

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Didapatkan serbuk simplisia seledri sebanyak 500 gram. Serbuk simplisia seledri diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Etanol digunakan sebagai pelarut dikarenakan dapat melarutkan senyawa polar dan mengendapkan protein dalam simplisia. Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan wadah tertutup rapat pada suhu kamar dan harus menggunakan bahan yang bersifat inert (Majidah, 2014). Proses maserasi dilakukan selama 3 hari kemudian dilanjutkan remaserasi 2 hari. Kemudian dilanjutkan proses penyaringan menggunakan kertas saring untuk memperoleh ekstrak cair. Setelah itu lanjutkan penguapan pelarut (evaporasi) menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath*. Evaporasi adalah proses perubahan molekul di dalam keadaan cair (contohnya air) dengan spontan menjadi gas (contohnya uap air). Evaporasi bertujuan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak hingga diperoleh ekstrak kental. Dari hasil ekstraksi didapatkan ekstrak kental sebanyak 15,35 gram dengan rendemen sebesar 3,07%.

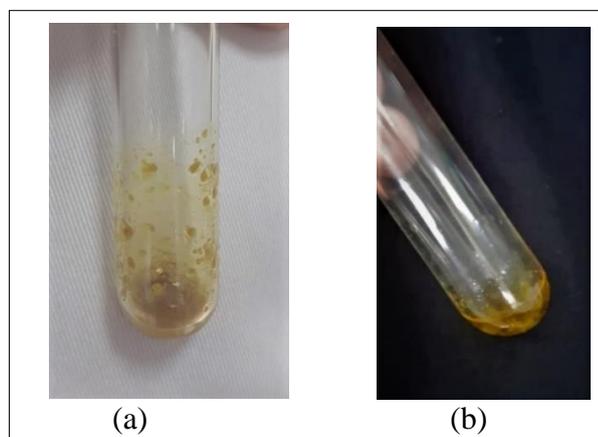
Sebelum uji skrining terlebih dahulu dilakukan proses determinasi di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA UAD. Hasil determinasi didapatkan bahwa sampel yang digunakan adalah seledri (*Apium graveolens L.*). Dengan hasil determinasi seperti yang tertera pada Lampiran 1.

Setelah itu dilanjutkan uji skrining fitokimia. Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan memakai pereaksi spesifik untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak

etanol seledri. Pemeriksaan meliputi senyawa tanin, alkaloid, saponin, flavonoid, glikosida, steroid dan terpenoid.

a. Uji Alkaloid

Hasil uji alkaloid ekstrak etanol seledri positif mengandung senyawa alkaloid. Hal ini ditunjukkan adanya endapan orange atau jingga (Dragendroff) dan adanya endapan putih (Mayer) seperti pada gambar 4. Dibawah ini.



Gambar 4. Hasil Uji Senyawa Alkaloid Ekstrak Etanol Seledri (A) Pereaksi Dragendroff (B) Pereaksi Mayer.

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan dua jenis pereaksi yaitu pereaksi dragendroff dan mayer. Pereaksi Dragendroff mengandung kalium iodida dan bismut nitrat dalam larutan asam asetat glasial (kalium tetraiodobismutat(III)). Hasil dari uji alkaloid ditandai adanya perubahan endapan orange atau jingga untuk pereaksi dragendroff dan pereaksi mayer adanya endapan putih. Terbentuknya endapan dikarenakan adanya penggantian ligan dimana atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada akaloid mengganti ion iodo dalam pereaksi (Sangi dkk, 2008).

b. Uji Tanin

Pengujian ekstrak etanol seledri positif mengandung senyawa tanin. Tanin merupakan senyawa kimia golongan polifenol (Deaville dkk, 2010). Uji tanin dilakukan dengan menggunakan larutan pereaksi FeCl_3 . Terbentuknya gugus fenol dalam tanin ditandai dengan adanya endapan biru-hitam dan endapan hitam kehijauan setelah penambahan FeCl_3 (Trease dan Evan, 1996).



Gambar 5. Hasil Uji Senyawa Tanin Ekstrak Etanol Seledri.

c. Uji Saponin

Hasil uji saponin ekstrak etanol seledri positif mengandung senyawa saponin. Hal ini ditunjukkan adanya busa yang muncul pada larutan seperti gambar 6. Dibawah



Gambar 6. Hasil Uji Senyawa Saponin Ekstrak Etanol Seledri.

Saponin merupakan senyawa yang memiliki sifat kimia yang menghasilkan busa (Robinson, 1995). Uji saponin ditandai dengan adanya terbentuk busa setinggi 1 cm sampai 10 cm kemudian busa yang terbentuk tidak hilang selama 1 menit setelah ditambahkan HCL 1 N. Senyawa yang polar dan nonpolar mempunyai sifat aktif dipermukaan sehingga dapat membentuk busa saat dikocok dengan air (Robinson, 1995)..

d. Uji Flavonoid

Hasil uji flavonoid ekstrak etanol seledri positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini ditunjukkan adanya terbentuk warna kuning yang dihasilkan setelah penambahan HCL pekat dan serbuk Mg seperti pada Gambar 7. Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan HCL pekat dan serbuk Mg. Hasil uji flavonoid ditandai dengan adanya perubahan warna yang dihasilkan menjadi merah, kuning atau jingga. Tujuan penambahan HCl dan Mg yaitu untuk mereduksi ini benzopiron dalam flavonoid sehingga terjadi perubahan warna (Robinson, 1995).

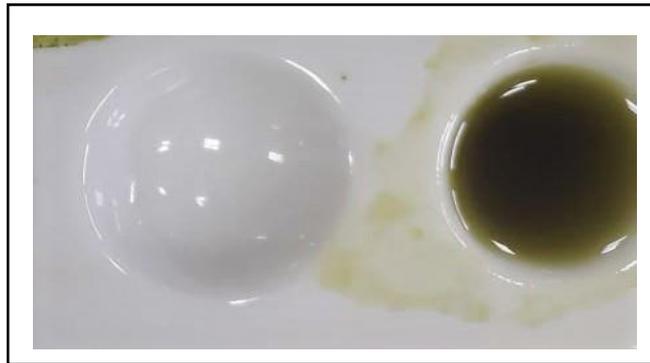


Gambar 7. Hasil Uji Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Seledri.

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dan terdapat pada semua bagian tumbuhan terutama pada bagian daunnya (Rahajo, 2013). Untuk mendapatkan ekstrak flavonoid digunakan pelarut yang cocok dan bersifat polar seperti methanol, etil asetat, etanol atau campuran dari pelarut yang bersifat polar (Rikje, 2005).

e. Uji Glikosida

Didapatkan hasil uji ekstrak etanol seledri positif mengandung senyawa glikosida. Adanya warna biru atau hijau maka menandakan adanya glikosida. Uji glikosida dilakukan dengan menggunakan pereaksi Liebermann Burchard (5 ml asam asetat anhidrat P dan 10 tetes asam sulfat pekat).



Gambar 8. Hasil Uji Senyawa Glikosida Ekstrak Etanol Seledri

f. Uji Steroid dan Terpenoid

hasil uji ekstrak etanol positif mengandung senyawa terpenoid sedangkan tidak mengandung senyawa steroid. Hasil uji senyawa steroid terjadi perubahan warna biru dan senyawa terpenoid terjadi warna merah (Sangi dkk, 2008). Ekstrak etanol seledri tidak mengandung steroid bisa disebabkan penggunaan karena pereaksi tidak reaktif atau dikarenakan ekstrak terlalu pekat sehingga tidak terlalu terlihat perubahan warna yang terjadi.



Gambar 9. Hasil Uji Senyawa Terpenoid Ekstrak Etanol Seledri

Dalam penelitian ini formula dirancang menjadi tiga, dimana ketiga formula ada perbedaan dalam zat aktif yaitu ekstrak etanol seledri, alkohol dan triklosan dengan perbandingan 1%:40%;1%, 2%:40%:0,5%, dan 4%:40%:0,25%. Pemilihan ekstrak etanol seledri sebagai zat aktif karena seledri merupakan tanaman herbal

yang mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin sebagai antibakteri dan turunan golongan fenol yang banyak digunakan sebagai bahan antiseptik tangan adalah triklosan. Carbopol 940 digunakan sebagai bahan tambahan yang digunakan sebagai *gelling agent*. Konsentrasi carbopol 940 yang digunakan adalah 0,5 gram. Pemilihan carbopol 940 dibandingkan *gelling agent* lainnya dikarenakan pada suasana asam maupun basa memiliki stabilitas pH yang baik.

Untuk menghasilkan gel yang bermutu baik dan sesuai dengan standar persyaratan gel. Gel harus melalui beberapa proses pengujian. Diantaranya adalah uji organoleptik, homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji viskositas.

a. Uji Organoleptik & Homogenitas

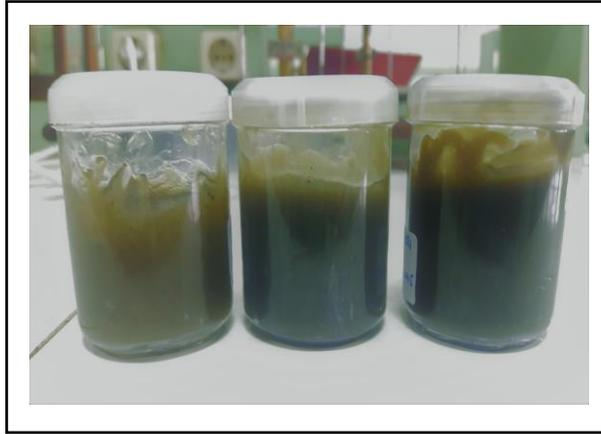
Hasil uji organoleptik & homogenitas gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak etanol seledri (*Apium graveolens L.*) dapat dilihat seperti Tabel 4.

Tabel 4, Hasil Uji Organoleptik dan Homogenitas

Formula	Uji Organoleptik		
	Aroma	Warna	Homogenitas
F1	Bau khas seledri	Hijau (bening)	Homogen
F2	Bau khas seledri	Hijau pekat (bening)	Homogen
F3	Bau khas seledri	Hijau pekat (bening)	Homogen

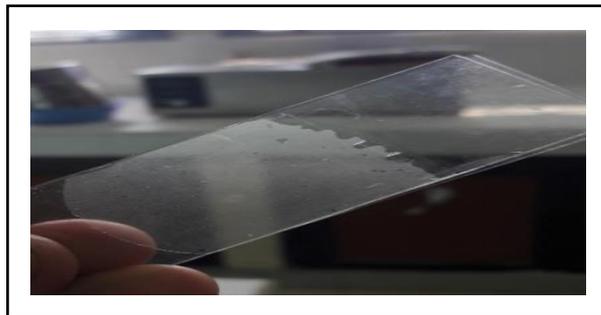
Dari uji organoleptik sediaan gel menghasilkan bau khas seledri dan warna yang dihasilkan hijau (bening)–hijau pekat (bening). Dari ketiga formula disimpulkan bahwa pada formula 1 menghasilkan gel handsanitizer yang bagus dibandingkan dengan formula 2 dan 3. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka warna dari sediaan yang dihasilkan

semakin pekat dan adanya faktor yaitu reaksi *browning* atau pencoklatan (Ninik dkk, 2007).



Gambar 10. Gel *Hand Sanitizer* Kombinasi Ekstrak Seledri (*Apium graveolens L*) dengan Alkohol & Triklosan

Hasil uji homogenitas ditandai dengan sediaan gel yang dioleskan pada plat kaca tidak terlihatnya adanya butiran kasar (Ditjen POM, 1985).



Gambar 11. Hasil Uji Homogenitas Sediaan Gel *Hand Sanitizer*.

b. Uji pH

Hasil evaluasi uji pH gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak etanol seledri (*Apium graveolens L.*) dengan alkohol & triklosan memenuhi kriteria pH sediaan gel. Berikut hasil uji pH yang dilakukan seperti Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Uji pH

Formula	pH
F1	5,8
F2	5,4
F3	5,7

Uji pH dilakukan menggunakan pH meter *indicator stick*. Syarat dan kriteria yaitu sediaan topikal antara 4,5-7 yang merupakan pH kulit (Lukman, Susanti, & Oktaviana, 2013). Dalam sediaan topikal, karaktel gel dipengaruhi oleh pH yang tinggi yaitu pH harus berada pada pH yang sedikit asam agar tidak menimbulkan iritasi pada kulit (Ali dan Yosipovitch, 2013). Dalam penggunaannya carbopol 940 dibutuhkan sekitar 0,5%-2% memiliki keasaman yang tinggi sehingga pH harus dinaikkan menjadi basa karena pH carbopol 940 yang rendah (Rowe dkk, 2009). Salah satu cara untuk meningkatkan pH sediaan yaitu dengan menambahkan TEA agar sediaan gel memiliki pH sesuai dengan karakteristik pH kulit (Tranggono dan Latifah, 2007). Dari tabel diatas dapat disimpulkan bahwa ketiga formula gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak etanol seledri dengan alkohol dan triklosan memenuhi syarat dan karakteristik pH kulit yaitu $\text{pH} \pm 5,6$.

c. Uji Daya Sebar

Berikut adalah hasil evaluasi daya sebar gel *hand sanitizer* ekstrak etanol seledri (*Apium graveolens L.*) dengan alkohol & triklosan.

Tabel 6. Hasil Pengukuran Daya Sebar Gel *Hand Sanitizer*.

Formula	Daya sebar $\bar{X} \pm SD$ (cm)
F1	4,66 \pm 0,26
F2	4,74 \pm 0,07
F3	4,64 \pm 0,28

Perlu diketahui nilai daya sebar berbanding terbalik dengan nilai viskositas (Garg dkk, 2002). Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui sebaran yang dihasilkan sediaan jika diaplikasikan ke kulit. Uji daya sebar berfungsi untuk memudahkan penyebaran zat aktif keseluruh permukaan kulit secara merata dan meningkatkan keefektifan zat aktif dari sediaan tersebut. Pengukuran daya sebar dilakukan dengan sediaan gel diletakkan diatas kaca bulat dengan alas milimeter blok dan diberi tekanan menggunakan beban 50-500 gram dengan interval waktu 1 menit. Sediaan gel yang bagus memiliki daya sebar anatar 5 hingga 7 cm (Garg dkk, 2002).

Dari tabel diatas dapat disimpulkan bahwa daya sebar \pm 4,68 cm dari ketiga formula gel tidak memenuhi kriteria standar daya sebar gel. Hal ini bisa dikarenakan oleh penggunaan *gelling agent* yang tinggi sehingga menyebabkan nilai daya sebar menjadi rendah.

d. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat sediaan dilakukan untuk mengetahui sediaan gel mampu melekat pada permukaan kulit pada saat diaplikasikan ke kulit. Menurut Lieberman dkk, (1996) nilai standar untuk daya lekat ($>$ 1 detik)

diketahui bahwa formula 1 sampai 3 memenuhi kriteria dan dapat dilihat pada tabel dibawah.

Tabel 7. Hasil Pengukuran Daya Lekat Gel *Hand Sanitizer*.

Formula	Daya Lekat (s)
F1	1,3
F2	1,58
F3	1,14

e. Uji Viskositas

Pengukuran uji viskositas gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak etanol seledri (*Apium graveolens L.*) menggunakan viskometer Rheosys Merlin VR II memenuhi sifat alir gel dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 8. Hasil Pengukuran Viskositas Gel.

Formula	Viskositas (Pa.s) $\bar{X} \pm SD$
F1	5,5 ± 0,18
F2	2,7 ± 0,08
F3	3,1 ± 0,19

Uji viskositas bertujuan agar mengetahui kekentalan atau sifat alir sediaan gel yang dihasilkan. Semakin tinggi viskositas suatu sediaan maka semakin tinggi ketahannya (Mitsui, 1993). Pengukuran viskositas dalam penelitian ini menggunakan viskometer Rheosys merlin VR II menggunakan spindel paralel 25 mm 10 poin pada kecepatan putar 0,1 hingga 100 RPM dengan waktu jeda 30 detik dan waktu integrasi 0,2 detik.

Uji viskositas pada kecepatan 11,2 RPM didapatkan hasil bahwa gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak etanol seledri (*Apium graveolens L.*) dengan alkohol & triklosan mengikuti sampel sifat alir non-Newtonian dan viskositas sebesar $\pm 3,8$ Pa.s. Hal ini ditunjukkan oleh adanya kenaikan *shear rate* dan penurunan nilai viskositas. Nilai viskositas memiliki hubungan terbalik dengan daya sebar, sehingga semakin tinggi nilai viskositas sampel, maka semakin kecil daya sebar yang dihasilkan (Setyaningrum, 2013).

Nilai viskositas sediaan gel dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu pH, carbopol, pH ekstrak dan jumlah triethanolamine yang digunakan. Pada pembuatan gel *hand sanitizer* dengan menggunakan konsentrasi basis gel yang tinggi dapat meningkatkan viskositas gel, sehingga semakin tinggi konsentrasi basis gel yang digunakan maka akan semakin tinggi viskositas yang dihasilkan. Pada formula 2 dibandingkan dengan kedua formula lainnya memiliki pH yang sedikit rendah atau asam sehingga dapat mengakibatkan penurunan viskositas gel (Harimurti, 2016). Selain itu waktu penyimpanan dan suhu juga dapat menurunkan viskositas. Hal tersebut disebabkan adanya peristiwa *syneresis* yang merupakan proses keluarnya cairan pada sediaan gel untuk menuju permukaan (Astuti, 2015).

Hasil uji efektivitas antibakteri gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak etanol seledri (*Apium graveolens L.*) dengan alkohol & triklosan

memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 9. Sebagai berikut :

9. Hasil Uji Daya Hambat Bakteri *Escherichia coli*

Formula	Zona Hambat (mm)			$\bar{X} \pm SD$
	R1	R2	R3	
F1	15,7	18,2	17,7	$17,2 \pm 1,3$
F2	14,7	17	15,4	$15,8 \pm 1,1$
F3	11,4	13,7	12,7	$13,3 \pm 1,0$
Kontrol (+)	7	7,2	7,4	$7,17 \pm 0,2$

Dari hasil pengukuran zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* pada Tabel 9. diatas dapat disimpulkan bahwa gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak etanol seledri (*Apium graveolens L.*) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat sebesar $\pm 15,43$ mm mengartikan bahwa memiliki aktivitas antibakteri yang besar. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah gel *hand sanitizer* (Dettol®) dengan kadar zat aktif alkohol 60% memiliki zona hambat sebesar $\pm 7,17$ mm.

Senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada seledri adalah saponin, tanin, dan flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenol terbesar yang terdapat pada tumbuhan. Senyawa flavonoid memiliki aktifitas antioksidan, antiinflamasi, antihepatotoksik, antitumor, antimikrobal, antiviral dan pengaruh terhadap sistem syaraf pusat (Sukandar dkk, 2006). Menurut Kusnadi dan Devi (2017) kandungan flavonoid pada ekstrak seledri sebagai berikut :

Tabel 10. Kadar Flavanoid Ekstrak Seledri.

Ekstrak (μ l)	Kadar (mg/100g ekstrak)
5	16,58
10	20,79
20	22,47
25	24,71

Menurut CDC kandungan alkohol pada *hand sanitizer* dengan kadar 60%-95% dapat dipakai sebagai bahan aktif antimikrobia suatu produk pembersih tangan. Mekanisme alkohol yaitu dengan mendanaturasi protein dinding sel bakteri dan bersifat bakterisidal terhadap virus, bakteri gram positif dan negatif, serta beberapa jamur. Namun alkohol bersifat sementara, bahkan menurut *guidline* WHO tangan yang dibersihkan menggunakan alkohol akan rentan terhadap flora *transient*, yaitu menyebar melalui kontak langsung. Untuk mengatasi hal tersebut biasanya alkohol dikombinasikan dengan antibakteri lain yang bersifat persisten (Triklosan). Triklosan memiliki aktivitas antibakteri yang bersifat bakteristatik terhadap gram positif maupun negatif namun pada kadar tertentu dapat bersifat bakterisida. Menurut FDA (*Food and Drug Administration*) kadar triklosan yang dianjurkan adalah 0,1% sampai 2%.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kristianingsih dkk, (2018) menunjukkan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol seledri terhadap bakteri *Escherichia coli* memiliki zona hambat sebesar \pm 12 mm pada konsentrasi ekstrak 20%. Pada penelitian Fitri (2010) tentang Kemampuan Daya Hambat Beberapa Macam Sabun Antiseptik Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa antiseptik

yang berbahan dasar *triclosan* & *triclocarban* mempunyai aktivitas antibakteri sebesar $\pm 15,6$ mm. Pada penelitian Ramadhan (2013) tentang Efek Antiseptik Berbagai Merk *Hand Sanitizer* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil bahwa gel *hand sanitizer* yang memiliki kandungan bahan aktif triklosan dengan kombinasi alkohol memiliki aktivitas antibakteri.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dan penelitian kali ini terdapat perbedaan hasil yaitu, data menunjukkan bahwa gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak seledri dengan alkohol & triklosan memiliki aktivitas antibakteri lebih besar daripada kontrol positif. Hal tersebut mungkin dikarenakan besar kadar kandungan flavonoid pada ekstrak etanol seledri yang dikombinasikan dengan alkohol serta triklosan pada ketiga formula sehingga dapat menambah besar zona hambat pada bakteri sedangkan pada kontrol positif hanya mengandung bahan aktif alkohol 60%. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa gel *hand sanitizer* kombinasi ekstrak etanol seledri (*Apium graveolens L.*) dengan alkohol & triklosan memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan zona hambat diatas gel *hand sanitizer* (Dettol®).

Data dianalisis menggunakan uji statistik *one way* ANOVA dan didapatkan nilai normalitas dengan $p > 0,05$ yang artinya data pada penelitian ini terdistribusi normal. Setelah itu dilanjutkan dengan test *one way* ANOVA dengan hasil $p < 0,05$ yang artinya paling tidak terdapat dua sampel yang mempunyai rerata zona hambat yang berbeda bermakna. Dari

hasil analisis data yang dilakukan menunjukkan bahwa ketiga formula dengan nilai $p > 0,05$ memiliki arti tidak terdapat perbedaan antar formula.