati.

J. Uji antiseptik

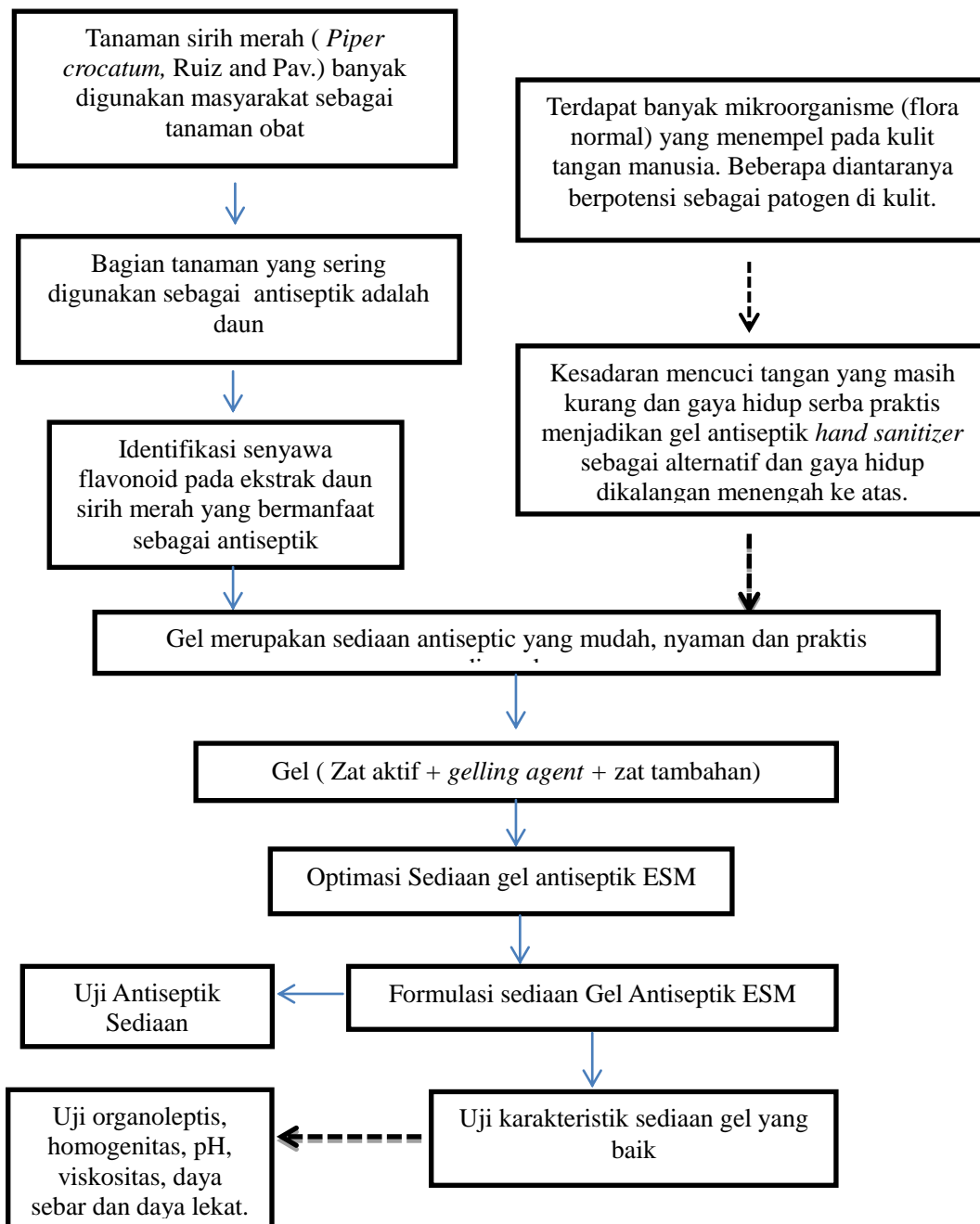
Uji antiseptik yang dilakukan adalah dengan metode replika sebelum dan sesudah pemakaian gel antiseptik. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengetahui efektifitas daya antiseptik yang dihasilkan dari gel antiseptik sebelum dan sesudah penggunaan.

K. Kerangka Konsep

Berdasarkan pengalaman empirik masyarakat Indonesia , daun sirih merah dapat digunakan sebagai antiseptik. Senyawa yang bermanfaat sebagai antiseptik adalah senyawa flavonoid. Untuk membuktikan adanya kandungan flavonoid dalam sirih merah, maka dilakukan pengujian menggunakan KLT dan densitometer terhadap ekstrak daun sirih merah. Disamping itu, terdapat banyak mikroorganisme (flora normal) yang menempel pada kulit tangan manusia. Beberapa diantaranya berpotensi sebagai patogen di kulit. Akan tetapi, kesadaran mencuci tangan yang masih kurang dan gaya hidup serba praktis menjadikan gel antiseptik *hand sanitizer* sebagai alternatif dan gaya hidup dikalangan menengah ke atas.

Setelah diketahui kandungan flavonoid, proses selanjutnya adalah pembuatan sediaan antiseptik menggunakan ekstrak tumbuhan. Sediaan gel ini kemudian dilakukan dua pengujian, yaitu pengujian terhadap karakteristik formula gel dan pengujian daya antiseptik untuk mengetahui penurunan jumlah

koloni bakteri yang dihasilkan sebelum dan sesudah penggunaan gel ekstrak daun sirih merah.



Gambar 7. Kerangka Konsep Penelitian.

L. Hipotesis

- a. Ekstrak daun sirih merah memiliki kandungan flavonoid yang memiliki manfaat sebagai *antiseptic agent*.
- b. Adanya pengaruh antara konsentrasi ekstrak sirih merah terhadap karakteristik dari gel antiseptik ekstrak daun sirih merah.
- c. Adanya penurunan jumlah koloni secara signifikan antara sebelum dan sesudah menggunakan gel antiseptik ekstrak sirih merah.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan penelitian ini adalah eksperimental laboratorium.

B. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Dilakukan pada bulan Mei 2015 sampai dengan Januari 2016.

C. Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

- 1) Formula Gel Antiseptik : variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah.
- 2) Uji Daya Antiseptik : Variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah dalam sediaan gel antiseptik.

b. Variabel Terikat

- 1) Formula Gel Antiseptik : Karakteristik dari sediaan gel meliputi warna dan bau, perubahan pH, perubahan viskositas dan homogenitas.
- 2) Uji Daya Antiseptik : Jumlah koloni bakteri.

c. Variabel Terkendali

Bahan daun sirih merah yang digunakan berasal dari Kabupaten Magelang, Jawa tengah. Kecepatan dan suhu evaporasi dan Karbomer (Brataco[®]).

d. Variabel Tak Terkendali

Waktu dan kecepatan pengadukan pada pembuatan gel antiseptik ekstrak etanol daun sirih merah.

2. Definisi Operasional

- a. Maserasi adalah proses pengambilan zat aktif dari daun sirih merah dengan cara merendam serbuk daun sirih merah kedalam pelarut (etanol 70 %) selama 5 hari dengan bantuan pengadukan setiap harinya. Kemudian disaring untuk memisahkan ampas dan cairan yang mengandung zat aktif daun sirih merah.
- b. Evaporasi adalah proses pemekatan cairan yang mengandung zat aktif daun sirih merah hasil dari proses maserasi dengan suhu 50⁰C dan kecepatan 100 rpm.
- c. Variasi konsentrasi ekstrak adalah perbandingan kuantitas ekstrak etanol daun sirih merah dalam pelarut yang dinyatakan dalam satuan %.
- d. Karakteristik fisik adalah hasil yang didapat dari pengamatan sifat fisik gel antiseptik secara visual meliputi warna dan pH
- e. Waktu adalah lama sedikitnya waktu yang digunakan pada proses pembuatan sediaan gel antiseptik.

- f. Kecepatan pengadukan adalah besarnya kecepatan pengadukan pada saat proses pembuatan gel antiseptik.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan selama penelitian adalah penggaris, pipet ukur, pipet tetes, blender (Philips[®]), kulkas, bejana maserasi, cawan porselen, kain flanel, sarung tangan, masker, alat alat gelas yang lazim digunakan seperti gelas beker dan gelas ukur (Iwaki pyrex[®]), timbangan digital (Mettler Toledo[®]), oven, *aluminium foil*, ayakan nomer 30 mesh, kertas saring, batang pengaduk, *rotary evaporator* (IKA[®] RV10), *waterbath* (Memmert[®]), *paper disk*, pH meter (Mettler Toledo[®]), cawan petri, pipa kapiler, sinar UV 254 dan UV 366 nm, oven (Memmert[®]), Densitometer (Comac[®]), Komputer (hp[®]), tissue (Paseo[®] dan Nice[®]), pot gel (Brataco[®]), plastik.

2. Bahan penelitian

Daun sirih merah, etanol 70 % (Brataco[®]), TSA (E Merck[®]), Karbomer (Brataco[®]), gliserin (Brataco[®]), TEA (Brataco[®]), Aquadest (Brataco[®]), rutin, n-butanol (E Merck[®]), Asam asetat (E Merck[®]), NaCl (E Merck[®]).

E. Cara Kerja

1. Determinasi Tanaman

Determinasi untuk tanaman sirih merah dilakukan di Laboraturium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (UGM).

2. Pengumpulan dan Penyiapan Bahan

Bahan daun sirih merah yang diperoleh dari daerah Secang, Magelang, Jawa Tengah dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci dibawah air mengalir sampai bersih, tiriskan, lalu dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari yang diberikan tutup kain hitam pada bagian permukaan dengan tujuan agar simplisia tidak langsung terpapar sinar matahari, tunggu sampai simplisia menjadi kering, selanjutnya simplisia kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus. Serbuk diayak menggunakan ayakan nomer 30 mesh untuk menyamakan ukuran serbuk sebelum dilakukan proses ekstraksi (maserasi).

3. Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dengan pelarut etanol 70%. Perbandingan antara serbuk dan pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah 1:10 (Retno, 2006). Lama waktu yang diperlukan untuk proses maserasi adalah lima hari yang dilanjutkan dengan proses remaserasi selama dua hari. Selama proses maserasi dan remaserasi, pengadukan dilakukan setiap hari dengan tujuan agar proses penyarian zat dalam simplisia terjadi sempurna. Rendaman serbuk kemudian disaring dan dipisahkan antara filtrat (cairan) dengan ampas yang terbentuk. Filtrat maserat yang diperoleh dari maserasi dan remaserasi kemudian dicampur menjadi satu. Campuran filtrat yang telah dipisahkan kemudian diuapkan menggunakan rotari evaporasi sampai terbentuk ekstrak kental). Langkah

selanjutnya adalah perhitungan rendemen. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes RI, 2000). Perhitungan rendemen dapat menggunakan persamaan 1.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak simplisia (gram)}}{\text{Berat Simplisia akhir (gram)}} \times 100\% \quad (1)$$

4. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan secara kualitatif dengan mereaksikan ekstrak etanolik daun sirih merah dengan dua tetes H₂SO₄ pekat dan 1 ml kalium dikromat. Kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Apabila terjadi perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan, maka ekstrak positif mengandung etanol (Robinson, 1995).

5. Uji Kandungan Senyawa flavonoid

Uji yang dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid dalam ekstrak tersebut dilakukan dengan analisis kualitatif. Uji yang dilakukan adalah uji KLT. Bahan baku pembanding dalam uji ini adalah rutin. Fase gerak yang digunakan adalah n-butanol : asam asetat : air (BAA) dengan perbandingan (4:1:5 v/v). Fase diam yang digunakan adalah selulosa. Lempeng KLT dimasukkan ke dalam bejana yang telah terisi fase gerak kemudian tutup rapat. Penutupan bejana bertujuan untuk mencegah adanya penguapan dari fase gerak yang akan mengganggu jalannya proses elusi. Sebelum proses elusi dilakukan, harus dipastikan bahwa bejana yang akan digunakan telah jenuh oleh fase gerak, proses penjenuhan dilakukan menggunakan kertas saring yang diletakkan didalam bejana, kemudian ditutup rapat. Tujuannya adalah agar arah rambat pada proses elusi tidak

miring sehingga tidak akan menyulitkan pada perhitungan R_f (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Deteksi yang dilakukan adalah menggunakan sinar tampak, sinar UV 254 dan sinar UV 366 (Harborne, 1987).

Rumus untuk menghitung R_f dapat dilihat pada persamaan 2.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh suatu komponen (b)}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut (a)}} \quad (2)$$

6. Formulasi Gel Antiseptik

Konsentrasi bahan untuk standar pembuatan sediaan gel dan rancangan formula sediaan gel antiseptik ekstrak tumbuhan pada penelitian sebelumnya dapat dilihat pada Tabel 2 dan tabel 3, sedangkan tabel 4 mengenai rancangan formula sediaan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah yang akan dilakukan.

Tabel 2. Konsentrasi bahan untuk standar pembuatan sediaan gel (Rowe *et al*, 2009)

Bahan	Konsentrasi
Ekstrak Tumbuhan	-
Karbomer	0,5 - 2%
Gliserin	≤30 %
TEA	2 - 4 %
Aquadest ad (ml)	Qs

Tabel 3. Rancangan formula sediaan gel antiseptik ekstrak tumbuhan (Sari dan Isadiartuti, 2006)

Bahan	F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak	0%	5%	10%	15%	20%
Karbomer	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
Gliserin	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %
TEA	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
Natrium Metabisulfit	0,02%	0,02%	0,02%	0,02%	0,02%
Aquadest ad	200 ml	200 ml	200 ml	200 ml	200 ml

Tabel 4. Rancangan formula sediaan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah

Bahan	F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak	0%	2,5%	5%	10%	15%
Karbomer	1%	1%	1%	1%	1%
Gliserin	3 %	3 %	3 %	3 %	3 %
TEA	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%
Metil Paraben	0,18%	0,18%	0,18%	0,18%	0,18%
Propil Paraben	0,02%	0,02%	0,02%	0,02%	0,02%
Aquadest ad	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Ethanol 70 %	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

Langkah awal dalam pembuatan gel antiseptik ESM adalah pengembangan basis karbomer. Karbomer dikembangkan menggunakan air panas. Ekstrak daun sirih dilarutkan dengan gliserol sampai benar-benar larut, kemudian ekstrak tersebut dicampurkan ke dalam basis karbomer yang telah dikembangkan. Kemudian masukkan metil dan propil paraben yang telah dilarutkan dalam alkohol secukupnya aduk sampai homogen, langkah terakhir adalah ditambah air sampai volume yang dikehendaki, kemudian ditambah TEA sedikit demi sedikit sambil diaduk perlahan sampai homogen.

7. Evaluasi Sediaan gel

a. Uji Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara langsung berkaitan dengan bentuk, warna dan bau dari sediaan gel yang telah dibuat.

b. Uji Homogenitas

Pengujian ini dilakukan dengan cara sampel gel antiseptik ekstrak daun sirih merah dioleskan pada kaca preparat dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x. sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Ditjen POM,1985).

c. Uji Perubahan pH

Pengujian pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter. *probe* pH meter dicelupkan pada sediaan dan hasil pH dapat dilihat langsung pada alat yang telah terhubung pada *probe* pH meter. pH sediaan yang diinginkan adalah 4,5 – 6,5 sesuai dengan pH kulit manusia (Draelos dan Lauren, 2006).

d. Uji Perubahan Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menempatkan sampel dalam viskometer Brookfield DV-E hingga spindel terendam. Diatur spindel dan kecepatan yang akan digunakan. Viskometer Brookfield DV-E dijalankan, kemudian viskositas dari gel akan terbaca (Septiani dkk., 2011).

e. Uji Daya lekat

Sampel 0,25 gram diletakkan diantara 2 gelas obyek, kemudian ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Setelah itu beban diangkat dari gelas obyek, kemudian pasang gelas obyek pada alat test (tali). Alat uji diberi beban 80 gram dan kemudian dicatat waktu pelepasan gel dari gelas obyek (Miranti, 2009).

f. Uji Daya Sebar

Ditimbang berat kaca arloji 1(K1) dan kaca arloji 2 (K2). Kemudian timbang sebanyak 1 gram sediaan gel dan letakkan dengan hati-hati di atas K1. Selanjutnya ditutup dengan K2, tunggu 1 menit, kemudian ukur diameternya. Langkah selanjutnya berikan pemberat diatasnya hingga bobot mencapai 500 gram, kemudian diukur diameter yang terbentuk setelah 1 menit (Niyogi *et al.*,2012).

8. Uji Efektivitas Daya Antiseptik

Pengujian efektivitas daya antiseptik dilakukan dengan metode replica sebelum dan sesudah penggunaan gel. Pengujian sebelum penggunaan gel diawali dengan cara tangan dicuci dengan air yang mengalir pada kran dan didiamkan sampai kering, Lakukan *swabbing* pada telapak tangan menggunakan kapas lidi steril yang sebelumnya telah direndam pada NaCl. Bakteri yang terdapat pada kapas lidi tersebut kemudian digoreskan (*swabbing*) pada media TSA. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

Kemudian pengujian setelah penggunaan gel antiseptik ESM, gel kontrol negatif dan gel kontrol positif, telapak tangan ditetesi dengan sediaan gel (gel antiseptik ESM, gel kontrol negatif dan gel kontrol positif), kemudian ratakan pada telapak tangan. Langkah selanjutnya adalah *swabbing*. Langkah tersebut sama dengan pengujian sebelum menggunakan gel. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C, kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

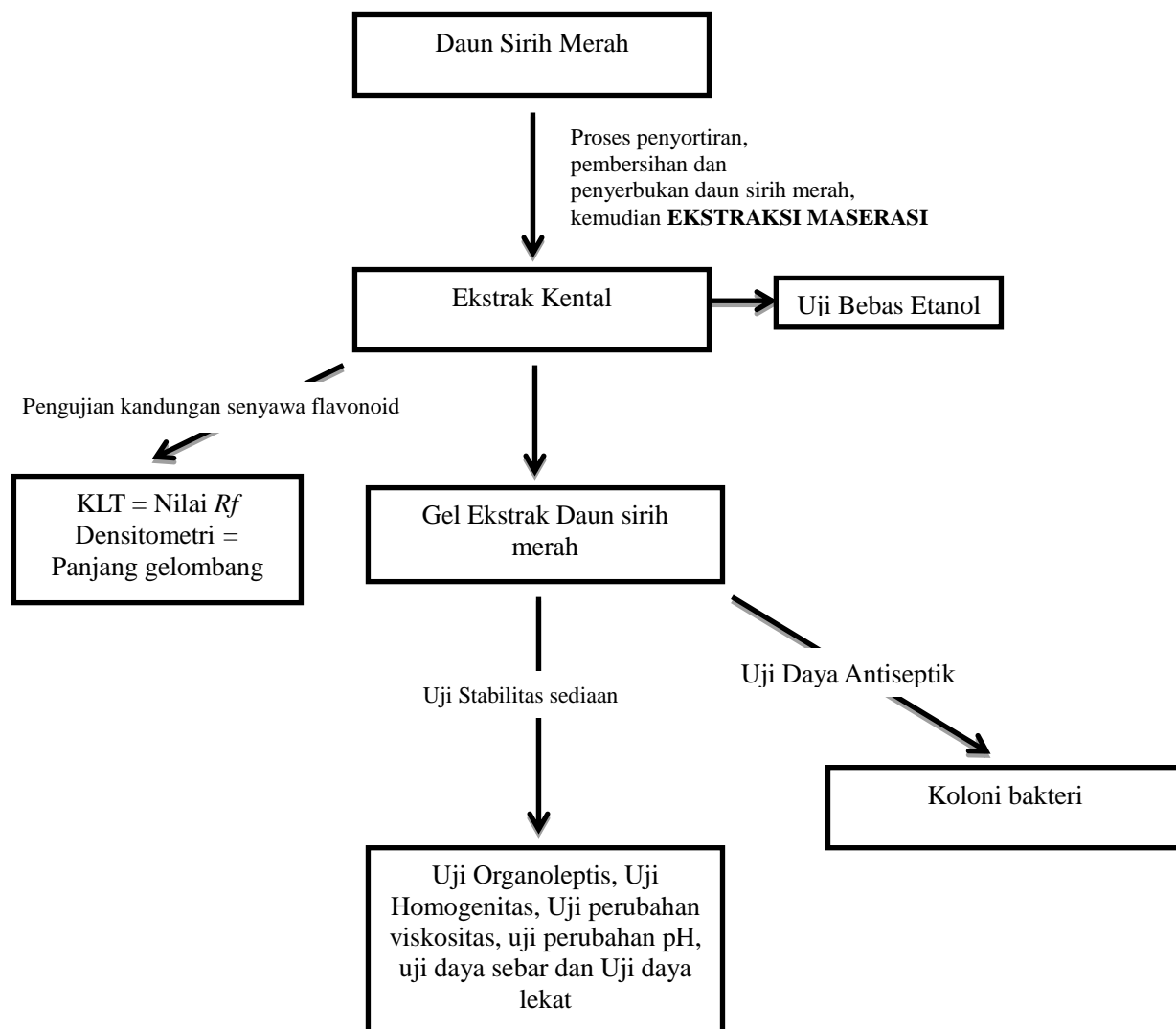
F. Skema Langkah kerja

Skema langkah kerja diawali dengan pembuatan ekstrak daun sirih merah. Pembuatan ekstrak diawali dengan proses ekstraksi dengan metode maserasi selama 5 hari dan remaserasi selama 2 hari. Kemudian dilanjutkan dengan proses *rotary evaporation* (penguapan) sampai terbentuk massa yang kental (ekstrak). Kemudian dihitung rendemen yang dihasilkan.

Langkah selanjutnya adalah uji bebas etanol untuk mengetahui ada atau tidaknya etanol dalam ekstrak dan dilanjutkan dengan uji KLT untuk mengetahui apakah terdapat senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antiseptik. Hitung *Rf*

yang dihasilkan dari uji KLT. Untuk lebih memastikan bahwa senyawa flavonoid terdapat pada ekstrak daun sirih merah (ESM), maka lempeng hasil uji KLT di amati kembali menggunakan densitometer. Lihat panjang gelombang yang dihasilkan.

Proses terakhir adalah pembuatan sediaan gel antiseptik ESM. Proses tersebut diawali dengan optimasi sediaan. Setelah itu hasil dari optimasi sediaan digunakan sebagai acuan pembuatan sediaan gel antiseptik ESM. Setelah sediaan gel dibuat, langkah selanjutnya adalah uji karakteristik sediaan gel yaitu uji organoleptik, uji homogenitas, uji perubahan pH, uji perubahan viskositas, uji daya lekat, dan uji daya sebar selama 7 minggu. Langkah terakhir adalah uji efektifitas daya antiseptik dengan cara membandingkan jumlah koloni yang tumbuh sebelum dan sesudah menggunakan gel antiseptik ESM. Skema langkah kerja dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Skema Langkah Kerja

G. Analisis Data

Hasil nilai R_f uji KLT ekstrak sirih merah akan dibandingkan dengan nilai R_f uji KLT dari rutin sebagai pembanding. Setelah itu nilai R_f Ekstrak sirih merah akan dibandingkan dengan nilai R_f yang ada pada pustaka untuk mengetahui jenis flavanoid yang ada pada ekstrak sirih merah (Mursyidi, 1990).

Hasil dari uji karakteristik fisik sediaan gel yang diperoleh dengan replikasi tiga kali akan seperti penurunan pH, viskositas dan daya lekat akan disajikan sebagai rata-rata dan daya sebar dalam bentuk gambar. Sedangkan untuk hasil Penurunan jumlah koloni bakteri akan disajikan sebagai persentase penurunan antara sebelum dan sesudah penggunaan gel antiseptik ekstrak sirih merah. Kemudian dilakukan regresi linier untuk menentukan hubungan antara konsentrasi ekstrak (X) dengan Penurunan jumlah koloni bakteri (Y).

Uji statistika yang dilakukan hanya pada uji daya antiseptik. Uji yang dilakukan antara lain uji *paired sample t test* untuk mengetahui signifikansi penurunan jumlah koloni bakteri antara sebelum dan sesudah menggunakan gel antiseptik. Kemudian dilakukan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk melihat signifikansi perbedaan penurunan pada tiap sediaan, yaitu pada gel kontrol positif, F1, F2, F3, F4 dan F5 karena mempunyai nilai tidak normal pada uji normalitas. Uji statistika yang terakhir adalah korelasi dan regresi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengumpulan dan Penyiapan Simplisia

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz. & Pav.) yang diperoleh dari daerah Secang, Magelang, Jawa Tengah. Determinasi tanaman dilakukan di Laboraturium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (UGM). Tujuan dilakukannya determinasi tanaman adalah untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan tumbuhan seperti ciri morfologi secara makroskopis dan mikroskopis tanaman dibandingkan dengan kepustakaan. Hasil determinasi (lampiran 1) menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz. & Pav.).

Pada penelitian ini, bagian dari simplisia yang digunakan adalah daun. Daun sirih merah yang akan digunakan pada penelitian ini telah melalui proses sortasi dan pencucian untuk memisahkan kotoran-kotoran dengan menggunakan air bersih yang mengalir, kemudian dilakukan pengeringan. Tujuan dilakukannya proses pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tahan lama atau awet serta tidak mudah rusak karena adanya pertumbuhan jamur sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang relatif lebih lama. Proses selanjutnya yang dilakukan adalah proses penghalusan dan penyaringan. Proses ini bertujuan untuk mendapatkan serbuk simplisia yang homogen dan untuk mempermudah penarikan senyawa zat aktif simplisia yang dapat digunakan sebagai antibakteri

yaitu flavonoid.

B. Ekstraksi Simplisia

Proses penyarian zat aktif pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode maserasi. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam 700 gram serbuk daun sirih merah dengan pelarut etanol 70% (1:10) (Retno, 2006). Proses maserasi dilakukan selama 5 hari dengan bantuan pengadukan, kemudian dilanjutkan proses remaserasi selama 2 hari. Proses tersebut bertujuan agar senyawa-senyawa aktif dapat diambil secara optimal. Setelah proses maserasi dan remaserasi, tahapan selanjutnya adalah proses pemekatan atau evaporasi dengan menggunakan evaporator dengan suhu 50°C dan kecepatan 100 rpm. Hasil rendemen tertera pada tabel 5. Rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini mendekati hasil rendemen ekstrak sirih merah yang dilakukan pada penelitian sebelumnya yaitu 11,92% (Puzi, 2015).

Tabel 5. Hasil Ekstraksi daun sirih merah

Serbuk daun sirih merah (gram)	Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
700	87,5	12,5

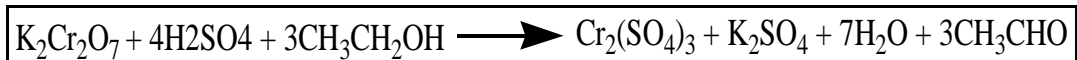
C. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membuktikan bahwa tidak ada kandungan etanol yang terdapat dalam ekstrak daun sirih merah. Dengan demikian, hasil pada daya antiseptik murni karena pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah yang digunakan bukan karena senyawa pelarut etanol pada ekstrak sirih merah. Dari hasil uji didapatkan bahwa tidak adanya perubahan warna dari jingga atau merah menjadi hijau kebiruan, sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak

daun sirih merah telah bebas dari etanol secara kualitatif. Hasil dari uji bebas etanol ditunjukkan pada gambar 9 dan 10.



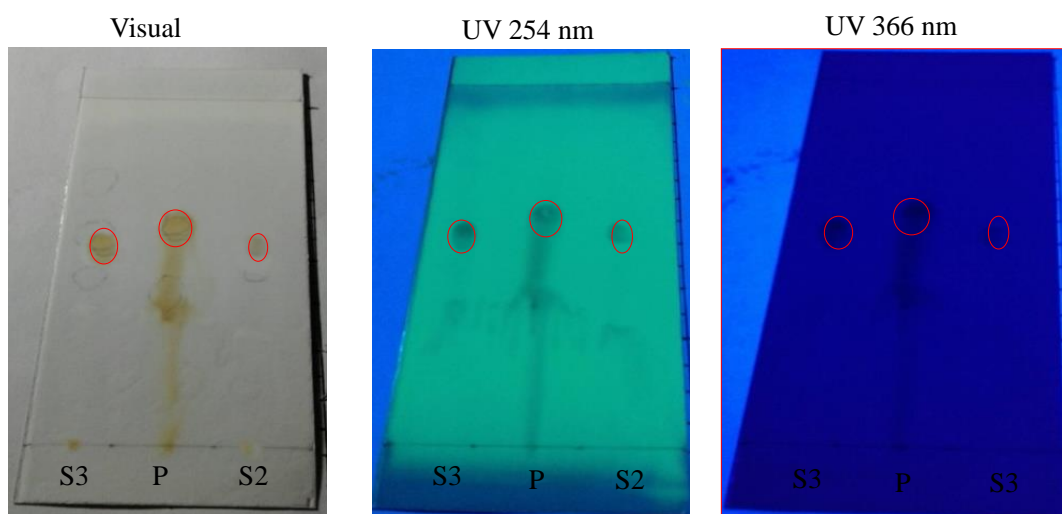
Gambar 9 . Uji Bebas Etanol



Gambar 10 . Reaksi kimia antara kalium dikromat, asam sulfat dan etanol

D. Uji Kandungan Senyawa Flavonoid

Pengujian identifikasi kandungan flavonoid pada ekstrak daun sirih merah dilakukan menggunakan metode KLT yang dilanjutkan dengan uji densitometri. Larutan yang ditotolkan pada fase diam adalah larutan hasil pengenceran ekstrak dan larutan pembanding. Larutan pembanding yang digunakan adalah larutan rutin (Koirewoa, 2012). Hasil elusi kemudian diamati pada sinar tampak, sinar ultra violet (UV) 254 nm dan sinar UV 366 nm (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Gambar 12 adalah hasil identifikasi senyawa flavonoid dengan metode KLT.

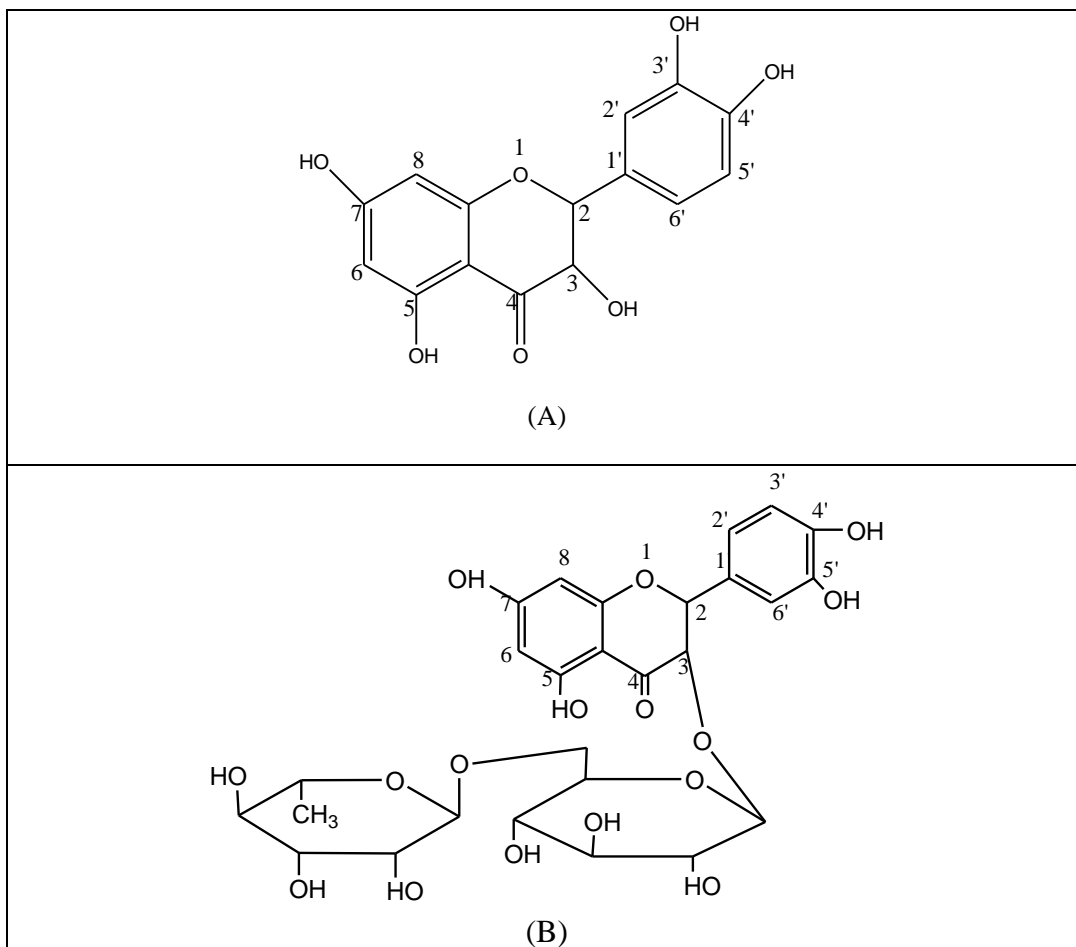


Gambar 11 . Hasil Uji KLT Senyawa Flavonoid. (S3) ESM dengan tiga kali penotolan. (P) Rutin. (S2) ESM dengan dua kali penotolan

Menurut Damayanti (2001), secara teori senyawa flavanoid akan menghasilkan bercak warna kuning pada hasil penotolan apabila diamati pada sinar tampak dan akan menghasilkan bercak kuning yang berfluorens apabila dideteksi menggunakan sinar UV 254. Hasil penelitian ini bersesuaian dengan teori yaitu menghasilkan bercak kuning yang berfluorens apabila dideteksi menggunakan sinar UV 254 dan R_f yang didapatkan adalah 0,72 pada larutan rutin dan 0,63 pada larutan ekstrak. Nilai R_f tersebut masuk dalam *renge* nilai R_f senyawa flavonoid yaitu antara 0,2 – 0,75 (Mursidi,1990).

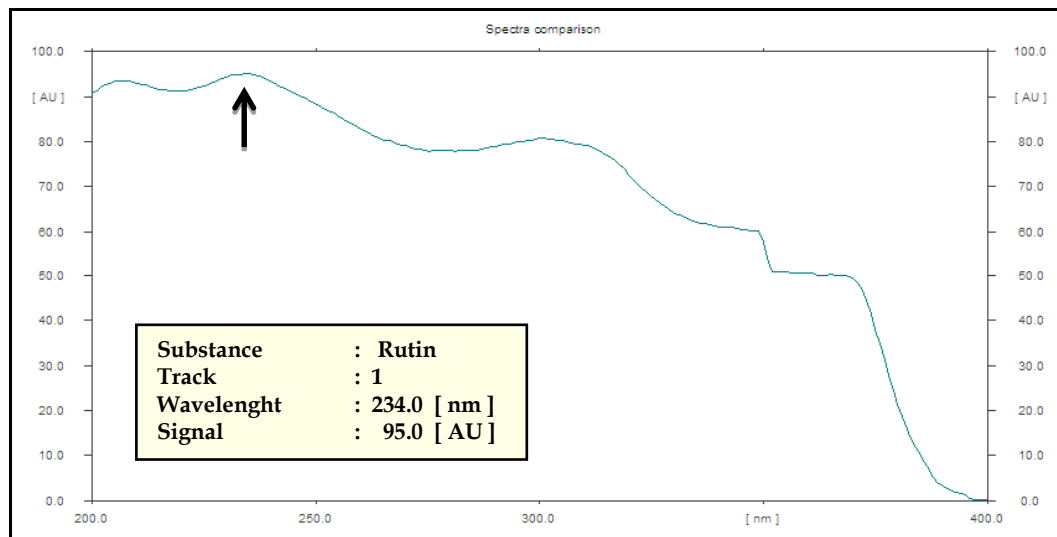
Mursidi (1990) menegaskan bahwa pada *range* R_f antara 0,6 - 0,75 masuk dalam *range* senyawa quersetin. Perbedaan nilai R_f antara larutan ekstrak dan larutan rutin dikarenakan rutin bersifat lebih polar dibandingkan dengan senyawa quersetin dari ESM. Hal tersebut dikarenakan jumlah gugus OH pada senyawa rutin (gambar B) lebih banyak dibandingkan dengan gugus OH yang terdapat pada senyawa quersetin (Gambar A) pada ESM. Perbedaan

mengenai struktur senyawa antara quersetin dan rutin dapat dilihat pada gambar 12.

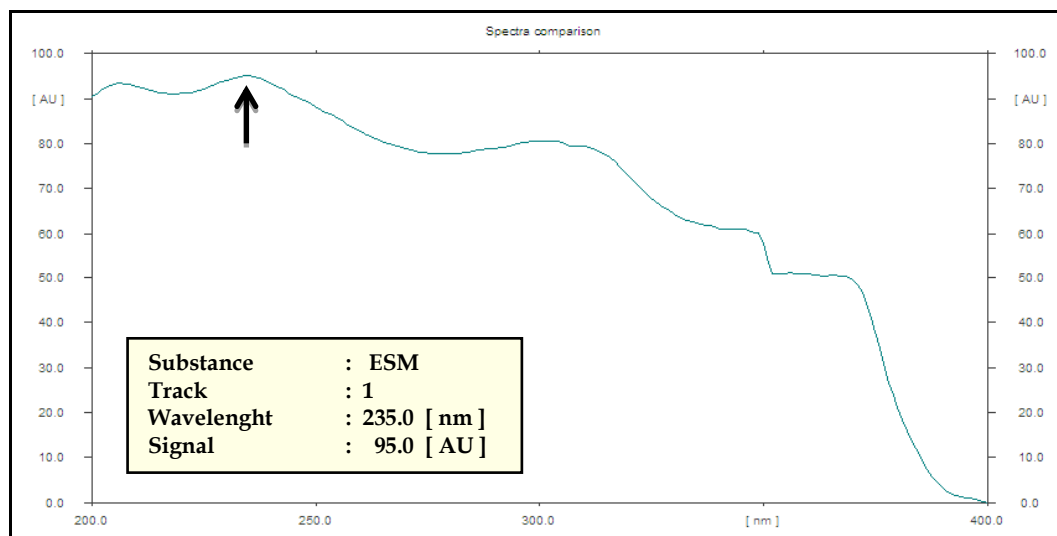


Gambar 12. A. Struktur Quersetin. B. Struktur Rutin

Proses selanjutnya yang dilakukan adalah uji densitometri senyawa flavonoid. Langkah yang dilakukan adalah memasukkan lempeng hasil uji KLT kedalam alat densitometri. Fungsi dilakukannya uji densitometri adalah untuk mengetahui serapan tertinggi yang dihasilkan antara senyawa rutin dan ekstrak daun sirih merah (ESM). Hasil dapat dilihat dari komputer yang telah terhubung dengan alat tersebut. Berikut merupakan hasil kromatogram uji densitometri. Hasil uji densitometer terdapat pada gambar 13 dan 14.



Gambar 13. Hasil Analisis Rutin Menggunakan Densitometer (200-400 nm)



Gambar 14. Hasil Analisis ESM Menggunakan Densitometer (200-400 nm)

Berdasarkan hasil kromatogram dari uji densitometer didapatkan nilai panjang gelombang dari ekstrak daun sirih merah adalah 234 nm. Hasil tersebut mendekati nilai panjang gelombang dari rutin. Dengan demikian maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah mengandung senyawa yang memiliki gugus kromofor mirip dengan senyawa rutin.

E. Optimasi Basis Karbomer Sediaan Gel Antiseptik

Optimasi basis sediaan gel pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi karbomer yang akan digunakan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Prahastiwi (2014), diperoleh hasil bahwa hambatan terbesar ESM pada pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif adalah pada konsentrasi 6,25% b/v. Dari hasil penelitian diatas, maka proses optimasi basis karbomer sediaan gel dilakukan menggunakan kadar ESM 6,25% b/v. Analisis basis sediaan yang baik berdasarkan pada nilai viskositas dari formula yang mendekati nilai viskositas dari kontrol positif. Hasil optimasi yang dilakukan dapat dilihat pada table 6.

Tabel 6. Optimasi Sediaan Gel antiseptik ESM

Sediaan	Konsentrasi %	Viskositas (Poise)
Gel Hansanitizer ESM	0,5%	4,21
basis Karbomerl	1%	6,92
	1,5%	39,5
Kontrol Positif (Gel "C")		10,3

Menurut Rowe *et al* (2009), penggunaan karbomer sebagai *gelling agent* adalah pada konsentrasi 0,5–2%, oleh karena itu optimasi dilakukan menggunakan tiga variasi konsentrasi yaitu konsentrasi karbomer 0,5%, 1% dan 1,5% (Ida, 2012). Setelah itu dilakukan pengukuran viskositas pada setiap sediaan . Hasil pengukuran menunjukkan bahwa viskositas sediaan gel yang mendekati viskositas sediaan kontrol adalah sediaan gel dengan konsentrasi basis yaitu 1% dengan viskositas 6.92 poise. Hasil tersebut kemudian digunakan sebagai acuan untuk membuat rancangan formulasi gel antiseptik ESM.

F. Formulasi Gel Antiseptik ESM

Rancangan formula antiseptik ekstrak daun sirih merah yang akan dibuat menggunakan variasi dari kadar ESM mulai dari 0% sampai 15 %. Variasi konsentrasi tersebut dipilih untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan daya antiseptik antara konsentrasi ESM sebelum dan sesudah menjadi sediaan gel. Berdasarkan optimasi sediaan gel antiseptik ESM yang telah dilakukan, konsentrasi karbomer yang akan digunakan adalah 1%. Rancangan formulasi yang dibuat untuk penelitian ini adalah formulasi dari penelitian sebelumnya (Sari dan Isadiartuti, 2006). Dari formulasi tersebut, dilakukan beberapa modifikasi bahan. Modifikasi yang dilakukan antara lain adalah penambahan zat preservatif (pengawet) dan modifikasi konsentrasi pada setiap bahan (berdasarkan konsentrasi bahan yang digunakan pada optimasi sediaan gel antiseptik ESM). Fungsi masing-masing bahan dan penimbangan jumlah bahan dapat dilihat pada tabel 7 dan 8.

Tabel 7. Fungsi Bahan

Bahan	Fungsi
Ekstrak	Zat aktif
Karbomer	Basis
Gliserin	Humektan
TEA	<i>Adjusting</i> pH, pengental dan penjernih
Methyl Paraben	<i>Preservative</i>
Propyl Paraben	<i>Preservative</i>
Aquadest	Ad
Ethanol 70%	Pelarut metil dan propil Paraben

Tabel 8. Perhitungan Jumlah Bahan

Bahan	F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak	0 g	2,5 g	5 g	10 g	15 g
Karbomer	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Gliserin	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml
TEA	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
Methyl Paraben	0,18 g	0,18 g	0,18 g	0,18 g	0,18 g
Propyl Paraben	0,02 g	0,02 g	0,02 g	0,02 g	0,02 g
Etanol 70%	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Aquadest add	91,74 ml	88,97 ml	86,47 ml	81,47 ml	76,47 ml

Perhitungan jumlah bahan dengan bentuk cair mempertimbangkan massa jenis dari setiap bahan. Fungsinya adalah untuk menghitung jumlah atau aquadest yang akan ditambahkan pada formulasi. Massa jenis setiap bahan dapat dilihat pada tabel 9.

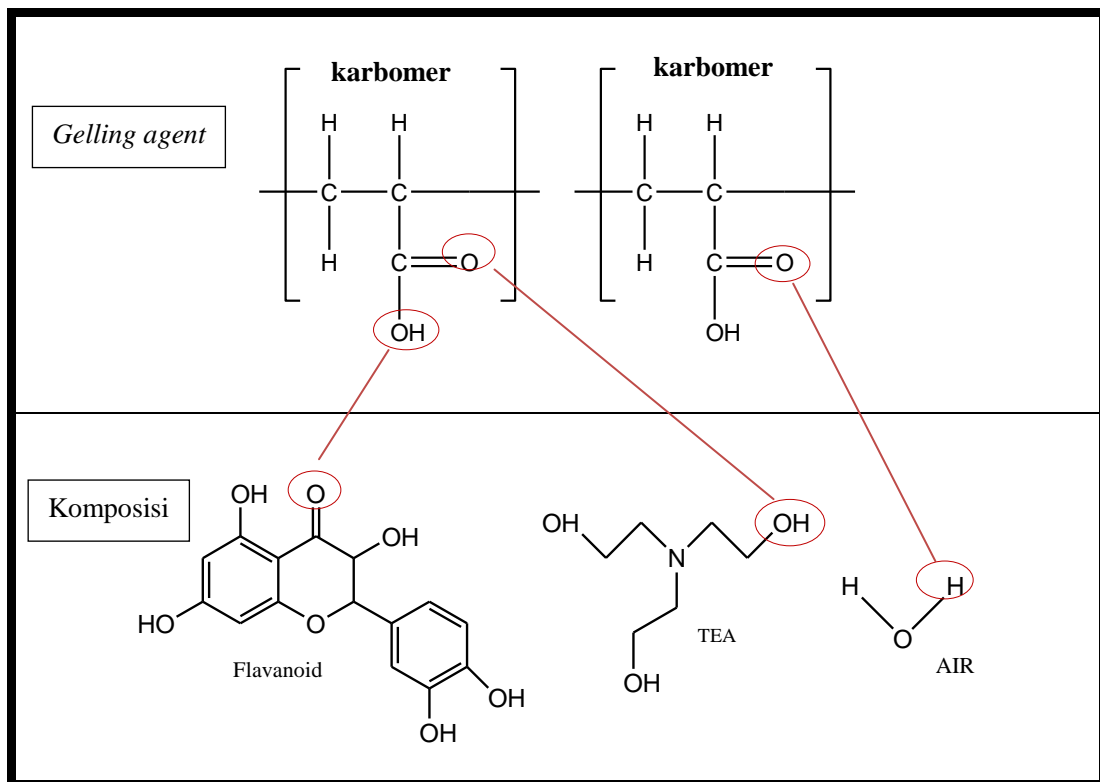
Tabel 9. Massa Jenis Bahan Cair

Bahan	Massa Jenis (g/ml)
Aquadest	1
Etanol 70%	0,886
TEA	1,124
Gliserin	1,29

Pada penelitian ini, sediaan gel antiseptik ESM yang akan dibuat adalah sediaan gel sistem satu fase. Stabilitas dari sediaan berupa gel dapat diamati secara visual bentuk sediaan gel. Sediaan gel yang baik adalah sediaan yang dapat mempertahankan distribusi halus dan teratur dari makromolekul *organic* sebagai zat aktif dalam rentang waktu yang panjang.

Pada proses pengembangan basis, karbomer apabila dicampurkan dengan air dalam suasana asam maka akan membentuk suatu massa gel yang memiliki afinitas yang kuat antara zat aktif dan basis mengandung air. Afinitas adalah kecenderungan suatu senyawa untuk membentuk suatu ikatan dengan senyawa

lain. Dengan demikian, zat aktif yang larut air dalam sediaan akan sukar lepas dari sediaan dan mengalami kesulitan saat penetrasi ke bakteri. Penambahan TEA digunakan sebagai *adjusting pH agent* atau agen pembasa yang akan mengionisasi dan menyebabkan zat aktif larut air dapat masuk dan terjebak dalam matriks yang mudah lepas kembali sehingga dapat dengan mudah berpenetrasi. Sifat yang dimiliki oleh karbomer adalah hidrokoloid atau hidrofil, maka apabila didispersikan dalam air akan mengembang. Proses selanjutnya adalah proses hidrasi molekul melalui pembentukan ikatan hidrogen. Karbomer memiliki senyawa kimia yang ujung-ujung rantainya memiliki gugus RCOOH yang bersifat asam, sebagian gugus karboksil pada struktur molekul karbomer akan membentuk gulungan yang tidak terionisasi. Apabila pH dispersi karbomer ditingkatkan dengan penambahan basa, maka secara progresif gugus karboksil akan terionisasi. Proses terionisasinya gugus karboksil ini akan mengakibatkan gaya tolak-menolak antara gugus yang terionkan dan menyebabkan ikatan hidrogen pada gugus karboksil sehingga terjadinya peningkatan viskositas (Florence, *et al.*, 2006). Ilustrasi interaksi antara karbomer dan bahan (zat aktif (flavanoid, air dan TEA) dapat dilihat pada gambar 15.



Gambar 15. Ilustrasi Interaksi antara Karbomer, flavonoid, TEA dan Air (Hilman, 2015)

Interaksi pembentukan ikatan hidrogen antara karbomer, TEA dan komponen ESM diperkirakan karena adanya gugus hidroksil (-OH) dan gugus karbonil (C=O) dari *gelling agent*. Semakin banyak ikatan hydrogen yang terbentuk maka viskositas akan meningkat.

F. Uji karakteristik Gel Ekstrak Daun Sirih Merah

Pengujian stabilitas pada sediaan gel antiseptik ESM dilakukan dengan uji organoleptis, uji homogenitas, uji perubahan pH, uji viskositas, uji daya lekat dan uji daya sebar. Hasil uji stabilitas gel antiseptik ESM dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Data Uji karakteristik Gel antiseptik Ekstrak Daun Sirih Merah selama 7 minggu

Karakteristik	Formula					
	Kontrol Positif	F1	F2	F3	F4	F5
Warna	Bening	Bening	Hijau pekat	Hijau pekat	Hijau pekat	Hijau pekat
Bau	Alkohol	Khas Basis	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
pH	5,71± 0,03	6.68±0.45	5.88±0.24	5.69±0.19	5.28±0.13	5.09±0.05
Viskositas*	-	2468.89±248,10	1545.67±286.17	592.22±128.03	324.11± 115.75	99.11±31.46
Daya Lekat**	-	0,81±0,02	0,79±0,02	0.46±0.06	0.31±0.05	0.20±0.04
Daya Sebar	-	1.82	2.12	2.20	2.47	2.72

Catatan :

*satuan dari viskositas adalah cPause

**satuan daya lekat adalah detik

1. Uji Organoleptik dan Uji Homogenitas

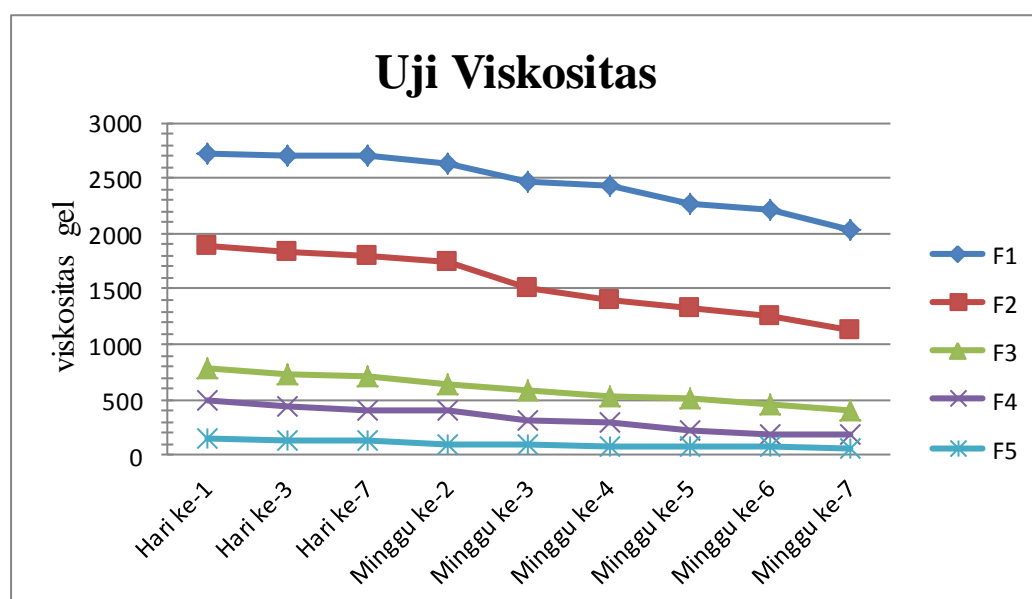
Uji organoleptis merupakan uji yang sering dilakukan sebagai control kualitas dari sebuah sediaan. Uji ini biasa dilakukan untuk mengetahui secara visual ada atau tidaknya perubahan dari sediaan yang disimpan dalam jangka waktu tertentu. Hasil uji organoleptis yang dilakukan pada formula gel ekstrak daun sirih merah yaitu berwarna hijau muda pada konsentrasi 2,5 % dan hijau pekat pada formulasi 5%, 10% dan 15 %, berbau khas sirih merah.

Uji selanjutnya yang dilakukan adalah uji homogenitas sediaan gel. Uji ini merupakan salah satu faktor penting untuk mengetahui kualitas suatu sediaan. Tujuan dilakukannya uji homogenitas sediaan gel ini adalah untuk melihat keseragaman partikel sediaan gel sehingga menghasilkan efek maksimal. Hasil untuk uji homogenitas menunjukkan bahwa sediaan gel antiseptik ESM memiliki homogenitas yang baik, hal tersebut ditandai dengan hasil pengamatan yang menunjukkan bahwa semua partikel dalam sediaan gel terdispersi merata pada kaca objek dan tidak adanya penggumpalan partikel ketika diamati pada mikroskop. Dari evaluasi mengenai warna, bau dan homogenitas diketahui bahwa sediaan tetap stabil sampai minggu ke 7 pengujian.

2. Uji Viskositas

Viskositas merupakan suatu ukuran kekentalan yang menyatakan besar atau kecilnya gesekan dalam fluida. Semakin besar viskositas suatu fluida maka semakin sulit suatu benda bergerak dalam fluida. Dalam hal ini semakin kental sediaan gel, maka akan semakin besar kekuatan yang

diperlukan sediaan gel tersebut untuk dapat mengalir dengan kecepatan tertentu (Martin, 1993). Nilai viskositas yang baik adalah 2000-4000 cps (Garg *et al.*, 2002). Selain itu, dengan semakin tingginya tinggi viskositas sediaan, maka laju pemisahan fase terdispersi semakin kecil, sehingga sediaan gel semakin stabil (Suryani *et al.*, 2000). Gambar 16 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ESM maka viskositas sediaan gel semakin kecil.



Gambar 16. Uji Viskositas Sediaan Gel Antiseptik ESM

Salah satu faktor yang mempengaruhi viskositas sediaan adalah pH sediaan gel, dalam hal ini karbomer memiliki tingkat kekentalan yang stabil pada pH 6-11 (Rowe *et al.*, 2009). Dimana kekentalan tersebut dihasilkan karena penambahan TEA pada sediaan, sehingga gugus karboksil yang dimiliki oleh karbomer akan berubah menjadi COO^- , sehingga akan terjadi gaya tolak menolak elektrostatis antara gugus yang terionkan dan menyebabkan ikatan hidrogen

menjadi lebih kuat sehingga mengakibatkan karbomer mengembang, menjadi *rigid* dan lebih stabil (Barry, 1983).

Pada penelitian ini, uji viskositas sediaan yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar ekstrak daun sirih merah, maka viskositas sediaan akan mengalami penurunan. Hal tersebut dikarenakan beberapa faktor, yaitu pH karbomer, pH ekstrak dan jumlah TEA yang digunakan. pH karbomer ketika telah dikembangkan yaitu berkisar antara 2-4, untuk menghasilkan sediaan gel yang baik maka dibutuhkan TEA yang cukup dan berfungsi sebagai pengental, penjernih dan penetral pH (pH 7). Namun, pada sediaan gel ekstrak sirih merah, pH yang dimiliki oleh ekstrak adalah asam yaitu 4,06. Dengan demikian maka diperlukan tambahan jumlah TEA untuk membuat sediaan gel tersebut. Akan tetapi, pada formulasi ini digunakan TEA dalam jumlah yang sama banyak pada setiap peningkatan konsentrasi ekstrak, yang membuat sediaan dengan konsentrasi tinggi bersifat asam yang mengakibatkan jumlah gugus karboksilat terion berkurang sehingga tolak menolak pada gugus karboksil yang menyebabkan terjadinya pengembangan pada struktur karbomer menurun. Dengan demikian dapat menyebabkan penurunan viskositas sediaan gel dengan meningkatnya jumlah ekstrak. Sediaan gel ekstrak sirih merah yang masuk dalam rentang nilai viskositas yang ideal adalah formula 1 (F1) atau formula tanpa ekstrak sirih merah (0%). Sedangkan untuk formula 2, 3, 4 dan 5 walaupun tidak memenuhi nilai viskositas yang ideal, tetap menunjukkan kestabilan yang baik sampai dengan minggu ke 7.

3. Uji pH Sediaan

Fungsi pengukuran pH sediaan gel adalah selain untuk mengetahui kestabilan suatu sediaan, juga untuk mengetahui apakah sediaan tersebut aman atau tidak iritasi apabila digunakan pada kulit manusia. Dalam hal ini, karbomer memiliki tingkat kekentalan yang stabil pada pH 6-11 (Rowe *et al*, 2009) sedangkan pH yang dimiliki kulit yaitu berkisar antara pada pH 4,5-6,5 (Draeos dan Lauren, 2009). Berdasarkan hasil penelitian, pH sediaan yang masuk dalam rentang pH stabilitas karbomer adalah pH dari formula satu (F1), sedangkan pH yang masuk dalam *range* pH kulit adalah gel kontrol positif, formula 2 (F2), formula 3 (F3), formula 4 (F4) dan formula 5 (F5).

Namun, perbedaan antara pH gel dengan pH kulit tidak akan menyebabkan iritasi pada kulit atau kerusakan pada kulit. Hal tersebut dikarenakan kulit memiliki kapasitas buffer yang cukup tinggi (Levin *et al.*, 2001). Dengan demikian, apabila kulit terpapar bahan atau larutan yang bersifat asam atau basa, maka akan terjadi perubahan pH sementara pada kulit. Namun, pH kulit akan kembali dengan cepat pada keadaan normalnya. Hal tersebut, mengindikasikan bahwa kulit memiliki kapasitas buffer yang tinggi (Levin *et al*, 2001).

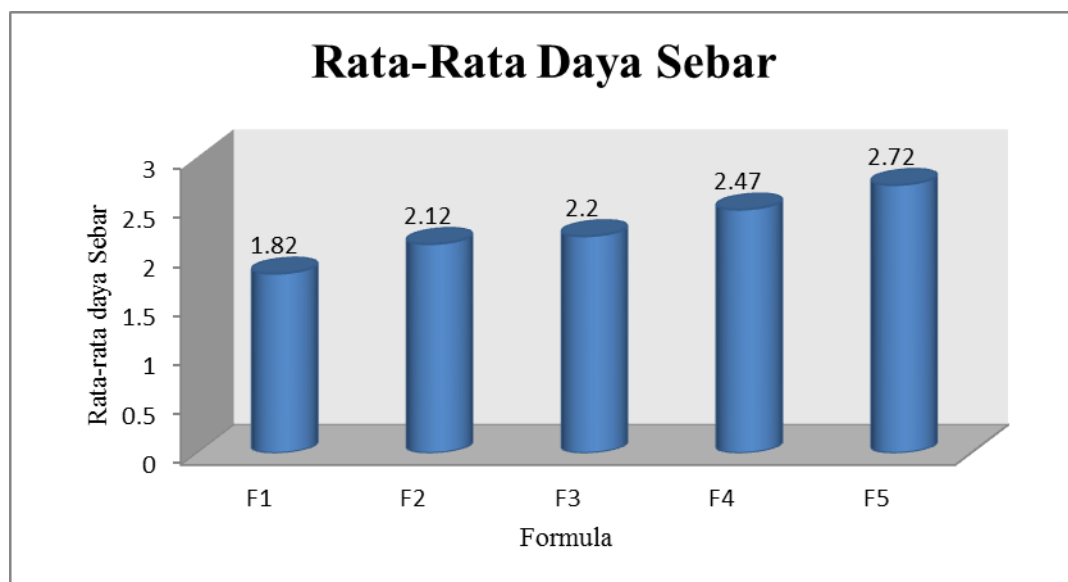
4. Uji Daya Sebar

Tujuan dilakukannya pengujian mengenai daya sebar sediaan gel adalah untuk mengetahui daya penyebaran gel pada permukaan kulit sehingga dapat diketahui penyebaran zat aktif dari sediaan gel. Pengujian daya sebar merupakan salah satu syarat dari suatu sediaan semisolid, apabila sediaan semisolid memiliki daya sebar yang tinggi maka akan memberikan daerah penyebaran yang luas pada

kulit sehingga zat aktif yang terkandung dari sediaan semisolid akan tersebar secara merata.

Daya sebar gel yang baik yaitu antara 5 sampai 7 cm (Garg *et al.*, 2002). Daya sebar yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi ESM pada sediaan. Hasil dari pengujian daya sebar adalah semakin tinggi kadar ekstrak maka daya sebar yang dihasilkan semakin besar pula. Hasil daya sebar dan rata-rata daya sebar pada pengamatan pertama dapat dilihat pada gambar 17.

Hasil pengujian terhadap daya sebar menunjukkan bahwa sediaan yang memiliki daya sebar terbesar adalah sediaan gel kadar ESM 15% dengan rata-rata 2,72 cm.



Gambar 17. Rata-rata Daya sebar Gel Antiseptik ESM (1) Formula 1. (2) Formula 2. (3) Formula 3. (4) Formula 4. (5) Formula 5.

5. Uji Daya Lekat

Tujuan dilakukannya pengujian mengenai daya lekat yaitu untuk mengetahui kemampuan gel melekat pada kulit. Daya lekat yang baik adalah

dapat melapisi kulit secara menyeluruh, tidak mengganggu fungsi fisiologis kulit dan menyumbat pori-pori (Voight,1994). Gel yang baik memiliki daya lekat yang tinggi (Carter, 1975). Daya lekat suatu sediaan dipengaruhi viskositas suatu sediaan, semakin tinggi viskositas maka daya lekat yang dihasilkan tinggi pula dan sebaliknya (Nurlaela dkk., 2012). Daya lekat suatu sediaan diperlukan untuk mengetahui lama atau durasi efek dari suatu zat aktif dari suatu sediaan (Ansel, 1989).

Daya lekat yang dihasilkan dari pengujian ekstrak sirih merah mengalami penurunan. Pola penurunan yang dihasilkan adalah $F1 > F2 > F3 > F4 > F5$. Faktor yang memengaruhi antara lain pH sediaan dan viskositas. Meningkatnya viskositas sediaan menjadikan sediaan menjadi lebih kental, hal tersebut menyebabkan peningkatan daya lekat gel dan juga sebaliknya, apabila viskositas turun maka daya lekat akan turun juga. Untuk sediaan gel ekstrak sirih merah hasil nilai daya lekat tidak ada yang masuk dalam rentang nilai ideal dari daya lekat. Hal tersebut dikarenakan bentuk sediaan yang terlalu encer.

G. Uji Antiseptik Gel ESM

Pengujian efektivitas dari daya antiseptik ESM dilakukan menggunakan metode Replika (Lay, 1994). Uji replika dilakukan dengan meneteskan dan meratakan sediaan gel pada telapak tangan dan kemudian dilakukan *swabbing* dari telapak tangan ke media TSA. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C, kemudian koloni yang tumbuh pada media dihitung.

Uji daya antiseptik pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar penurunan jumlah koloni kuman pada telapak tangan sebelum dan

setelah diberikan gel antiseptic ESM dan gel antiseptik dipasaran sebagai kontrol positif. Dari tabel 11 mengenai hasil uji antiseptik gel ESM dapat diketahui bahwa setelah pemakaian sediaan gel ESM terjadi penurunan pertumbuhan jumlah koloni. Penurunan jumlah koloni secara signifikan dimulai dari kadar 5% yaitu 27,19%, kadar 10% yaitu 68,10% dan kadar 15% yaitu 85,62%. Sedangkan, sediaan gel antiseptik dipasaran menunjukkan bahwa jumlah koloni yang tumbuh setelah pemakaian berkurang sampai 99,14%.

Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa gel ekstrak daun sirih merah dengan kadar 15% mempunyai daya antiseptik, walaupun apabila dibandingkan dengan sediaan pembanding efektifitas dari gel ESM masih kurang. Gambar 18 adalah gambar mengenai pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak terhadap persentase penurunan jumlah koloni bakteri. Hubungan antara konsentrasi ekstrak sirih merah dengan penurunan jumlah koloni memberikan persamaan 3.

$$Y = 6,24X - 3,5242 \quad (3)$$

Tabel 11. Hasil uji antiseptik gel ESM

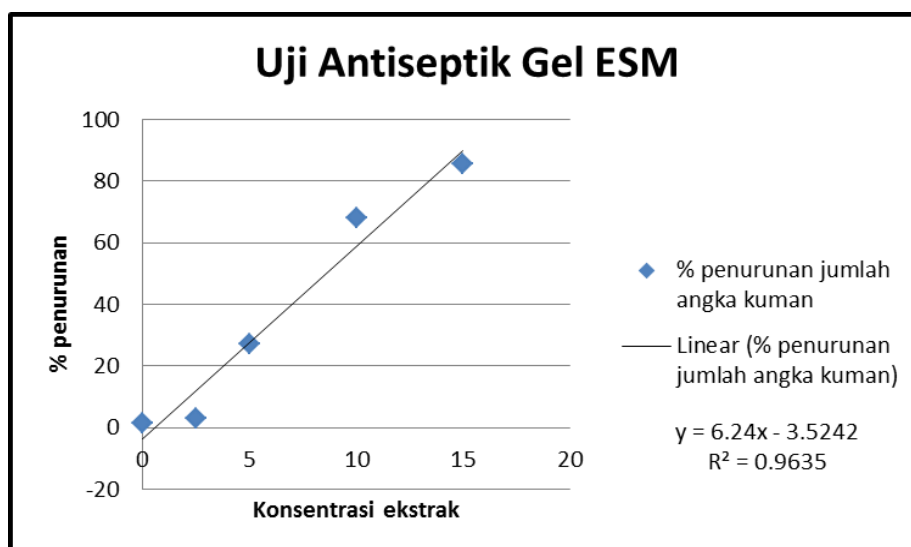
Sediaan	Rata-rata Pertumbuhan Bakteri		Rata-rata Pengurangan bakteri (%)
	Sebelum	Sesudah	
Kontrol (+)	582	5	99,14 %
Kontrol (-)*	583	571	1,38 %
2,5 %	732	711	2,89 %
5 %	673	490	27,19%
10 %	997	318	68,10%
15 %	598	86	85,62 %

* kontrol (-) = gel ESM 0%

* kontrol (+) = gel antiseptic *hand sanitizer* "C"

Persamaan tersebut menerangkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula Penurunan jumlah koloni bakteri yang dihasilkan. Sedangkan untuk nilai R yang dihasilkan adalah 0,981. Hasil tersebut masuk

dalam rentang nilai $R = 0,80 - 1,000$ maka dapat disimpulkan hubungan antara konsentrasi ESM (X) dengan persentase penurunan jumlah koloni bakteri (Y) sangat kuat.



Gambar 18. Uji daya Antiseptik (pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak vs % penurunan jumlah koloni bakteri)

Kemudian dilakukan uji statistika yaitu *paired sample t test* (uji t berpasangan). Uji ini adalah untuk melihat signifikansi penurunan jumlah koloni antara sebelum dan setelah penggunaan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah. Hasil dari uji *paired sample t test* dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Nilai signifikansi penurunan jumlah koloni antara sebelum dan setelah menggunakan gel antiseptik ESM.

Formula	Nilai Signifikansi
Kontrol positif	0.000
F1 (0% atau Kontrol negatif)	0.781
F2 (2,5%)	0.118
F3 (5%)	0.000
F4 (10%)	0.000
F5 (15%)	0.000

- nilai <0.05 adalah terjadi perbedaan secara nyata
- nilai signifikansi <0.05 adalah tidak terjadi perbedaan secara nyata

Data nilai signifikansi penurunan jumlah koloni antara sebelum dan setelah menggunakan gel antiseptik ESM menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah koloni yang sangat signifikan antara sebelum dan sesudah menggunakan gel antiseptik pada gel kontrol positif, gel formula 3, gel formula 4 dan gel formula 5. Sedangkan gel formula 1 dan gel formula dua menunjukkan hasil bahwa tidak memberikan penurunan secara nyata atau signifikan terhadap jumlah koloni. Setelah uji *paired sample t test* uji selanjutnya yang dilakukan adalah uji normalitas sampel. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Tes Normalitas

Formulasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Penurunan	Kontrol positif	0.178	3	.	1.000	3	0.957
	F1 (0%)	0.237	3	.	0.976	3	0.704
	F2 (2,5%)	0.287	3	.	0.930	3	0.487
	F3 (5%)	0.248	3	.	0.968	3	0.657
	F4 (10%)	0.325	3	.	0.876	3	0.313
	F5 (15%)	0.380	3	.	0.761	3	0.024

Dari data tes normalitas didapatkan hasil bahwa formulasi 5 (F5) yang memiliki nilai signifikansi $< 0,05$ (tidak normal). Dengan demikian, untuk membandingkan antara gel kontrol positif, F1, F2, F3, F4 dan F5 akan dilakukan uji *nonparametric test* yaitu Uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Uji Kruskal-Wallis dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan ada tidaknya perbedaan yang bermakna antara sediaan. Sedangkan apabila nilai dari uji Kruskal-Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan maka akan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk melihat nilai signifikansi antara gel

kontrol positif, F1, F2, F3, F4 dan F5. Uji selanjutnya adalah uji Kruskal-Wallis, hasil yang didapatkan pada uji Kruskal-Wallis dapat dilihat pada lampiran 12.

Dari data uji Kruskal-Wallis didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara semua sediaan (nilai signifikansi $<0,05$) maka dilakukan uji lanjut “Mann Whitney” untuk melihat perbedaan dari gel kontrol positif, F1, F2, F3, F4 dan F5. Hasil tersebut dapat dilihat pada lampiran 13. Dari hasil uji Mann Whitney dapat ditarik kesimpulan bahwa terjadi perbedaan yang nyata antara gel kontrol positif terhadap F1, F2, F3, F4 dan F5.

Data mengenai signifikansi uji Mann Whitney dapat dilihat pada tabel 14. Hasil dari signifikansi uji Mann Whitney adalah perbedaan yang tidak signifikan hanya terjadi antara formula 1 (kontrol negatif atau 0%) dengan formula 2 (2,5%). Uji statistika terakhir yang dilakukan adalah korelasi dan regresi antara formulasi sediaan F1, F2, F3, F4 dan F5. Tujuan dilakukannya uji korelasi adalah untuk mengetahui ada tidaknya keterkaitan pada sampel, dalam hal ini adalah keterkaitan antara peningkatan konsentrasi ekstrak terhadap penurunan jumlah koloni bakteri. Uji korelasi dilakukan menggunakan uji korelasi *pearson* karena pemilihan hipotesis korelatif didasarkan pada jenis data, kedua variabel yang diuji adalah variabel numerik. Data mengenai hasil korelasi dapat dilihat pada lampiran 15.

Dari data korelasi antara F1, F2, F3, F4 dan F5 didapatkan hasil bahwa terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel (formula dan penurunan). Kekuatan korelasi yang dihasilkan adalah sangat kuat (0,80 – 1,00) yaitu dengan nilai 0,982. Sedangkan arah korelasi yang dihasilkan adalah positif. Hal ini

menandakan bahwa semakin besar kadar ekstrak daun sirih merah, maka semakin besar pula penurunan jumlah koloni yang dihasilkan.

Uji regresi dilakukan untuk menguji pengaruh antara kenaikan konsentrasi ekstrak sirih merah terhadap penurunan jumlah koloni bakteri. Uji regresi yang dilakukan adalah uji regresi sederhana. Hal tersebut dikarenakan variabel yang diuji hanya 2 yaitu satu sebagai variabel dependen (tergantung) yaitu penurunan jumlah koloni dan satu variabel independen (bebas) yaitu formula. Hasil dari uji regresi dapat dilihat pada Lampiran 16.

Dari uji regresi diketahui bahwa nilai signifikansi yang didapatkan adalah 0,003. Hal tersebut menandakan bahwa adanya pengaruh antara peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah pada formula terhadap penurunan jumlah koloni bakteri. Setelah diketahui adanya pengaruh antara peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah pada formula terhadap penurunan jumlah koloni bakteri, besar pengaruhnya adalah 6,240, jadi persamaan regresinya adalah :

$$Y = 6,240X - 3.524 + e \quad (4)$$

Persamaan 4 menerangkan bahwa jika terjadi kenaikan 1 satuan pada konsentrasi ESM pada formula, maka jumlah penurunan angka kuman akan mengalami peningkatan sebesar 6,240. Sedangkan nilai *R square* yang dihasilkan adalah 0,964. Hal tersebut menandakan bahwa 96,4% penurunan jumlah koloni bakteri dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah pada formula. Dari persamaan 4 dapat digunakan untuk memprediksikan kadar untuk mencapai penurunan jumlah koloni bakteri sebanyak 100% ($Y = 100\%$) yaitu pada konsentrasi 16,69 atau 17%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Pada identifikasi senyawa dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan densitometri, ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*, Ruiz and Pav.) mengandung senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai *antiseptic agent*.
2. Pada penelitian didapatkan hasil bahwa adanya pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah terhadap karakteristik fisik, yaitu penurunan viskositas, penurunan pH, penurunan daya lekat, penurunan daya sebar.
3. Sediaan gel ekstrak sirih merah memiliki efektifitas dalam menurunkan jumlah koloni bakteri sampai dengan 85,62% pada konsentrasi 15%. Sedangkan untuk kontrol positif penurunan jumlah koloni bakteri adalah 99,14%. Nilai signifikansi antara kontrol positif dibandingkan dengan F1, F2, F3, F4 dan F5 adalah 0,05 atau kontrol positif lebih efektif dalam menurunkan jumlah koloni bakteri dibandingkan dengan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah.

B. Saran

1. Perlu dilakukannya optimasi tidak hanya pada basis yang digunakan tetapi juga untuk jumlah TEA pada setiap kenaikan konsentrasi untuk menghasilkan karakteristik gel yang baik.

2. Perlu dilakukan penelitian mengenai stabilitas gel seperti *swelling* dan sineresis.
3. Perlu dilakukannya menelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kecepatan dan lama pengadukan terhadap karakteristik dan stabilitas gel.
4. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar optimal dan kadar maksimal dari ESM untuk menurunkan jumlah koloni bakteri.
5. Perlu dilakukannya fraksinasi ekstrak terlebih dahulu agar sediaan gel memiliki nilai estetika yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad Mursyidi, 1990, "Analisis Metabolit Sekunder". PAU Ilmu Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta
- Anonim.2015. *WIKIPEDIA : Sirih Merah*. https://id.wikipedia.org/wiki/Sirih_merah. Diakses tanggal 22 Agustus 2015.
- Ansiah S.W. 2014. *Naskah Publikasi Skripsi : Formulasi Sediaan Gel Antiseptik Fraksi Polar Daun Kesum (Polygonum minus Huds)*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Ansel, H. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi Keempat*. Jakarta : UI Press.
- Arbianti, Kurniasih & Maharani. (2008). The Influence of Red sirih (*piper crocatum*) and Green Sirih (*Piper betle lynn*) leaf Extracts on the Neotrophil Count of Inflammed Oral Mucosa During Healing. *Journal of Archives of Orofacial Sciences*, 3(2), 56-78
- Astuti, Yuni tri. (2010). Efek Pemberian Per Oral Infusa daun sirih merah (*Piper cf. Fragile*, Benth.) dan Identifikasi golongan senyawa aktif. *Skripsi*. Farmasi FMIPA UI. Depok.
- Barry, B, W. 1983. *Dermatological Formulation*. New York : Marcel Dekker Inc
- Carter, S. J. 1975. *Dispensing for Pharmaceutical Students*. Twelfth Edition. London: Pitman Medical Publishing Co. Ltd. P. 214.
- DepKes. 1979. *Materia Medica Indonesia*. Ditjen POM. Jakarta : 63-70
- DepKes RI. 1994. *Farmakope Indonesia. Edisi Keempat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 7, 1036, 1039.
- Ditjen POM. (1985). *Formularium Kosmetika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 83-86, 195-197.
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Draelos, Z. D., dan Lauren A. Thaman. (2006). *Cosmetic Formulation of Skin Care Product*. New York: Taylor and Francis Group. Hal. 11.

- Dwidjoseputro. 1978. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Faturochman.(1990, 7 Agustus). Kualitas Manusia : Sumber Utama Pembangunan. *Yogya Post*. Diakses 12 Mei 2015, dari <http://fatur.staff.ugm.ac.id/file/KORAN%20-%20Kualitas%20Manusia%20Sumber%20Utama%20Pembangunan.pdf>
- Firmani, Ayu. (2010). Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) secara topikal Terhadap Penyembuhan luka pada tikus putih jantan diabetes. *Skripsi*. Farmasi FMIPA UI. Depok.
- Gandjar, I.G., & Abdul Rohman A, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Garg, A.,DeepikamA., Sanjay,G., & Anil,K.S. 2002. *Spreading of semisolid formulation*. USA : Pharmaceutical Technology
- Guenther, E. (1987). *Minyak Atsiri*. Jilid 1. Jakarta : UI Press.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung. Halaman 5; 234.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan berguna Indonesia II (Badan Litbang Kehutanan Jakarta, Penerjemah)*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya, 622-628
- Ida N., Noer S. F., 2012. Uji Stabilitas Fisik Gel Ekstral Lidah Buaya (Aloe vera), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 16 (2), 79-84
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A., 1996, *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)*, Edisi 16, 241-142, Jakarta: EGC, Penerbit Buku Kedokteran.
- Juliantina, F. (2010). Manfaat Sirih Merah (*Piper Crocatun*) sebagai agen antibakterial terhadap gram positif dan gram negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. Diakses pada tanggal 15 Mei 2015. <http://journal.uii.ac.id/index.php/JKKI/article/view/543/467>
- Kemenkes, 2014. *INFODATIN : Hari Mencuci tangan sedunia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Lay,W.B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*.Edisi I.Jakarta : PT.Raja Grafindo Persada
- Levin,J., Hiward, I, Maibach , 2001, *Human skin buffering capacity: An Overview*. New York : marcel Dekker. Inc

- Lieberman, A. H., Rieger, M. M., and Banker S. G., 1998, *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse System*, Volume 3, Second Edition, Revised and Expanded, 265-267, 272-273, Marcel Dekker, Inc., New York.
- Lowy.D.Franklin.(1998). *Staphylococcus aureus Infection.. The New England Journal of Medicine Vol 339 No.8:520-532.1998*. Diakses pada 14 Mei 2015. <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM1914>.
- Mardiana, L. 2004. *Pencegahan dan Pengobatan dengan Tanaman Obat*. Jakarta:Penebar Swadaya.
- Miranti, L. 2009. Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kencur (*Kaempferia galangan*) dengan Basis Salep larut Air terhadap Sifat Fisik Salep dan Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro (skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Mursyidi, 1990, "*Analysis Metabolid Sekunder*", PAU Ilmu Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta
- Niyogi, P., N. J. Raju, P. G. Reddy, dan B.G. Rao. 2012. Formulation and Evaluation of Antiinflammatory Activity of *Solanum Pubescens* Wild Extracts Gel on Albino Wistar Rats. *International Journal of Pharmacy*. 2(3): 484-490.
- Nurlaela, E., Nining S., dan A. Ikhsanudin. 2012. Optimasi Komposisi Tween 80 Dan Span 80 Sebagai Emulgator Dalam Repelan Minyak Atsiri Daun Sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti* Betina Pada Basis Vanishing Cream dengan Metode Simplex Lattice Design. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1): 41 – 54.
- Pelezar, M.J., and Chan, E.C.S. (1988). *Dasar-dasar Mikrobiology I*, Penerjemah : R.S. Hadioetomo, T Imas, S.S, Tjitrosomo. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Prahastiwi, R. 2014. Efek Ekstrak Daun Sirih Merah Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* ATCC 14745 dan *Shigella flexneri* ATCC 12022 serta Mekanisme Penghambatannya. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Sunan Kalijaga.
- Pramita F.Y. 2013. Naskah Publikasi Skripsi : *Formulasi Sediaan Antiseptik Metanol Daun Kesum (Polygonum minus Huds)*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Purnomo, M. 2001. *Isolasi Flavonoid dari Daun Beluntas (Pluchea indica Less) yang Mempunyai Aktivitas Antimikroba*. Universitas Airlangga.

- Rachmawati F, Triyana S. 2008. Perbandingan angka kuman pada cuci tangan dengan beberapa bahan sebagai standarisasi kerja Laboraturium Mikrobiologi. Logika <http://journal.uui.ac.id/index.php/Logika/article/view/179>. Diakses pada 15 februari 2016
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Retno., Dewi I. and Noorma R., 2004, *Pemanfaatan Sirih sebagai Sediaan Hand Gel Antiseptic* : I. Studi Formulasi, *Laporan Penelitian*, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, 191, Penerbit ITB, Bandung.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. and Quinn M., E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Lexi-Comp: American Pharmaceutical Association,
- Sudewo, B. (2008). *Basmi Penyakit Dengan Sirih Merah*. Jakarta : PT. Agromedia pustaka, 35-36
- Suryani A, Sailah I, Hambali E. 2000. *Teknologi Emulsi*. Bogor: Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Safitri & Rahma. (2008). Potency of *Piper crocatum* Decoction as an Antihyperglycemia in Rat Strain *Sprague dawley*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 45-48.
- Sari, R. dan Isadiartuti, D. 2006. *Studi Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih (Piper betle Linn.)*. *Jurnal Majalah Farmasi Indonesia*. 17(4). 163-169.
- Septiani, S., N. Wathoni, dan S. R. Mita. 2011. Formulasi Sediaan Masker Gel Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* Linn.). *Jurnal Unpad*. 1(1): 4-24
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Edisi terjemahan (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro), ITB press, Bandung, 3-18.
- Suratmo. (2010). Potensi Ekstrak Daun Sirih Merah Sebagai Antioksidan. *Skripsi*, Kimia FMIPA Universitas Brawijaya. Malang.

- Tjitrosoepomo, Gembong. (2005). *Taksonomi Tumbuhan obat-obatan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Trampuz, Andrew and Widmer, A.F. 2004, *Hand Hygiene : A frequently Missed Livesaving Opportunity During Patient Care*, Mayo Clinic Proceedings. <http://thenmj.com/archives/5/Surgical%20Hand%20antiseptis%5B1%5D.pdf> . Diakses pada 15 februari 2016.
- Wicaksono, *et al.* (2009). Antiproliferative Effect of the Methanol Extract of *Piper crocatum* Ruiz & Pav leaves on human breast (T47D) Cells In-vitro. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8 (4), 345-352
- Voigh, R. (1984). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soendani N. S. Yogyakarta : UGM Press.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Sirih Merah



**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
Telp. , 0274.649.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN

No. : BF/ 47/Ident/Det/II/2015

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Rizky Hidayaturahmah
NIM. 20120350025
Fakultas Farmasi UMY
Di Yogyakarta

Dengan Hormat,
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi sampel yang Saudara kirimkan ke Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No. Pendaftaran	Jenis	Suku
47	<i>Piper crocatum</i> Ruiz. & Pav.	Piperaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 12 Februari 2015

Ketua



Prof. Dr. Wahyono, SU., Apt.
NIP. 195007011977021001

Lampiran 2. Formula Optimasi Sediaan Gel ESM

Formula 1. Formula tanpa bahan aktif (ESM)

Bahan	Jumlah bahan yang digunakan		
Karbomer	0,5%	1%	1,5%
Gliserin	3%	3%	3%
	5%	5%	5%
	10%	10%	10%
TEA	0,5%	0,5%	0,5%
	1%	1%	1%
	1,5%	1,5%	1,5%
Methyl Paraben	0,18%	0,18%	0,18%
Propyl Paraben	0,02%	0,02%	0,02%
Etanol 70%	2 ml	2ml	2ml
Aquadest ad	100ml	100ml	100ml

Keterangan : Formula ini tidak digunakan karena ketika diterapkan pada formulasi gel ESM menghasilkan viskositas sediaan yang sangat encer bahkan pada kadar 2.5%.

Formula 2. Formula dengan kandungan ESM 15%

Bahan	Jumlah bahan yang digunakan		
Karbomer	0,5%	1%	1,5%
Gliserin	3%	3%	3%
	5%	5%	5%
	10%	10%	10%
TEA	1%	1%	1%
	1,5 %	1,5 %	1,5 %
	2%	2%	2%
	3%	3%	3%
	4%	4%	4%
<i>Methyl Paraben</i>	0,18%	0,18%	0,18%
<i>Propyl Paraben</i>	0,02%	0,02%	0,02%
Etanol 70%	2 ml	2ml	2ml
Aquadest ad	100ml	100ml	100ml

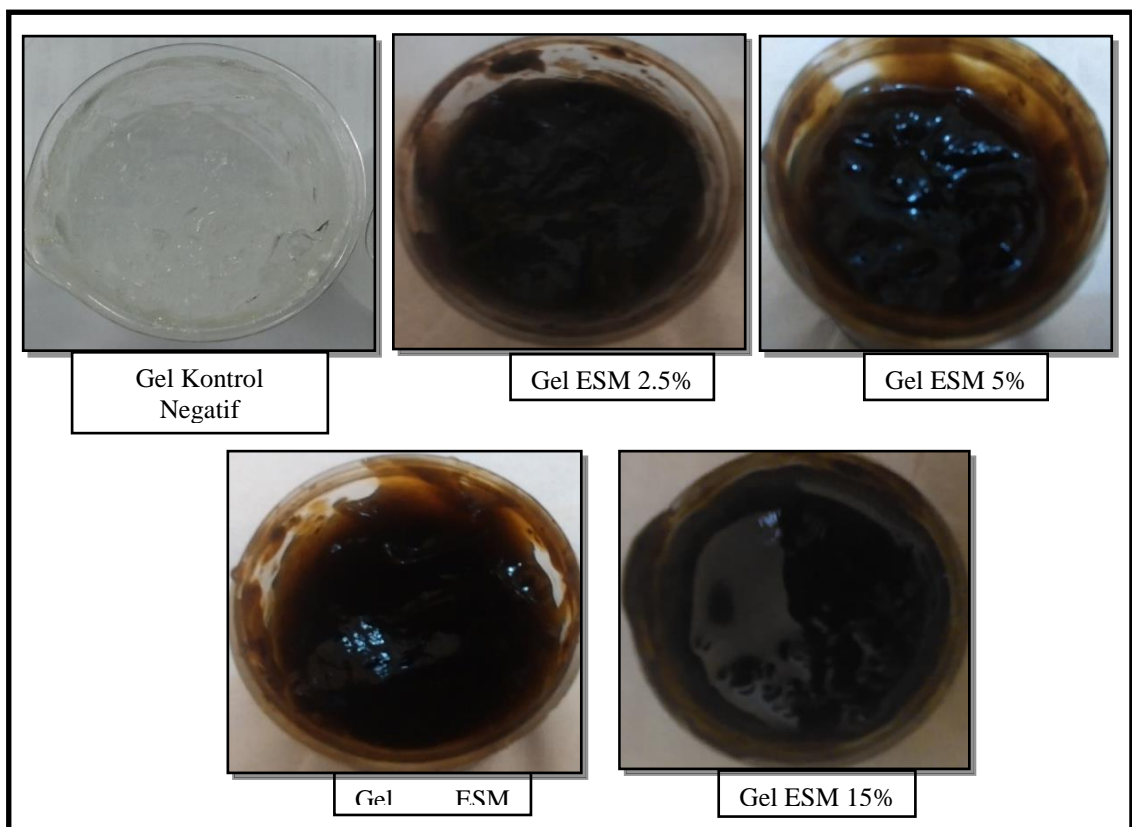
Keterangan : Formula ini tidak digunakan karena ketika diterapkan pada formulasi gel ESM kadar rendah menghasilkan bentuk sediaan yang sangat kental, susah dituang.

Formula 3. Formula dengan kandungan ESM 5%.

Bahan	Jumlah bahan yang digunakan		
Karbomer	0,5%	1%	1,5%
Gliserin	3%	3%	3%
	5%	5%	5%
TEA	1%	1%	1%
	1,5 %	1,5 %	1,5 %
	2%	2%	2%
	3%	3%	3%
	4%	4%	4%
Methyl Paraben	0,18%	0,18%	0,18%
Propyl Paraben	0,02%	0,02%	0,02%
Etahol 70%	2 ml	2ml	2ml
Aquadest ad	100ml	100ml	100ml

Keterangan : Formula yang digunakan.

Lampiran 3. Organoleptik gel



Lampiran 4. Daya Lekat

Hari ke-1

Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0.87	0.64	0,36	0.35	0.34
2	0.72	0.91	0,63	0.51	0.17
3	0.94	0.89	0.62	0.23	0.29
Rata-Rata	0.843	0.813	0.536	0.363	0.266
SD	0.11	0.15	0.15	0.14	0.087
Rata-Rata±SD	0.84±0.11	0.81±0.15	0.54±0.15	0.36±0.0.14	0.27±0.09

Hari ke-3

Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0.92	0,71	0.60	0.27	0.26
2	0.78	0.95	0.32	0.48	0.24
3	0.83	0.76	0.54	0.41	0.17
Rata-Rata	0.843	0.806	0.486	0.386	0.223
SD	0.07	0.13	0.15	0.11	0.05
Rata-Rata±SD	0.84±0.07	0.81±0.13	0.49±0.15	0.39±0.11	0.22±0.05

Hari ke-7

Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0.74	0.87	0.54	0.35	0.20
2	0.82	0.68	0.56	0.21	0.16
3	0.89	0.81	0.44	0.48	0.32
Rata-Rata	0.816	0.786	0.513	0.346	0.226
SD	0.08	0.10	0.06	0.13	0.08
Rata-Rata±SD	0.82±0.08	0.79±0.10	0.51±0.	0.35±0.13	0.23±0.08

inggu ke-2

Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0.75	0.86	0.34	0.33	0.31
2	0.96	0.78	0.69	0.37	0.14
3	0.71	0.76	0.49	0.21	0.20
Rata-Rata	0.806	0.80	0.506	0.303	0.216
SD	0,13	0.05	0.18	0.08	0.09
Rata-Rata±SD	0.81±0.0,13	0.80±0.05	0.51±0.18	0.30±0.08	0.22±0.09

Minggu ke-3

Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0.91	0.66	0,32	0.50	0.13
2	0.78	0.89	0,50	0.27	0.28
3	0.68	0.86	0.58	0.23	0.15
Rata-Rata	0.79	0.803	0.466	0.333	0.186
SD	0.12	0.13	0.13	0.15	0.08
Rata-Rata±SD	0.79±0.12	0.80±0.13	0.47±0.13	0.33±0.15	0.19±0.08

Minggu ke-4

Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0.81	0.96	0.45	0.26	0.34
2	0.93	0.62	0.27	0.41	0.11
3	0.67	0.77	0.59	0.22	0.16
Rata-Rata	0.803	0.783	0.436	0.296	0.203
SD	0.13	0.17	0.16	0.10	0.12
Rata-Rata±SD	0.80±0.13	0.78±0.17	0.44±0.18	0.30±0.10	0.20±0.12

Minggu ke-5

Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0.63	0.91	0.28	0.32	0.24
2	0.79	0.68	0.52	0.25	0.12
3	0.98	0.79	0.39	0.27	0.16
Rata-Rata	0.80	0.793	0.396	0.28	0.173
SD	0.18	0.12	0.12	0.04	0.06
Rata-Rata±SD	0.80±0.18	0.79±0.12	0.40±0.12	0.28±0.04	0.17±0.06

Minggu ke-6

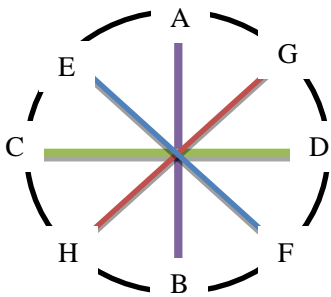
Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0,70	0.75	0.32	0.41	0.17
2	0.97	0.67	0.54	0.16	0.13
3	0.68	0.85	0.26	0.18	0.10
Rata-Rata	0.783	0.756	0.373	0.25	0.133
SD	0.16	0.09	0.15	0.14	0.04
Rata-Rata±SD	0.78±0.16	0.76±0.09	0.37±0.15	0.25±0.14	0.13±0.04

Minggu ke-7

Replikasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	0.64	0.87	0.42	0.14	0.19
2	0.80	0.63	0.46	0.22	0.12
3	0.94	0.77	0.31	0.38	0.15
Rata-Rata	0.793	0.756	0.396	0.246	0.153
SD	0.15	0.12	0.08	0.12	0.04
Rata-Rata±SD	0.79±0.15	0.76±0.12	0.39±0.08	0.25±0.12	0.15±0.04

Lampiran 5. Daya Sebar

Penentuan diameter lingkaran daya sebar :



$$Diameter = \frac{AB + CD + EF + GH}{4}$$

Formula 1

Beban Gram	Diameter (cm)			Rata-Rata (cm)	SD	Rata-Rata dan SD
	1	2	3			
0	1.3	1.4	1.3	1.33	0.05	1.33±0.05
Kaca (38,66)	1,7	1.9	1.6	1.73	0,15	1.73±0,15
50	1.8	2.0	1.7	1.83	0,15	1.83±0.15
100	1.8	2.1	1.8	1.90	0,17	1.91±0,17
150	1.8	2.1	1.8	1.90	0,17	1.91±0,17
200	1.8	2.1	1.8	1.90	0,17	1.91±0,17
250	1.8	2.1	1.8	1.90	0,17	1.91±0,17
300	1.8	2.1	1.8	1.90	0,17	1.91±0,17
500	1.8	2.2	1.8	1.93	0.23	1.91±0,23
Rata-Rata Daya Sebar				1.82 ±0,19		

Formula 2

Beban Gram	Diameter (cm)			Rata-Rata (cm)	SD	Rata-Rata dan SD
	1	2	3			
0	1.7	1.6	1.4	1.57	0.15	1.57±0.15
Kaca (38,66)	2.0	2,0	1,9	1.96	0.06	1.96±0.06
50	2.2	2.1	2,2	2.17	0.06	2.17±0.06
100	2.2	2.2	2.3	2.23	0.06	2.23±0.06
150	2.2	2.2	2.3	2.23	0.06	2.23±0.06
200	2.2	2.2	2.3	2.23	0.06	2.23±0.06
250	2.2	2.2	2.3	2.23	0.06	2.23±0.06
300	2.2	2.2	2.3	2.23	0.06	2.23±0.06
500	2.3	2.2	2.3	2.27	0.06	2.23±0.06
Rata-Rata Daya Sebar				2.12		

Formula 3

Beban Gram	Diameter (cm)			Rata-Rata (cm)	SD	Rata-Rata dan SD
	1	2	3			
0	1.8	1.6	1.6	1.64	0.12	1.64±0.12
Kaca (38,66)	2.2	2.1	1.9	2.07	0.15	2.07±0.15
50	2.5	2.2	2.2	2.30	0.17	2.30±0.17
100	2.5	2.2	2.2	2.30	0.17	2.30±0.17
150	2.5	2.2	2.2	2.30	0.17	2.30±0.17
200	2.5	2.2	2.2	2.30	0.17	2.30±0.17
250	2.5	2.2	2.2	2.30	0.17	2.30±0.17
300	2.5	2.2	2.2	2.30	0.17	2.30±0.17
500	2.5	2.2	2.2	2.30	0.17	2.30±0.17
Rata-Rata Daya Sebar				2.20		

Formula 4

Beban Gram	Diameter (cm)			Rata-Rata (cm)	SD	Rata-Rata dan SD
	1	2	3			
0	2.1	2.0	2.0	2.03	0.06	2.03±0.06
Kaca (38,66)	2.7	2.4	2.5	2.53	0.15	2.53±0.15
50	2.7	2.4	2.5	2.53	0.15	2.53±0.15
100	2.7	2.4	2.5	2.53	0.15	2.53±0.15
150	2.7	2.4	2.5	2.53	0.15	2.53±0.15
200	2.7	2.4	2.5	2.53	0.15	2.53±0.15
250	2.7	2.4	2.5	2.53	0.15	2.53±0.15
300	2.7	2.4	2.5	2.53	0.15	2.53±0.15
500	2.7	2.4	2.5	2.53	0.15	2.53±0.15
Rata-Rata Daya Sebar				2.47		

Formula 5

Beban Gram	Diameter (cm)			Rata-Rata (cm)	SD	Rata-Rata dan SD
	1	2	3			
0	2.6	2,3	2.1	2.33	0.25	2.33 ±0.25
Kaca (38,66)	3.0	2.8	2.5	2.77	0.25	2.77 ±0.25
50	3.0	2.8	2.5	2.77	0.25	2.77 ±0.25
100	3.0	2.8	2.5	2.77	0.25	2.77 ±0.25
150	3.0	2.8	2.5	2.77	0.25	2.77 ±0.25
200	3.0	2.8	2.5	2.77	0.25	2.77 ±0.25
250	3.0	2.8	2.5	2.77	0.25	2.77 ±0.25
300	3.0	2.8	2.5	2.77	0.25	2.77 ±0.25
500	3.0	2.8	2.5	2.77	0.25	2.77 ±0.25
Rata-Rata Daya Sebar				2.72		

Lampiran 6. Hasil Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih Merah

No	Karakteristik	Waktu	Formula				
			F1	F2	F3	F4	F5
1	Bau	Hari ke-1	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
		Hari ke-3	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
		Hari ke-7	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
		Minggu ke-2	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
		Minggu ke-3	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
		Minggu ke-4	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
		Minggu ke-5	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
		Minggu ke-6	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
		Minggu ke-7	Tidak ada	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
2	Warna	Hari ke-1	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat
		Hari ke-3	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat
		Hari ke-7	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat
		Minggu ke-2	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat
		Minggu ke-3	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat
		Minggu ke-4	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat
		Minggu ke-5	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat
		Minggu ke-6	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat
		Minggu ke-7	Jernih	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat	Hijau Pekat

Lampiran 7. Hasil Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih Merah (lanjutan)

No	Karakteristik	Waktu	Formula				
			F1	F2	F3	F4	F5
3	Homogenitas	Hari ke-1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
		Hari ke-3	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
		Hari ke-7	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
		Minggu ke-2	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
		Minggu ke-3	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
		Minggu ke-4	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
		Minggu ke-5	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
		Minggu ke-6	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
4	pH	Hari ke-1	7,24 ± 0,63	6,29 ± 0,98	5.97 ± 0,67	5.58 ± 0,85	5.17 ± 0,11
		Hari ke-3	7,19 ± 0,09	6.17 ± 0,01	5.89 ± 0,85	5.37 ± 0,14	5.15 ± 0,09
		Hari ke-7	7,15 ± 0,16	6.05 ± 0,21	5.86 ± 0,73	5.32 ± 0,51	5.11 ± 0,07
		Minggu ke-2	6,64 ± 0,85	5.97 ± 0,99	5.73 ± 0,72	5.29 ± 0,44	5.07 ± 0,26
		Minggu ke-3	6,60 ± 0,30	5.75 ± 0,41	5.67 ± 0,43	5.26 ± 0,40	5.09 ± 0,19
		Minggu ke-4	6,57 ± 0,59	5.71 ± 0,17	5.64 ± 0,57	5.19 ± 0,10	5.10 ± 0,64
		Minggu ke-5	6,43 ± 0,06	5.69 ± 0,36	5.59 ± 0,18	5.24 ± 0,79	5.08 ± 0,30
		Minggu ke-6	6,38 ± 0,51	5.64 ± 0,08	5.44 ± 0,04	5.19 ± 0,34	5.04 ± 0,06
Minggu ke-7	5,88 ± 0,10	5.68 ± 0,18	5.41 ± 0,63	5.12 ± 0,45	5.03 ± 0,03		

Keterangan :

F1 : Kadar Ekstrak 0%, F2: Kadar Ekstrak 2,5%, F3 : Kadar Ekstrak 5%, F4 : Kadar Ekstrak 10 % , F5 : kadar ekstrak 15%

Lampiran 8. Hasil Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih Merah (lanjutan)

No	Karakteristik	Waktu	Formula				
			F1	F2	F3	F4	F5
5	Viskositas (cPause)	Hari ke-1	2726±7.68	1897±17.12	780±19.44	498±13.26	147±8.63
		Hari ke-3	2714±3.19	1842±10.08	727±17.73	430±15,74	135±17.09
		Hari ke-7	2708±6.24	1803±5.26	705±12.97	407±13.59	134±11.99
		Minggu ke-2	2634±9.37	1753±13.29	631±11.03	407±34.19	97±42.47
		Minggu ke-3	2467±7.58	1517±9.51	583±18.19	302±7.30	89±37.86
		Minggu ke-4	2431±11.44	1399±19.17	526±16.88	284±26.42	78±14.99
		Minggu ke-5	2279±8.71	1325±9.36	518±20.64	221±31.17	80±9.76
		Minggu ke-6	2218±9.57	1247±6.87	451±12.01	186±17.11	67±27.27
		Minggu ke-7	2043±9.41	1128±12.22	409±8.59	182±9.19	65±12,43
6	Daya lekat (detik)	Hari ke-1	0,84 ±0.11	0,81±0.15	0,54±0,15	0,36±0.14	0,27±0.09
		Hari ke-3	0,84±0.07	0,81±0.13	0,49±0.15	0,39±0.11	0,22±0.05
		Hari ke-7	0,81±0.08	0,79 ±0.10	0,51±0.06	0,35±0.13	0,23±0.08
		Minggu ke-2	0,81 ±0.13	0,80 ±0.05	0,51±0.18	0,30±0.08	0,22±0.09
		Minggu ke-3	0,79 ±0.12	0,80±0.13	0,47±0.13	0,33±0.15	0,19±0.08
		Minggu ke-4	0,80 ±0.13	0,78 ±0.17	0,44±0.16	0,30±0.10	0,20±0.12
		Minggu ke-5	0,80±0.18	0,79 ±0.12	0,40±0.12	0,28±0.04	0,17±0.06
		Minggu ke-6	0,78±0.16	0,76 ±0.09	0,37±0.15	0,25±0.14	0,13±0.04
		Minggu ke-7	0,79 ±0.15	0,76± 0.12	0,39±0.08	0,25±0.12	0,15±0.04

Keterangan :

F1 : Kadar Ekstrak 0%, F2: Kadar Ekstrak 2,5%, F3 : Kadar Ekstrak 5%, F4 : Kadar Ekstrak 10 % , F5 : kadar ekstrak 15%

Lampiran 9. *Informed Concern*

**SURAT PERSETUJUAN
(*INFORMED CONSENT*)**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :

Umur :

Alamat :

Menyatakan bahwa:

1. Saya telah mendapat penjelasan segala sesuatu mengenai penelitian : “FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTISEPTIK GEL EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum.*, Ruiz and Pav.)”
2. Setelah saya memahami penjelasan tersebut, dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan dari siapapun bersedia ikut serta dalam penelitian ini dengan kondisi:
 - a) Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dijaga kerahasiaannya dan hanya dipergunakan untuk kepentingan ilmiah.
 - b) Apabila saya inginkan, saya boleh memutuskan untuk keluar/tidak berpartisipasi lagi dalam penelitian ini tanpa harus menyampaikan alasan apapun.

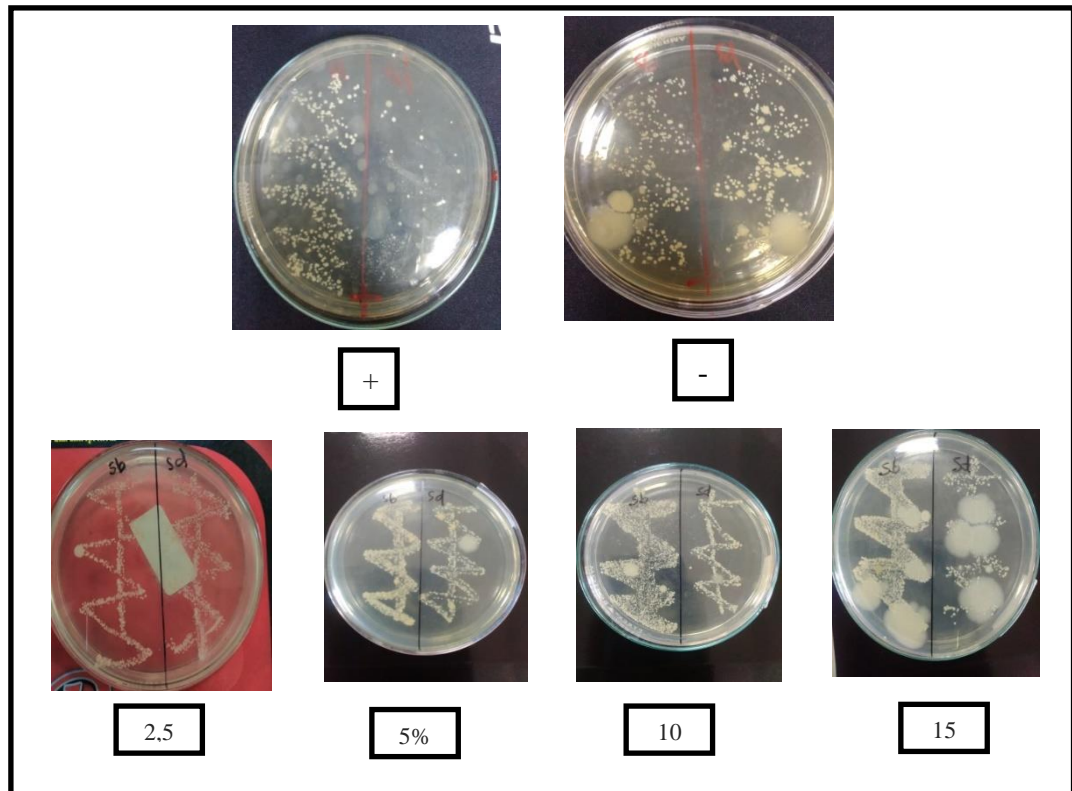
Saksi

Yogyakarta,
Yang membuat pernyataan

(.....)

(.....)

Lampiran 10. Hasil Uji Antiseptik



**Kontrol positif
(sebelum)**

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	674	672	2.65	672±2.65
	669			
	673			
2	495	491.33	4.04	491±4.04
	487			
	492			
3	580	584.7	4.51	585±4.51
	585			
	589			
Rata-Rata Jumlah Koloni				582±90.52

Catatan : untuk rata-rata dilakukan pembulatan keatas.

(sesudah)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	9	9.0	0.0	9.0±0.0
	9			
	9			
2	2	2.0	0.0	2.0±0.0
	2			
	2			
3	5	5.0	0.0	5.0±0.0
	5			
	5			
Rata-Rata Jumlah Koloni				5.0±3.51

Kontrol Negatif
(sebelum)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	554	557.66	22.7	558±22.7
	582			
	537			
2	486	490.66	13.6	491±13.6
	506			
	480			
3	687	688.66	22.8	699±22.8
	706			
	673			
Rata-Rata Jumlah Koloni				583±106.2

Catatan : untuk rata-rata dilakukan pembulatan keatas.

(sesudah)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	599	550.66	7.23	551±7.23
	547			
	546			
2	425	482.00	50.92	482±50.92
	523			
	498			
3	706	679.33	37.07	679±37.07
	637			
	695			
Rata-Rata Jumlah Koloni				571 ± 99.96

Gel ESM 2.5%
(sebelum)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	727	762.33	32.52	762±32.52
	791			
	769			
2	672	648.33	54.50	648±54.50
	586			
	687			
3	802	785.66	14.84	786±14.84
	773			
	782			
Rata-Rata Jumlah Koloni				732±73.73

Catatan : untuk rata-rata dilakukan pembulatan keatas.

(sesudah)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	778	749,00	27.22	749±27.22
	745			
	724			
2	639	623.66	15.50	624±15.50
	608			
	624			
3	784	761.00	20.22	761±20.22
	746			
	753			
Rata-Rata Jumlah Koloni				711 ± 75.87

Gel ESM 5%
(sebelum)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	728	702.33	22.67	702±22.67
	685			
	694			
2	713	697.66	23.18	698±23.18
	671			
	709			
3	656	620.33	40.05	620±40.05
	628			
	577			
Rata-Rata Jumlah Koloni				673 ±46.05

Catatan : untuk rata-rata dilakukan pembulatan keatas.

(sesudah)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	527	515,33	10.41	515±10.41
	507			
	512			
2	532	529.33	32.08	529±32.08
	496			
	560			
3	453	426.33	36.30	426±36.30
	441			
	385			
Rata-Rata Jumlah Koloni				490±55.87

Gel ESM 10%
(sebelum)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	1042	983.33	77.86	983±77.86
	895			
	1013			
2	973	994.00	24.56	994±24.56
	1021			
	988			
3	1037	1013.33	20.65	1013±20.65
	1004			
	999			
Rata-Rata Jumlah Koloni				997±15.18

Catatan : untuk rata-rata dilakukan pembulatan keatas.

(sesudah)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	266	259.33	18.90	259±18.90
	274			
	238			
2	271	286.00	19.47	286±19.47
	308			
	279			
3	426	408.33	37.74	408±37.74
	434			
	365			
Rata-Rata Jumlah Koloni				318±79.39

Gel ESM 15%
(sebelum)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	676	694.00	15.62	694±15.62
	702			
	704			
2	510	573.66	56.54	574±56.54
	593			
	618			
3	547	526.66	34.36	527±34.36
	487			
	546			
Rata-Rata Jumlah Koloni				598±86.12

Catatan : untuk rata-rata dilakukan pembulatan keatas.

(sesudah)

Replikasi ke-	Perhitungan jumlah koloni (3x)	Rata-Rata	SD	Rata-Rata±SD
1	79	74.66	4.04	75±4.04
	74			
	71			
2	68	61,66	5.69	62±5.69
	57			
	60			
3	109	121.66	12.06	122±12.06
	133			
	123			
Rata-Rata Jumlah Koloni				86±31.56

lampiran 11. Paired sample t test

Paired Samples Test (Kontrol positif)

		Paired Differences				T	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Sebelum – Sesudah	5.77333E2	75.29276	25.09759	519.45819	635.20847	23.004	8	.000

Paired Samples Test (F1)

		Paired Differences				T	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Sebelum – Sesudah	3.88889	40.51989	13.50663	-27.25745	35.03523	.288	8	.781

Paired Samples Test (F2)

		Paired Differences				T	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Sebelum - Sesudah	2.08889E1	35.79610	11.93203	-6.62643	48.40421	1.751	8	.118

Paired Samples Test (F3)

		Paired Differences				T	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Sebelum - Sesudah	1.83111E2	16.08916	5.36305	170.74389	195.47834	34.143	8	.000

Paired Samples Test (F4)

		Paired Differences				T	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Sebelum - Sesudah	6.79000E2	73.40300	24.46767	622.57746	735.42254	27.751	8	.000

Paired Samples Test (F5)

		Paired Differences				T	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Sebelum - Sesudah	5.12111E2	100.79366	33.59789	434.63425	589.58797	15.242	8	.000

Pengambilan keputusan *paired sample t test*

Hipotesis :

- * H_0 = Kedua rata-rata populasi adalah sama (rata-rata sebelum dan sesudah pemberian gel antiseptik adalah sama atau tidak berbeda secara nyata)
- * H_1 = Kedua rata-rata populasi adalah nggak sama (rata-rata sebelum dan sesudah pemberian gel antiseptik adalah nggak sama atau ada perubahan)

Berdasarkan nilai probabilitas

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

1. Paired Samples Test (Kontrol Positif)

Nilai probabilitas (sig. *two tailed*): 0,000

Hasil :

Berdasarkan nilai probabilitas

probabilitas $< 0,05$, **maka H_0 ditolak** atau jumlah koloni bakteri antara sesudah dan sebelum penggunaan gel antiseptik kontrol positif adalah tidak sama atau berbeda secara nyata atau gel antiseptik kontrol positif efektif dalam menurunkan jumlah koloni.

2. Paired Samples Test (F1 atau Kontrol negatif)

Nilai signifikansi (*two tailed*): 0.781

Hasil :

Berdasarkan nilai probabilitas

probabilitas $> 0,05$, **maka H_0 diterima** atau jumlah koloni bakteri antara sesudah dan sebelum penggunaan gel antiseptik kontrol negatif adalah sama atau tidak berbeda secara nyata atau gel antiseptik kontrol negatif tidak efektif menurunkan jumlah koloni.

3. Paired Samples Test (F2)

Nilai signifikansi (*two tailed*): 0,118

Hasil :

probabilitas $> 0,05$, **maka H_0 diterima** atau jumlah koloni bakteri antara sesudah dan sebelum penggunaan gel antiseptik F2 adalah sama atau tidak berbeda secara nyata atau gel antiseptik F2 tidak efektif menurunkan jumlah koloni.

4. Paired Samples Test (F3)

Nilai signifikansi (*two tailed*): 0,000

Hasil :

probabilitas $< 0,05$, **maka H_0 ditolak** atau jumlah koloni bakteri antara sesudah dan sebelum penggunaan gel antiseptik F3 adalah tidak sama atau berbeda secara nyata atau gel antiseptik F3 efektif dalam menurunkan jumlah koloni.

5. Paired Samples Test (F4)

Nilai signifikansi (*two tailed*): 0,000

Hasil :

probabilitas $< 0,05$, **maka H_0 ditolak** atau jumlah koloni bakteri antara sesudah dan sebelum penggunaan gel antiseptik F4 adalah tidak sama atau berbeda secara nyata atau gel antiseptik F4 efektif dalam menurunkan jumlah koloni.

6. Paired Samples Test (F5)

Nilai signifikansi (*two tailed*): 0,000

Hasil :

probabilitas $< 0,05$, **maka H_0 ditolak** atau jumlah koloni bakteri antara sesudah dan sebelum penggunaan gel antiseptik F5 adalah tidak sama atau berbeda secara nyata atau gel antiseptik F5 efektif dalam menurunkan jumlah koloni

Lampiran 12. Uji Kruskal- Wallis

Ranks

	Formula	N	Mean Rank
Penurunan	Kontrol positif	3	17.00
	F1	3	2.33
	F2	3	4.67
	F3	3	8.00
	F4	3	11.00
	F5	3	14.00
	Total	18	

Test Statistics^{a,b}

	Penurunan
Chi-Square	16.392
df	5
Asymp. Sig.	.006

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Formula

lampiran 13. Uji Mann-Whitney

Ranks

	Formula	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Penurunan	Kontrol positif	3	5.00	15.00
	F5	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Penurunan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

Ranks

	Formul a	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Penurunan	F1	3	2.00	6.00
	F5	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Penurunan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Formula

Ranks

	Formul a	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Penurunan	F2	3	2.00	6.00
	F5	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Penurunan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Formula

Ranks

	Formul a	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Penurunan	F3	3	2.00	6.00
	F5	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Penurunan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Formula

Ranks

	Formul a	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Penurunan	F4	3	2.00	6.00
	F5	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Penurunan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Formula

Lampiran 14. Signifikansi uji Mann Whitney

Formulasi	Formulasi	Sig.
Kontrol positif	F1 (0%)	0.000
	F2 (2,5%)	0.000
	F3 (5%)	0.000
	F4 (10%)	0.000
	F5 (15%)	0.050
F1 (0%)	Kontrol positif	0.000
	F2 (2,5%)	0.989
	F3 (5%)	0.000
	F4 (10%)	0.000
	F5 (15%)	0.050
F2 (2,5%)	Kontrol positif	0.000
	F1 (0%)	0.989
	F3 (5%)	0.000
	F4 (10%)	0.000
	F5 (15%)	0.050
F3 (5%)	Kontrol positif	0.000
	F1 (0%)	0.000
	F2 (2,5%)	0.000
	F4 (10%)	0.000
	F5 (15%)	0.050
F4 (10%)	Kontrol positif	0.000
	F1 (0%)	0.000
	F2 (2,5%)	0.000
	F3 (5%)	0.000
	F5 (15%)	0.050
F5 (15%)	Kontrol positif	0.050
	F1 (0%)	0.050
	F2 (2,5%)	0.050
	F3 (5%)	0.050
	F4 (15%)	0.050

Lampiran 15. Uji Korelasi

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Formula	6.5000	6.02080	5
Penurunan	37.0360	38.27408	5

Correlations

		Formula	Penurunan
Formula	Pearson Correlation	1	.982**
	Sig. (2-tailed)		.003
	N	5	5
Penurunan	Pearson Correlation	.982**	1
	Sig. (2-tailed)	.003	
	N	5	5

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 16. Uji Regresi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.982 ^a	.964	.951	8.43813

a. Predictors: (Constant), Formula

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	5646.014	1	5646.014	79.296	.003 ^a
	Residual	213.606	3	71.202		
	Total	5859.621	4			

a. Predictors: (Constant), Formula

b. Dependent Variable: Penurunan

Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	
	B	Std. Error	Beta			
1	(Constant)	-3.524	5.915		-.596	.593
	Formula	6.240	.701	.982	8.905	.003

a. Dependent Variable: Penurunan