OPTIMASI HPMC DAN KARBOPOL DALAM FORMULASI SEDIAAN GEL ANTISEPTIK EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus*

(Optimization of HPMC and Carbopol in The Formulation of Antiseptic Gel Ethanol Extracts of Beluntas Leaves (*Pluchea Indica* L.) and Antibacterial Activity of *Staphylococcus Aureus*)

SKRIPSI

Oleh :

MUHAMMAD DIENULLOH QASYFUR ROHMAN
4161028

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020

OPTIMASI HPMC DAN KARBOPOL DALAM FORMULASI SEDIAAN GEL ANTISEPTIK EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus*

(Optimization of HPMC and Carbopol in The Formulation of Antiseptic Gel Ethanol Extracts of Beluntas Leaves (*Pluchea Indica* L.) and Antibacterial Activity of *Staphylococcus Aureus*)

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional di Surakarta

Oleh:
MUHAMMAD DIENULLOH QASYFUR ROHMAN
4161028

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020

PENGESAHAN SKRIPSI

OPTIMASI HPMC DAN KARBOPOL DALAM FORMULASI SEDIAAN GEL ANTISEPTIK EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus*

(Optimization of HPMC and Carbopol in The Formulation of Antiseptic Gel Ethanol Extracts of Beluntas Leaves (*Pluchea indica* L.) and Antibacterial Activity of *Staphylococcus aureus*)

Oleh:

MUHAMMAD DIENULLOH QASYFUR ROHMAN

4161028

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal : 18 Agustus 2020

Pembimbing Utama

apt. Iwan Setiawan, S.Farm., M.Sc.

Pembimbing Pendamping

Ardy Prian Nirwana, S.Pd. Bio., M.Si

Mengetahui,

Program Studi S1 Farmasi

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Ketua Program Studi

apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc.

Tim Penguji

Ketua: apt. Disa Andriani, S.Farm., M.Sc. .....

Anggota:

1. Aulia Nur Rahmawati, M.Si 1. .....
2. apt. Iwan Setiawan, S.Farm., M.Sc. 2. .....
3. Ardy Prian Nirwana, S.Pd. Bio., M.Si. 3. .....

MOTO

"Belajarlah Seakan Engkau Akan Hidup Selamanya
Namun Beribadahlah Seakan Esok Engkau
Telah Tiada"

(Penulis)

"Di Balik Kesuksesan mu Ada Doa Ibu Yang Selalu

Menyertai Setiap Langkah mu Karena Ridho Allah

Terletak Pada Ridho Orang Tua"

Dengan menyebut Nama Allah SWT

Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

"Barangsiapa bertakwa kepada Allah niscaya dia akan mengadakan baginya jalan keluar. Dan memberinya rezeki dari arah yang tidak disangka-sangkanya. Dan barangsiapa yang bertakwa kepada Allah niscaya Allah akan mencukupkan (keperluan)nya. Sesunguhnya Allah melaksanakan urusan yang (dikehendaki) Nya. Sesunguhnya Allah tetap mengadakan ketentuan bagi tiap-tiap sesuatu"

(Qs At Talaq :2 – 3)

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupanya"

(Al-Baqarah 286)

Karya ini saya persembahkan kepada

Bapak, Ibu, dan kakakku yang tersayang

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul :

OPTIMASI HPMC DAN KARBOPOL DALAM FORMULASI SEDIAAN GEL ANTISEPTIK EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh pengetahuan saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat tiruan atau duplikasi karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustka.

Surakarta, 18 Agustus 2020

Peneliti

METERAI TEMPEL

TGL. 20

618C2AHF575581513

6000

ENAM RIBU RUPIAH

Muhammad Dienulloh Qasyfur Rohman

NIM : 4161028

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul "Optimasi Formulasi Sediaan Gel Antiseptik Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica*, L.) Dan Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*" ini dapat terselesaikan dengan baik. Dalam penyusunan skripsi ini penulis telah mendapatkan bantuan, bimbingan, motivasi, dan pengalaman dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ketua Stikes Nasional Surakarta yang telah memberikan kesempatan untuk belajar dan telah memberikan fasilitas yang mendukung jalannya penelitian.
2. Ketua Prodi S1 Farmasi Stikes Nasional Surakarta yang selalu memberikan motivasi dalam menjalankan penelitian
3. apt. Iwan Setiawan S,Farm., M.Sc. Dosen pembimbing 1 yang tetap selalu memberikan motivasi dan jalan keluar dari permasalahan yang ada selama penelitian
4. Ardy Prian Nirwana S.Pd, Bio, M.Si Dosen pembimbing 2 yang telah memberikan ide-ide kreatif nya untuk saya dalam menyelesaikan skripsi ini dengan baik
5. apt. Disa Andriani S.Farm., M.Sc. Selaku dosen penguji 1 yang telah meluangkan waktunya untuk menjadi pembimbing dan selalu memberikan motivasi sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

6. Aulia Nur Rahmawati M.Si selaku dosen penguji 2 yang selalu memberikan kesempatan untuk saya dalam menggali lebih dalam lagi terkait penelitian yang saya lakukan dan selalu memberikan motivasi.
7. Terimakasih saya ucapkan untuk keluarga dan kakak saya yang selalu menemani dan memberikan support dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Terimakasih saya ucapkan untuk teman – teman seperjuangan yang telah memberikan semangat hingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik,

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga menerima masukkan kritik dan saran dari segala pihak untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat dan untuk kita semua.

Surakarta, 18 Agustus 2020
Peneliti

(Muhammad Dienulloh Qasyfur Rohman)

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL i

HALAMAN JUDUL.....ii

HALAMAN PENGESAHAN.....iii

MOTTO.....iv

PERSEMBAHAN v

HALAMAN PERNYATAAN vi

KATA PENGANTAR vii

DAFTAR ISI ix

DAFTAR GAMBAR xiv

DAFTAR TABEL xv

DAFTAR LAMPIRAN xvi

DAFTAR SINGKATAN xvii

INTISARI.....xviii

ABSTRACT.....xix

BAB I PENDAHULUAN 1

A. Latar Belakang Masalah 1

B. Perumusan Masalah 3

C. Tujuan Penelitian 3

D. Manfaat Penelitian.....4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....5

A. Gel 5

1. Dasar Basis Gel 5
2. Klasifikasi Basis Semi Solid.....6
B. Monografi Bahan.....7
1. HPMC 7
2. Karbopol 8
3. Trietanolamin (TEA) 9
4. Gliserin.....9
5. Na Metabisulfit 10
6. Aquades 10
C. Gel Antiseptik.....10
D. Tanaman Beluntas 11
1. Klasifikasi Daun Beluntas.....12
2. Manfaat tanaman Beluntas 12
3. Kandungan Daun Beluntas.....12
E. Ekstraksi Bahan Aktif.....13
1. Maserasi 13
F. *Staphylococcus aureus* 14
1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*.....14
2. Patogenitas 15
3. Metode Difusi.....16
G. *Simplex Lattice Design* 17
H. LandasanTeori 18
I. Hipotesis 18

J. Kerangka Konsep.....20

BAB III METODE PENELITIAN.....21

A. Desain Penelitian.....21

B. Alat.....21

C. Bahan.....21

1. Bakteri uji.....22

2. Bahan Uji Penelitian.....22.

3. Media Kultur.....22

D. Waktu dan Tempat.....22

E. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....22

F. Tahap Penelitian.....24

1. Sterilisasi Alat.....24

2. Determinasi Daun Beluntas.....25

3. Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid.....25

4. Pengolahan Sampel.....25

5. Ekstraksi Sampel.....26

6. Penentuan Formula Optimum.....27

7. Pembuatan Sediaan Gel.....28

8. Pembuatan Media MHA.....29

G. Kontrol Kualitas Sediaan.....29

H. Uji Stabilitas Sediaan *Hand Sanitizer*.....31

I. Verifikasi Formula Optimum.....31

J. Pengujian Aktivitas Antibakteri.....32

1. Pewarnaan Gram 32
2. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media MSA .33
3. Uji Katalase 33
4. Uji Koagulase 33
5. Persiapan Suspensi Bakteri 34
6. Persiapan Sumuran 34
7. Pengisian Sumuran Dengan Gel Ekstrak Daun Beluntas 34
8. Pengamatan Zona Hambat 35
J. Analisis Data 35
K. Jalannya Penelitian 36
L. Alur Penelitian 37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 38
A. Determinasi Tanaman Daun Beluntas 38
B. Pembuatan Ekstrak Daun Beluntas 38
C. Pembuatan Formulasi Sediaan Gel 41
D. Kontrol Kualitas Sediaan Gel Antiseptik Ekstrak Daun Beluntas 43
1. Uji Homogenitas 43
2. Uji pH 44
3. Uji Daya Sebar 46
4. Uji Viskositas 48
5. Uji Konsistensi 52
6. Penentuan Formula Optimum 52
7. Uji Stabilitas Sediaan Gel Antiseptik 54

8. Verifikasi Formula Optimum 56

E. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* 56

1. Pewarnaan Gram 56

2. Identifikasi Pada Media MSA 57

3. Uji Katalase 58

4. Uji Koagulase 59

5. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* 60

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN 66

DAFTAR PUSTAKA 67

LAMPIRAN 73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Daun Beluntas 11

Gambar 2. Kerangka Konsep 20

Gambar 3. Alur Penelitian 37

Gambar 4. Hasil Uji Kandungan Flavonoid Serbuk Daun Beluntas.....40

Gambar 5. Persamaan Reaksi Serbuk Magnesium, HCl 2N dan Amil Alkohol.40

Gambar 6. Reaksi Identifikasi Flavonoid.....41

Gambar 7. Hasil Uji Homogenitas Sediaan Gel Antiseptik.....43

Gambar 8. Hasil Uji pH Sediaan Gel Antiseptik 44

Gambar 9. *Design point* HPMC dan Karbopol Terhadap pH 45

Gambar 10. Hasil Uji Daya Sebar Sediaan Gel Antiseptik.....46

Gambar 11. *Design Point* HMPC dan Karbopol Terhadap Daya Sebar.....47

Gambar 12. Hasil Uji Viskositas Sediaan Gel Antiseptik 48

Gambar 13. *Design Point* HPMC dan Karbopol Terhadap Viskositas.....49

Gambar 14. Rute Penetrasi Obat Pada Kulit.....51

Gambar 15. Hasil Uji Konsistensi Sediaan Gel Antiseptik 52

Gambar 16. *Design Point* Formula Optimum.....53

Gambar 17. Hasil Pengecatan Gram Bakteri *S. aureus* 57

Gambar 18. Hasil Identifikasi Bakteri *S. aureus* Pada Media MSA.....58

Gambar 19. Hasil Uji Katalase Bakteri *S. aureus*.....59

Gambar 20. Hasil Uji Koagulase Bakteri *S. aureus*.....59

Gambar 21. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Gel Antiseptik.....62

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi Basis Semi Solid.....6

Tabel 2. Komposisi Standar Formula Gel.....27

Tabel 3. Formula Gel Antiseptik.....28

Tabel 4. Jalannya Penelitian.....36

Tabel 5. Hasil Pengujian pH Pada Uji Stabilitas Sediaan Gel Antiseptik 55

Tabel 6. Hasil Pengujian Daya Sebar dan Viskositas Pada Uji Stabilitas Gel ...55

Tabel 7. Perbandingan Hasil Prediksi Dengan Hasil Percobaan.....56

Tabel 8. Hasil UJi Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Antiseptik.....63

Tabel 9. Jarak Kepekaan Antibiotik Ciprofloxacin.....64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman daun beluntas.....74

Lampiran 2. Sertifikat Bahan 77

Lampiran 3. Hasil analisis statistik sediaan gel antiseptik.....78

Lampiran 4. Pengolahan Bahan 79

Lampiran 5. Formula sediaan gel antiseptik 80

Lampiran 6. pH gel 81

Lampiran 7. Viskositas Gel.....82

Lampiran 8. Daya Sebar Gel.....83

Lampiran 9. Uji Aktivitas Antibakteri 84

Lampiran 10. *Solution* formula optimum *Design expert* 11 85

Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak daun beluntas

(*Pluchea indica* L.) 86

Lampiran 12. Tabel uji kualitatif serbuk daun beluntas.....87

Lampiran 13. Perhitungan zona hambat gel antiseptik.....88

Lampiran 14. Pembuatan media.....89

Lampiran 15. Komposisi reagen 91

DAFTAR SINGKATAN

CLSI	*Clinical and Laboratory Standards Institute*
NA	Nutrien Agar
MHA	*Muller Himton Agar*
BHI	*Brain Heart Infusion*
CFU	*Colony Forming Unit*
dpa.S	*Decimal Fraction Of The Pascal*
SLD	*Simplex Lattice Design*

INTISARI

Daun Beluntas (*Pluchea indica*, L.) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai potensi sebagai antibakteri, dimana pada daun beluntas memiliki beberapa kandungan senyawa salah satunya yaitu senyawa flavonoid yang mempunyai aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui komposisi yang optimum dari basis HPMC dan Karbopol yang akan diformulasikan dalam sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas dengan menggunakan metode *simplex lattice design.* Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Pembuatan sediaan gel antiseptik dilakukan dengan mengoptimasi basis HPMC dan Karbopol, kemudian dilakukan pengujian kontrol kualitas sediaan gel dan didapatkan hasil yang memenuhi persyaratan pada homogenitas, pH, daya sebar, viskositas, konsistensi dan uji stabilitas sediaan gel. Formula optimum gel antiseptik berdasarkan metode *simplex lattice design* yaitu pada kombinasi basis HPMC 4,5% dan Karbopol 0,5%. Pengujian aktivitas antibakteri didapatkan zona hambat, hal ini menunjukkan bahwa sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas mempunyai kemampuan penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 17, 66 mm.

Kata kunci : Beluntas, *Pluchea indica*, gel antiseptik, HPMC, Karbopol, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Beluntas leaf (*Pluchea indica*, L.) is one of the plants that has potential as an antibacterial, Where the leaves of Beluntas have several compounds, one of these is a flavonoid which has antibacterial activity. The aim of this research is to determine the optimum composition of HPMC and carbopol which will be formulated in the preparation of antiseptic gel ethanol extract of beluntas leaf using the *simplex lattice design* method. The extraction method used in this study is maseration with ethanol as a solvent. Antiseptic gel manufacturing is done by optimizing the base of HPMC and Carbopol. Then testing the quality of the gel preparation and the results obtained that meet the requirements of the homogeneity, pH, dispersion, viscosity, consistency and stability test of the gel preparation. The optimum formula of antiseptic gel based on the simplex lattice design method is on a combination of a 4.5% HPMC base and a 0.5% carbopol. Antibacterial activity test found inhibition zone, this shows that the antiseptic gel preparation of the ethanol extract of beluntas leaves has the ability to inhibit against *Staphylococcus aureus* bacteria with an average diameter of the zone of inhibition by 17,66 mm.

Keywords : Beluntas, *Pluchea indica*, antiseptic gel, HPMC, Carbopol, *Staphylococcus aureus*

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Sediaan gel antiseptik merupakan suatu sediaan yang dapat membantu dalam menjaga tubuh dari kontaminasi oleh mikroorganisme, dimana manusia dalam kehidupan sehari-harinya baik itu yang dilakukan dengan sengaja maupun tidak disengaja diantaranya seperti menyentuh suatu permukaan benda. Hal ini secara tidak langsung akan lebih mudah menyebabkan terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme, salah satunya yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebakan infeksi pada kulit manusia (Manarisip dkk, 2019).

Antiseptik merupakan suatu zat yang telah banyak digunakan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroorganisme yang ada disekitar permukaan tubuh khususnya pada telapak tangan yang sering mengalami kontak dengan permukaan suatu benda. Selain itu, pada antiseptik mempunyai mekanisme kerja yaitu, merusak lemak yang ada didalam membran sel bakteri ataupun dengan cara menghambat salah satu kerja dari enzim yang ada pada bakteri, dimana enzim pada bakteri berfungsi untuk biosentesis asam lemak (Manarisip dkk, 2019).

Produk sediaan antiseptik yang banyak beredar di pasaran baik itu dalam bentuk gel ataupun produk pembersih tangan lainnya. Banyak yang menggandung alkohol sebagai zat aktifnya, menurut penelitian Rini (2018) alkohol pada kadar 60-70% mempunyai sifat yang lebih polar sehingga mempunyai daya hambat lebih besar pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Disamping itu, pada penggunaan

alkohol dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan iritasi pada kulit (Asngad, 2018).

Pada saat ini telah mulai dikembangkan penggunaan obat-obatan yang berasal dari bahan alam yang aman dan mempunyai efek samping yang tidak berbahaya, Salah satunya pada penggunaan daun beluntas (*Pluchea Indica* L.*)* sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rompas (2014) mengatakan bahwa ekstrak etanol daun beluntas mempunyai aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus, E.coli, Pseudomonas fluorecens*, dan *Salmonela typhi*.

Daun beluntas (*Pluchea Indica* L.*)* merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Asteraceae tanaman ini dapat tumbuh di daerah yang kering, tanah yang keras, dan tanah yang berbatu. Di Indonesia tanaman ini banyak digunakan sebagai tanaman pagar, selain itu, pada daun beluntas sering digunakan sebagai obat tradisional untuk menghilangkan bau badan, bau mulut, mengatasi nafsu makan yang kurang, mengatasi gangguan pencernaan pada anak, menghilangkan nyeri dada dan dapat berfungsi sebagai antimikroba (Halim, 2015).

Pada daun beluntas mempunyai senyawa fitokimia diantarannya terdiri dari senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, minyak atsiri, asam klorogenik, natrium, kalium, magnesium, dan fosfor. Kandungan senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis diantaranya sebagai anti inflamasi, antipiretik, hipoglikemik, diuretik dan aktivitas antibakteri (Widyawati dkk, 2013).

Sediaan gel dalam pembuatannya memerlukan suatu basis yang berguna untuk mendapatkan suatu gel yang homogen dengan konsistensi yang baik.

HPMC dan Karbopol merupakan basis yang sering digunakan dalam pembuatan sediaan gel. Salah satu metode optimasi yang sering digunakan untuk mendapatkan formula yang optimum adalah metode *Simplex Lattice Design* (Murdiyani, 2013). Oleh sebab itu, penggunaan metode *Simplex Lattice Design* dapat membantu dalam menentukan formula yang optimum pada sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan kombinasi *gelling agent* HPMC dan Karbopol

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik untuk mengetahui konsentrasi yang optimum pada *gelling agent* HPMC dan Karbopol yang akan diformulasikan dalam bentuk sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.).

B. Perumusan masalah

1. Berapakah komposisi HPMC dan Karbopol dalam sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea Indica* L.) yang mempunyai sifat fisik dan stabilitas yang optimum
2. Apakah formula optimum sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea Indica* L.) mempunyai kemampuan penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang setara dengan kontrol positif ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui komposisi HPMC dan Karbopol dalam sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang mempunyai sifat fisik dan stabilitas yang optimum.

2. Mengetahui formula optimum sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea Indica* L.) terhadap kemampuannya dalam melakukan penghambatan pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang setara dengan kontrol positif.

D. Manfaat penelitian

Pada penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan lebih mendalam lagi terkait penggunaan bahan herbal yang mempunyai potensi yang sangat besar dalam menunjang kesehatan. Selain itu, diharapkan sediaan gel antiseptik ini dapat membantu masyarakat dalam menjaga kesehatan khususnya untuk mencegah kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental membandingkan pengaruh variasi konsentrasi *gelling agent* HMPC dan Karbopol pada sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap stabilitas sediaan gel dan zona hambatnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode sumuran (*hot plate method*).

B. Alat

Bejana maserasi, *rotary evaporator* (*Heidolph*), cawan penguap, penangas air, oven (*Memmert*), spatula, batang pengaduk, stamper, mortir, Pipet mikro, pot gel, timbangan digital (*Ohaus tipe PA 2012*), *hot plate* (*SJ Analytics GmbH tipe D-55122 Mainz*), seperangkat alat gelas, aluminium foil, kain flannel, Labu ukur 1000ml, cawan petri, sarung tangan karet, Blender, ayakan mesh 30, sudip, viskometer Rion, pH meter (*Hanna*), autoklaf, inkubator (*Yenaco*), LAF (*Nuaire model NU-151-424*), kulkas (*Toshiba*), stopwatch, pembakar spiritus, jarum ose, pinset, krusibel, pipet, anak timbang 150g.

C. Bahan

Daun beluntas, aquades, spiritus, kapas, plastik tahan panas, larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%, HPMC, Karbopol, TEA, Gliserin, natrium metabisulfit, Amil alkohol,serbuk magnesium, asam klorida 2N, media MHA, MSA, BHI, antibiotik ciprofloxacin, bakteri *Staphylococcus aureus*.

1. Bakteri uji

Dalam penelitian ini : digunakan bakteri gram positif (+) *Staphylococcus aureus* yang didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

2. Bahan Uji Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan gel ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan berbagai variasi konsentrasi basis HPMC dan Karbopol, kemudian untuk kontrol positif yang digunakan pada penelitian adalah Antibiotik Ciprofloxacin. pembuatan ekstrak dilakukan di laboratorium obat tradisional Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

3. Media Kultur

Media kultur yang digunakan dalam penelitian yaitu NA miring ini digunakan untuk membiakan bakteri *Staphylococcus aureus,* Kemudian untuk pengujian zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* digunakan media *Muller Himton Agar* (MHA).

D. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Teknologi farmasi, laboratorium obat tradisional, dan laboratorium mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai April.

E. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

   a. Variabel bebas: konsentrasi basis HPMC dan Karbopol yang digunakan dalam formulasi.

b. Variabel tergantung: Sifat fisik sediaan gel meliputi (pH, daya sebar dan viskositas) zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aereus*.

c. Variabel pengacu terkendali: lama dan kecepatan pencampuran ketika pembuatan, kondisi penyimpanan gel, pemilihan media dan bahan.

d. Variabel pengacu tak terkendali: suhu dan kelembaban ruangan.

2. Definisi Operasional

a. Sediaan gel antiseptik merupakan sediaan gel antiseptik yang dibuat dari ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica L.)* dengan menggunakan kombinasi basis HPMC dan karbopol.

b. *Gelling agent* dalam penelitian ini digunakan *gelling agent* sebagai zat pembawa dalam sediaan gel antiseptik, dimana pada penelitian ini digunakan HPMC dan Karbopol sebagai *gelling agent*.

c. Humektan yang digunakan pada penelitian ini yaitu gliserin. Dimana humektan berfungsi sebagai pelembab dalam sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas.

d. Stabilitas optimum merupakan suatu formula yang dapat mempertahankan konsistensi setelah diberikan beberapa perlakuan pada suhu dingin dan panas.

e. Viskositas merupakan suatu pengujian yang digunakan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan gel antiseptik yang dibuat pada penelitian ini, pengujian dilakukan menggunakan alat viskometer Rion VT-04.

f. Daya sebar digunakan untuk mengetahui kemampuan sediaan gel antiseptik eksrak etanol daun beluntas untuk menyebar pada suatu permukaan.

g. *Simplex lattice design* merupakan metode yang digunakan untuk menentukan formula yang optimum dengan mennggunakan *software Design expert* 11 *(Trial).*

h. Diameter zona hambat digunakan untuk mengetahui aktivitas penghambatan gel ektrak etanol daun beluntas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.*

i. Formula optimum merupakan formula yang mempunyai nilai *desirability* yang mendekati 1,0 yang dianalisis menggunkan *software Design expert* 11 *(Trial).*

j. Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan antibiotik yang akan digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini.

k. Kontrol negatif pada penelitian yaitu menggunakan basis gel tanpa diberikan zat aktif.

L. Setara mengandung makna bahwa hasil pengujian yang didapatkan sama atau sebanding dengan kontrol positif yang digunakan.

F. Tahap Penelitian

1. Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dibungkus menggunkan kertas, setelah itu dimasukkan kedalam

autoclave pada suhu 121˚C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Tahap berikutnya dimasukkan kedalam oven untuk mempercepat pengeringan alat.

2. Determinasi daun beluntas

Determinasi daun beluntas (*Pluche indica* L.) menggunakan daun beluntas yang masih segar (tidak terkena hama) Diambil bagian daun yang dekat dengan ranting, Determinasi tanaman ini akan dilaksanakan di Universitas Muhammadiyah Surakarta.

3. Uji kualitatif senyawa flavonoid

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid pada ekstrak daun beluntas. Pengujian ini dilakukan dengan cara sejumlah kecil serbuk daun beluntas dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dicampur dengan serbuk magnesium dan asam klorida 2N, selanjutnya dipanaskan diatas penangas air, lalu disaring. Setelah itu, filtrat yang didapatkan ditambahkan amil alkohol, kemudian kocok dengan kuat, adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning hingga merah (Sulistyaningsih, 2009).

4. Pengolahan sampel

Sebanyak 500 gram sampel daun beluntas yang masih segar yang diperoleh dari kabupaten Sukoharjo, kecamatan Grogol, kelurahan Pondok, Provinsi Jawa Tengah, tahap pertama yang dilakukan yaitu pencucian terlebih dahulu setelah itu, dipisahkan dari tangkai batang dan akarnya. Selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa kotoran tanah yang masih menempel, pencucian dilakukan dibawah air yang mengalir, setelah dilakukan pencucian selanjutnya

dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan agar zat yang terkandung didalam simplisia tidak rusak oleh pemanasan pada sinar matahari secara langsung, kemudian setelah dilakukan proses pengeringan, daun beluntas diserbuk dengan cara ditumbuk dan diayak dengan menggunakan pengayak mesh 30 mesh hingga diperoleh serbuk daun kering. Bertujuan untuk menyamakan ukuran serbuk dan selanjutnya serbuk disimpan sebelum digunakan dalam pembuatan ekstrak.

5. Ekstraksi Sampel

Sebanyak 250 gram serbuk simplisia daun beluntas diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80% sebanyak 2,5 Liter, dimana pada penelitian ini dilakukan maserasi selama 5 hari menggunakan 75 bagian dari pelarut etanol 80% kemudian untuk remaserasi dilakukan selama 2 hari dengan menggunakan 25 bagian pelarut etanol 80%. Serbuk daun beluntas sebanyak 250 gram dimasukkan ke dalam bejana, kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 75 bagian atau sebesar 1,875 ml setelah itu, bejana ditutup menggunakan alumunium foil, didiamkan selama 5 hari sambil sesekali dilakukan pengadukan, setelah 5 hari lalu disaring dengan menggunakan kertas saring, kemudian dipisahkan antara ampas dan filtrat, ampas yang didapat di Remaserasi menggunakan 25 bagian pelarut yang dilakukan selama 2 hari sambil sesekali dilakukan pengadukan. Setelah 2 hari kemudian disaring dipisahkan antara ampas dan filtrat. Setelah itu, filtrat yang didapatkan setalah proses maserasi dan remaserasi dicampurkan, selanjutnya dievaporasi menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 60˚C bertujuan untuk

memisahkan campuran ekstrak dengan pelarutnya, setelah ekstrak dipisahkan dengan pelarutnya kemudian dipekatkan menggunakan *Water bath* pada suhu 60˚C sampai didapatkan ekstrak kental. Ektrak kental yang telah didapat disimpan dalam wadah yang tertutup sebelum digunakan untuk pengujian.

6. Penentuan Formula Optimum

Pada penelitian ini dilakukan optimasi dengan metode *simplex lattice design* menggunakan program *Design expert* 11 *(Trial).* Optimasi dilakukan dengan memasukkan komponen batas atas dan batas bawah dari basis gel HPMC dan Karbopol. Setelah itu, dari hasil optimasi formula tersebut didapatkan variasi komposisi HPMC dan Karbopol yang digunakan untuk pembuatan sediaan gel. Sediaan yang didapat dilakukan evaluasi sifat fisiknya meliputi Uji pH, daya sebar, viskositas, di olah dengan menggunakan *design expert* kemudian didapatkan formula yang optimum yang dapat dilihat melalui nilai *desirability*, dimana formula yang memiliki nilai *desirability* yang mendekati nilai 1,0 merupakan formula yang optimum. Nilai *desirability* merupakan suatu nilai yang akan menunjukkan kemampuan suatu program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan pada produk akhir (Tambunan dkk, 2018)

Tabel 2. Komposisi Standar Formula Gel

Komponen	Batas bawah	Batas atas
HPMC	3,50%	4,50%
Karbopol	0,50%	1,50%

7. Pembuatan Sediaan Gel

Basis gel (HPMC dan Karbopol) dikembangkan terlebih dahulu menggunakan aquades panas (Bagian pertama), Natrium metabisulfit dilarutkan terlebih dahulu dalam sebagian gliserin. Setelah itu, ditambahkan ekstrak daun beluntas dan TEA, Selanjutnya ditambahkan sisa gliserin dan di aduk hingga homogen (Bagian kedua). Selanjutnya dilakukan pencampuran antara campuran pertama dan campuran kedua, serta ditambahkan aquades hingga volume yang dikehendaki, kemudian diaduk hingga terbentuk massa gel yang homogen (Murdiyani, 2013).

Tabel 3. Formula gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas yang diperoleh dari metode SLD

Bahan	Komposisi (gram)							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
Ekstrak Daun Beluntas	1	1	1	1	1	1	1	1
HPMC	4	3,75	4,5	4	3,5	4,5	3,5	4,25
Karbopol	1	1,25	0,5	1	1,5	0,5	1,5	0,75
TEA	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Gliserin	5	5	5	5	5	5	5	5
Na Metabisulfit	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Aquades	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

8. Pembuatan Media BHI dan *Muller Himton Agar* (MHA)

Media yang digunankan telah tersedia dalam bentuk kemasan sehingga dalam pembuatannya hanya dengan cara melarutkan dalam aquades sesuai dengan yang diinstruksikan pada masing-masing kemasan. Banyaknya media yang digunakan untuk setiap liternya adalah sebagai berikut, media MHA sebanyak 38 gram dan BHI sebanyak 37 gram yang harus ditimbang untuk setiap liter pelarut, kemudian media yang dibuat pada penelitian ini sebanyak 20mL yaitu dengan melarutkan ± 0,76 gram dalam 20mL pelarut. Media yang telah dilarutkan kemudian disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121˚C selama 15 menit, kemudian dituangkan pada cawan petri dan didiamkan pada suhu kamar hingga memadat (Dina, 2012).

G. Kontrol kualitas sedian gel meliputi :

1. Uji homogenitas

Pada uji digunakan untuk mengetahui apakah sediaan dibuat benar-benar tercampur secara homogen terhadap bahan penyusunya. Cara pengujian sediaan ditimbang sebanyak 0,5-1g. setelah itu, diletakkan pada plat kaca dan ditindih menggunakan plat kaca lainnya. Kemudian amati apakah tekstur sediaan homogen, standar SNI 06-2588 pada uji homogenitas yaitu tidak boleh terdapat bulir maupun gumpalan saat sediaan ditindih dengan plat kaca ataupun saat diusap pada plat kaca (Ningsih dkk, 2019).

2. Uji pH

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui nilai pH sediaan. Peraturan pH pada sedian gel *hand sanitizer* menurut SNI No. 06-2588 yaitu berkisar antara pH 4,5-6,5. Cara pengujian pH diambil sebanyak 0,5 g sediaan kemudian dilarutkan kedalam 10 ml aquades, selajutnya dilakukan pengukuran pH dengan menggunakan pH meter (Ningsih dkk, 2019).

3. Uji daya sebar

Uji daya sebar digunakan untuk mengetahui kemampuan sediaan dalam menyebar pada suatu permukaan. Cara pengujian ambil sediaan sebanyak 0,5 g, setelah itu, letakkan pada plat kaca dan kemudian tindih menggunakan plat kaca lainnya selama 1 menit. Selanjutnya lakukan pengukuran diameter sediaan menggunakan jangka sorong sebanyak tiga sisi (vertikal, horizontal dan diagonal). Kemudian tahap berikutnya sediaan ditindih kembali dengan beban sebesar 150 g selama 1 menit. Amati hasil yang didapat dan lakukan pengukuran diameter, untuk nilai uji daya sebar menurut SNI 06-2588 sebesar 5,0-7,0 mm (Ningsih dkk, 2019).

4. Konsistensi

Uji konsistensi digunakan untuk mengetahui karakteristik sediaan terhadap pengaruh gaya sentrifugal pada konsistensi bentuk sediaan gel. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sejumlah sediaan gel kemudian ditempatkan pada tabung sentrifus. Setelah itu, sediaan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5-10 menit. Standar SNI 06-2588 bahwa sediaan gel harus mempunyai konsistensi bentuk yaitu semisolid (Ningsih dkk, 2019).

5. Uji Viskositas

Uji viskositas berfungsi untuk mengetahui kekentalan sediaan gel. Alat yang digunakan yaitu *Viscotester* seri VT 04, dilakukan cara gel dimasukkan dalam tabung pada *Viscotester*. Setelah itu, pasang rotor nomor 2 hingga spindel terendam seluruhnya dalam gel, kemudian lakukan pengamatan dengan cara mengamti gerakan jarum penunjuk viskositas hingga berhenti stabil. Sediaan gel jika terlalu kental akan menggangu kenyamanan ketika digunakan, dan sebalik nya jika sediaan gel terlalu encer maka akan berpengaruh pada daya tahannya pada kulit. Sehingga kemungkinan terjadinya kegagalan pemberian efek terapi cukup besar (Rodhiya, 2016). Pada penelitian Nurwaini dkk (2018) gel dikatakan baik apabila memiliki viskositas pada rentang 50-1000 dPa.s.

H. Uji stabilitas sediaan gel antiseptik

Pada formula yang optimum dilakukan pengujian stabilitas secara *freeze thaw* sebanyak 3 siklus, dimana pada setiap siklus nya sediaan ditempatkan pada suhu dingin dan suhu panas yaitu pada suhu 4˚C dan 40˚C. Cara pengujian nya formula yang optimum dimasukkan kedalam lemari pendingin dengan suhu 4˚C selama 24 jam, kemudian tahap berikutnya sediaan dikeluarkan dari lemari pendingin dan dilanjutkan ke fase *thaw*, pengujian ini dilakukan menggunakan oven pada suhu 40˚C selama 24 jam (1 siklus). Setiap berakhirnya 1 siklus dilakukan penggujian (homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji konsistensi dan uji viskositas) (Syaiful, 2016).

I. Verifikasi formula optimum

Verifikasi formula optimum dilakukan untuk membandingkan antara hasil prediksi dari *software design expert* dengan hasil pengujian sifat fisik yang dilakukan tanpa menggunakan *Software design expert* bertujuan mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara hasil pengujian sifat fisik yang dihasilkan

J. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica*)

1. Pewarnaan Gram

Pengamatan morfologi sel bakteri dilakukan dengan pewarnaan gram. Satu sampai dua tetes aquades steril diletakkan di atas objek glass, koloni bakteri di ambil 1-2 ohse dari media kultur yaitu *Nutrien Agar* kemudian diletakkan di atas aquades steril dan sebarkan hingga merata, biarkan olesan tersebut kering karena udara. Setelah olesan tersebut benar-benar kering kemuadian disterilkan diatas nyala api. Tahap berikutnya tetesi dengan Gram A Selama 2-5 menit.

Selanjutnya buang sisa cat tanpa dicuci, kemudian objek glass digenangi dengan Gram B selama 30-40 detik. Setelah itu, cuci pada air yang mengalir kemudian didecolarisasi dengan Gram C sampai luntur, tahap selanjutnya objek glass dicuci pada air yang mengalir, kemudian objek glass digenangi dengan Gram D selama 2 menit.

Setelah 2 menit buang sisa cat dan dicuci pada air yang mengalir. Setelah itu. kering anginkan terlebih dahulu sebelum dilakukan pengamatan mengunakan mikroskop dengan lensa obyektif 100x, sebelum dilakukan

pengamatan pada mikroskop objek glass terlebih dahulu ditetesi dengan minyak emersi sebanyak 1 tetes (Waluyo, 2010). Indikasi pewarnaannya yaitu bakteri gram positif akan berwarna violet dan bakteri gram negatif akan berwarna merah.

2. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada media MSA

Media yang digunakan dalam identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu menggunakan media *Manitol Salt Agar* yang dilakukan dengan cara menginokulasikan biakan bakteri *Staphylococcus aureus* kedalam media MSA secara *streak plate*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37˚C Selama 18-24 jam, adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ditandai dengan perubahan warna media dari kuning hingga merah (Toelle, 2014).

3. Uji katalase

Pada uji katalase dilakukan dengan mengambil hasil pengujian dari media MSA kemudian dilanjutkan dengan uji katalase, dimana Koloni yang berwarna kuning diambil dari media MSA dengan menggunakan ose yang selanjutnya dicampur dengan setetes H2O2 pada objek glass. Setelah itu dilakukan pengamatan Adanya bakteri *Staphylococcus aureus* ditandai dengan munculnya gelembung gas (Imam dkk, 2011).

4. Uji Koagulase

Uji koagulase dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus* maka dilakukan uji koagulase, ambil 2-3 ohse NaCl 0,9 % dan letakkan di atas objek glass yang telah disterilkan, diambil 2-3 ohse koloni kuman dari media NA miring menggunakan ohse dilakukan

secara aseptis dan campurkan ke atas objek glass yang telah terdapat 2-3 ohse NaCl 0,9 %. Kemudian ditambahkan 1 tetes Plasma citrat. setelah itu, campur dan homogenkan kemudian diamati perubahan yang terjadi. Hasil dikatakan positif jika terjadi aglutinasi. Pengujian koagulase pada bakteri *Stphylococcus aureus* akan menunjukkan hasil positif.

5. Persiapan suspensi bakteri

Biakan bakteri diambil sebanyak 1-2 ohse pada media kultur yaitu *Nutrien agar* kemudian disuspensikan pada Nacl 0,9%. Setelah itu, suspensi bakteri dibandingkan kekeruhannya dengan standar 0,5% McFarland atau sebanding dengan jumlah bakteri 10^5 (CFU)/ml. Setelah diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar McFarland, Selanjutnya suspensi bakteri dituangkan pada media MHA sebanyak 1 ml secara *pour plate*.

6. Persiapan sumuran

Pembuatan sumuran dilakukan pada media MHA yang telah diinokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus.* Pembuatan lubang pada media MHA menggunakan *cork borer* berdiameter 8 mm dengan jarak antara masing-masing lubang ± 26 mm.

7. Pengisian sumuran dengan gel antiseptik ekstrak daun beluntas.

Sumuran yang telah dibuat diisi dengan gel antiseptik ekstrak daun beluntas menggunakan formula gel yang optimum yang telah didapatkan melalui metode *simplex lattice design* dengan menggunakan *Software Design expert* 11 *(trial)* yang kemudian dibandingkan aktivitas zona hambatnya dengan kontrol positif yaitu Antibiotik ciprofloxacin setelah dilakukan

inkubasi selama 24 jam pada suhu 37˚C, pada penelitian ini dilakukan replikasi sebanyak 3x dengan mengunakan 3 cawan petri dimana masing-masing cawan petri berisi 3 sumuran. Pengisian sumuran menggunakan micro pipet sebanyak 50 µl pada setiap sumuran.

8. Pengamatan zona hambat

Pengamatan daerah hambat dilakukan dengan mengukur diameter daerah jernih (termasuk diameter lubang) disekitar daerah sumuran dengan menggunakan jangka sorong dapat dihitung mengunakan rumus berikut.

$$\frac{(DV - DS) + (DH - DS)}{2}$$

Keterangan :

DV : Diameter Vertikal

DH : Diameter Horizontal

DS : Diameter Sumuran (8 mm) (Toy dkk, 2017)

K. Analisis Data

Pada penelitian ini dilakukan optimasi sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan metode *Simplex lattice design* dan menggunakan *software Design expert* 11 *(Trial)* bertujuan untuk mendapatkan formula yang optimum, dimana formula yang optimum adalah formula yang memiliki nilai *desirability* mendekati nilai 1,0, dimana nilai tersebut akan menunjukan bahwa kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna, kemudian pada pengujian aktivitas antibakteri dari gel ekstrak etanol daun beluntas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

dianalisis data secara analisis statistik dengan uji *independent t-test* antara formula gel yang optimum yang akan dibandingkan terhadap kontrol positif (+) yaitu ciprofloxacin. Analisis statistik *independent t-test* digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara kedua kelompok sampel yang tidak berhubungan. Analisis ini digunakan untuk mengetahui efektivitas pemberian sediaan gel ekstrak daun beluntas terhadap zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.*

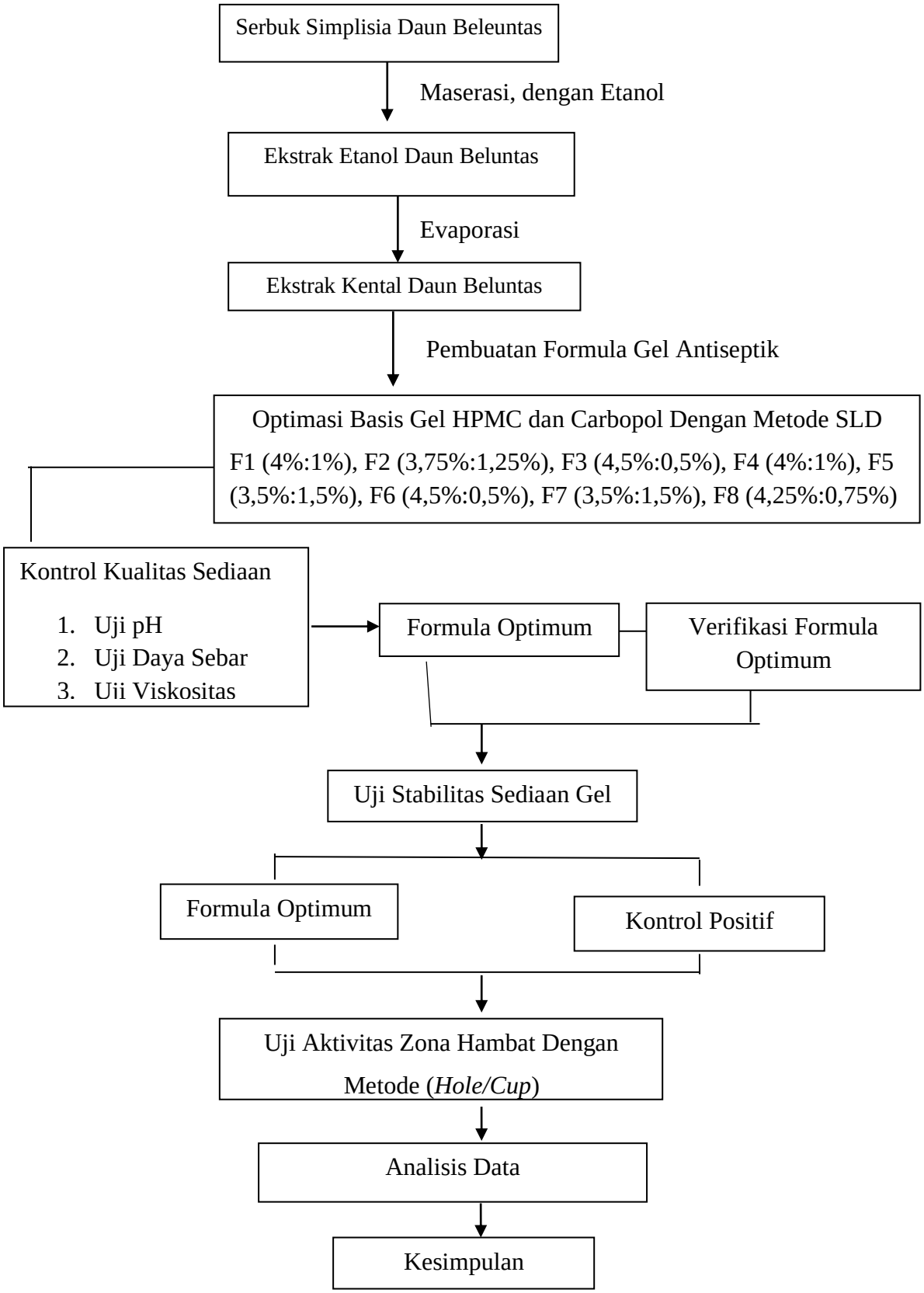
1. Bila $p < \alpha$ (0,05) maka hasil bermakna/signifikan, artinya terdapat hubungan bermakna antara variabel independen dan dependen, atau hipotesis penelitian diterima. Jika hasilnya bermakna, maka dilanjutkan dengan uji post hoc LSD.
2. Bila $p > \alpha$ (0,05) maka hal ini berarti dua sampel yang diteliti tidak mendukung adanya perbedaan yang bermakna dan tidak ada pengaruh variabel independen terhadap dependen, atau hipotesis penelitian ditolak.

L. Jalannya Penelitian

Tabel 4. Jalannya penelitian

No	Nama Kegiatan	Bulan			
		1	2	3	4
1	Determinasi Tanaman Daun Beluntas				
2	Pengolahan dan Ekstraksi Sampel				
3	Pembuatan Formula dan optimasi				
4	Pengujian Kontrol Kualitas Sediaan dan Uji Aktivitas Zona Hambat Terhadap Bakteri				

M. Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Pada komposisi HPMC dan Karbopol dengan konsentrasi (4,5%:0,5%) telah memenuhi persyaratan pada uji homogenitas, pH, daya sebar, viskositas, konsistensi dan uji stabilitas.
2. Pada formula optimum sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas didapatkan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat sebesar 17,6 mm lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif.

B. Saran

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka peneliti menyarankan perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terkait pengujian secara klinis terhadap sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun beluntas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan membuat fraksi dari ektrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) untuk lebih memurnikan senyawa target yang akan digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, A., 2010, *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta : Airlangga.

Allen, L, V., Nicholas, G, P., Ansel, H.C., 2011, *Ansel`s Pharmaceutical Dosage From and Drug Delivery System*, diterjemahkan oleh Lucia Hendriati, Kuncoro Foe, EGC, Jakarta, Hal 298.

Ardana, Mirhansyah., Aeyn, Vebry., Ibrahim A., 2015, Formulasi dan Optimasi Basis Gel HPMC (HYDROXY PROPYL METHYL CELLULOSE) Dengan Berbagai Variasi Konsentrasi. Vol 3. No 2.

Asngad, Aminah., R, Bagus, Aprilia., Novitasari., 2018, Kualitas Gel Pembersih Tangan (*Handsanitizer*) dari Ekstrak Batang Pisang dengan Penambahan Alkohol, Triloksan dan Gliserin yang Berbeda Dosisnya. Vol 4. No 2.

CLSI, 2019, *Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing*.

Candra Mohan E, Jagan Mohan K, Venkatesham A. Preparation and evaluation of in-situ-gels ocular drug delivery. J Pharm Res 2009; 2:1089-94.

Dewi, K.A., 2013, Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta, *Jurnal Sain Veteriner* 31:2. 140-141.

Djajadisastra, J., Mun'im, A. and NP, D., 2009, Formulasi Gel Topikal Dari Ekstrak Nerii Folium Dalam Sediaan Anti Jerawat, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4(4), 210-216.

Draganoiu, E., A Rajabi, S., S Tiwari, 2009, Handbook of Cosmetic Science and Technology, 110-113, Pharmaceutical Press, London.

Dwicahyani, T., Sumardianto., Rianingsih, L., 2018, Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Vol 7. No 1.

Farmakope, Indonesia, Edisi III, 1979, Dapartemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. Hal, 915, 916.

Ferianto, A., 2012, Pola Resistensi *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Mastitis pada sapi Perah di Wilayah Kerja KUD Argopuro Kruncil Probolinggo Terhadap Antimikroba *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.

Fauzan, Anwar H., 2019, Optimasi Campuran Asam Sitrat Dan Asam Tartrat Sebagai Sumber Asam Dalam Formulasi Tablet Efervesen Dari Ekstrak Daun Tin (*Ficus carica* L.) Dengan Metode *Simplex Lattice Design*. *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam , Universitas Islam Indonesia

Ginarana, A., 2019, Uji Aktivitas Formulasi Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringaoleifera*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung Bandar Lampung.

Goyal, PK and Anggrawal PR, 2013, A Review on Phytochemical and Biological Investigation of Plant Pluchea. *Indo Amerika Journal of Pharmaceutica Research.* 3(4): 3379-3381.

Harimurti S, Hidayaturahmah R, (2016), Pengaruh Variasi Konsentrasi Karbomer Sebagai Gelling Agent Terhadap Viskositas dan pH Sediaan Gel Antiseptik Ekstrak Etanolik Daun Sirih Merah. *FKIK*, 1(5), 1-8

Haryati, Dewi, S., Darmawati, S., Wilson W., 2017, Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dengan Metode Disk dan Sumuran.

Iman, E.R.S., Ratih, R., Hasutji, E.N., Suryanie., Wiwiek, T dan Sri, C. 2011. Buku
Ajar Mikrobiologi Veteriner I. Airlangga University Press: Surabaya.

Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar. Kementrian Kesehatan RI. Jakarta; 2010

Koirewoa, Y.A., F. Fatimawati& W. Wiyono 2012, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun beluntas (*Plucheaindica L.*). *Skripsi*. FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Kurniawan, DW, Sulaiman, TNS. 2009, Teknologi sediaan farmasi, 1sted. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Kusuma, R., 2011, Identifikasi Senyawa Bioaktif Pada Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea smithiana Symington*). *Jurnal mulawarman Scientific* 8 (2):48-53

Kusumawardani. 2016. Gambaran Kepekaan Berbagai Antibiotik dan Profil Plasmid *Escheria coli* Isolat Air Sumur Gali Kabupaten Demak. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Semarang

Maftuhah, A., 2016, Pengaruh Infusa Daun Beluntas (*Pluchea indica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus. Skripsi*. Fakultas Matematikan dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.

Manarisip, T., Yamelan V.Y Paulina., Lolo Astuty Widya., 2019, Formulasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingiacalabura L.*) Sebagai Antiseptik Tangan Vol 8 (3), 166.

Marindra, Silvia., 2012, *Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Gel Liposom yang mengandung Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Manggis* (*Gracinia mangostana* L.) sebagai Antioksidan. Depok: Universitas Indonesia

Maslahat, M., Syaawalz, A., Restianingsih, R., 2013, Identifikasi Senyawa Kimia Pada Simplisia Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.). Vol 3, No 1, hal 63-67

Merck. (2012). *Micribiologi Manual 12th Edition*. Germany (hhtp://www.vitus.by/userfiles/products_MERCK/Microbiology.pdf) diakses pada 25 juni2019

Mpilia, D.A., Fatmawati, W. L., dan Wiyono. (2012). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpus* L.) Benth Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Artikel Ilmiah*. Manado: Program Study Farmasi FMIPA UNSRAT

Murdiyani, R.A., 2013, Optimasi Kombinasi Karbopol dan HMPC (*HIDROKSIPROPIL METIL SELULOSA*) Terhadap Efektivitas Gel Antiseptik Ekstrak Metanol Daun Kesum (Polygonumminus Huds) Dengan Metode *SIMPLEX LATTICE DESIGN*, (*Skripsi*), Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Nasrullah, Fuad., 2011, Karakterisasi Sediaan dan Uji Penetrasi Natrium Diklofenak Sistem *Solid Lipid Nanoparticles* Dengan Basis Gel Carbomer 940 (Sistem SLN Natrium Diklofenak – Setil Alkohol – Tween 80 – Propilenglikol), *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Dapartemen Farmasetika.

Ningsih, R.D., Purwati, P., Zusfahair, Z., Nurdin, A., 2019, *Hand Sanitizer* Ekstrak Metanol Daun Mangga Arumanis (Mangifera indica L.) Vol.15(1), 13-14.

Nurwaini, Setyo, Saputri, Dewi, I., 2018, Pengujian Sifat Fisik dan Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel *Hand Sanitizer* Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata Prain*) Vol 01 (2018) Page 78-85.

Nurhalimah, H, Wijayanti, N, Widyaningsih, TD, 2015, Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica L,*) Terhadap Mencit Jantan yang Diinduksi Bakteri *Salmonella Thypimurium*. *Jurnal Pangandan Agroindustri*. 3(3): 1083-1094.

Praja MH dan Oktralina RZ., 2016, Uji Efektivitas Daun Petai Cina (*Lacaena glauca*) sebagai Antiinflamasi dalam Pengobatan luka Bengkak. Majority. 5(5): 86-88.

Prayoga, E., 2013, Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih (*Piper battle L*.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, (Skripsi), Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Putra,T. B. K. S., 2016, Optimasi Formula Gel Hand Sanitizer Minyak Atsri Jeruk Bergamot Dengan Komposisi HPMC dan Propilen Glikol, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

Putri, A.D., 2014, Pengaruh Metode dan Konsentrasi Terhadap Aktivitas Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli, (*Skripsi*)* Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Bengkulu.

Ratna, Radjani, Sakti, M., 2013, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* Dan *Pseudomonas aeruginosa*, Vol. 2 No.1 (2013).

Rendra, A, 2011, Uji Potensi Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica*) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri *Escheria coli* secara in vitro. (*tugas akhir*). Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Rini, E. P., & Nugraheni E. R. (2018). Uji Daya Hambat Berbagai Merek *Handsanitizer* Gel Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *journal of Pharmaceutical Science and Research*, 1(10), 18-26.

Rodhiya, A, N., 2016, Formulasi Sediaan Gel *Handsanitizer* Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Dengan Variasi Basis Carbopol, 940 dan CMC-Na.

Rompas, A, W, M., 2014, Pengaruh Variasi CMC-Na Sebagai Gelling Agent Terhadap Sifat Fisik dan Stabilitas Fisik Sediaan Sabun Cuci Tangan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica (L.) Less*), Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

Rowe, R.C., Sheskey, P.J., and Quinn, M.E., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients.6th Edition*.USA Pharmaceutical Press.

Sachan, R., and Bajpal, M. 2013. Transdermal *Drug Delivery Systems* : A Review. International Journal of Research and Development in pharmacy And Life Science. 3(1): 748 - 765

Saifudin, Aziz. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish

Shu, M., 2013, Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer Dengan Bahan Aktif Triloksan 0,5% dan 1%, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, Volume 2 No 1, hal. 1-3.

Sinko, P.J., 2011, Martin`s *Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5th Edition*, diterjemahkan oleh Josita Djajadisastra, Amalia H, Hadinata, EGC, Jakarta, hal . 654-657.

Sudirman, RS, Usmar, Rahim, A, Bahar MA., 2017, Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica L,*) pada Model InflamasiTerinduksi CFA. Jurnal Farmasi Galenika. 3(2): 191-198.

Setyaningrum, Latifah., 2013, Pengaruh Variasi Kadar HPMC Dalam Sediaan Gel Ekstrak Etanolik Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) Terhadap Sifat Fisik dan Daya Antibakteri Pada *Staphylococcus aureus*

Sukmawati, H. & Suprapto, Efek Berbagai Peningkatan Penetrasi Terhadap Penetraasi perkutan Gel Natrium Dikolofenak Secara in vitro, *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 11 (2), 117-12.

Syaiful, Dewi, Sartika., 2016, Formulasi dan Uji Stabilitas Gel Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Sebagai Sediaan *Hand Sanitizer*, (*Skripsi*). Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alaudin Makasar.

Tambunan, S., Sulaiman, Saifullah, Nanda, Teuku., 2018, Formulasi Gel Minyak Atsri Sereh dengan Basis HPMC dan Karbopol Vol 14 (2), 89.

Threenesia A. 2017. Perbandingan efek pemberian ekstrak etanol daun kemangi (ocimum sanctum l.) Terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *salmonella typhi* secara in vitro[skripsi]. Lampung: Universitas Lampung.

Tiara, Milani., 2014, Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan Escheria coli dari Ekstrak Daun Kedondong (*Spondiasdulcis Parkinson*) dalam sediaan Gel *"HAND SANITIZER"* [Skripsi], Purwokerto, Fakultas Farmasi UMP.

Tiwari, P, Kumar, B., Kaur G & Kaur H., 2011, Phytochemical Screening And Extraction: *A Review*, *International Pharmaceutica Sciencia*, 1 (1), 98-106.

Toelle, Neliyani, Novianti., Lenda, Viktor., 2014, Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp*. dan *Streptococcus Sp*. Dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial, Vol. 1, No. 7,32-37.

Tyasningsih, W., Ratih., Erni, R.S.I., Suryanie., Hasutji, E.N., Sri, C., dan Didik, H., 2010, Buku Ajar Penyakit Infeksi us I. Airlangga University Press: Surabaya.

Waluyo, L., 2010. Teknik Metode Dasar Mikrobiologi. UMM Press. Malang.

Wangkanusa, D., Lolo, Astuty, W., Wewengkang, Silvia, D., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium trilinerve* Vahl.) Terhadap Aktivitas Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa*. Vol. 5 No. 4.

Widyawati, P, S, C, H., Wijaya, P, S., Hardjosworo, dan D, Satuhi., 2013, Aktivitas Antioksidan Berbagai Fraksi dan Ekstrak Metanolik Daun Beluntas (*Pluche indica Less*). Agritech 32(3): 249-257