

**OPTIMASI CMCNa DAN CARBOPOL DALAM GEL HAND SANITIZER EKSTRAK
ETANOL DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa*) SERTA UJI AKTIVITASNYA
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
*Staphylococcus aureus***

*Optimization Cmc Na And Carbopol Hand Sanitizer Gel Extract Of Etanol
Sugar Apple Leaves (*Annona Squamosa*) And Antibacterial Activity
Escherichia coli And *Staphylococcus aureus**

SKRIPSI



Oleh :
FIRDA ARY WIDYASTUTI
4171019

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
2021**

**OPTIMASI CMCNa DAN CARBOPOL DALAM GEL HAND SANITIZER EKSTRAK
ETANOL DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa*) SERTA UJI AKTIVITASNYA
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
*Staphylococcus aureus***

*Optimization Cmc Na And Carbopol Hand Sanitizer Gel Extract Of Etanol
Sugar Apple Leaves (*Annona Squamosa*) And Antibacterial Activity
Escherichia coli And *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 Surakarta**

**Oleh :
FIRDA ARY WIDYASTUTI
4171019**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
2021**

PENGESAHAN SKRIPSI

**OPTIMASI CMCNA DAN CARBOPOL DALAM GEL HAND SANITIZER EKSTRAK
ETANOL DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa*) SERTA UJI AKTIVITASNYA
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
*Staphylococcus aureus***

***Optimization Cmc Na And Carbopol Hand Sanitizer Gel Extract Of Etanol
Sugar Apple Leaves (*Annona Squamosa*) And Antibacterial Activity
Escherichia coli And *Staphylococcus aureus****

Oleh
FIRDA ARY WIDYASTUTI
4171019

Dipertahankan di hadapan Pengaji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu

Kesehatan Nasional pada tanggal : 30 Agustus 2021

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

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

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Farmasi,

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

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

Tim Pengaji

- | | | |
|---|-------------------------------------|-----------------|
| 1 | apt. Disa Andriani, S.Farm., M.Sc | Ketua Pengaji |
| 2 | Dr. Didik Wahyudi, M.Si. | Anggota Pengaji |
| 3 | apt. Iwan Setiawan, S.Farm., M.Sc | Anggota Pengaji |
| 4 | apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm.,M.Sc | Anggota Pengaji |

1 *[Signature]*

2 *[Signature]*

3 *[Signature]*

4 *[Signature]*

HALAMAN PERSEMBAHAN

Sekiranya engkau bersikap keras dan berhati kasar, tentulah mereka menjauhkan diri dari sekitarmu. Karena itu maafkanlah mereka dan mohonkanlah ampunan untuk mereka, dan bermusyawarahlah dengan mereka dalam urusan itu

(QS. Ali 'Imran Ayat 159)

Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT. Taburan cinta dan kasih sayangmu telah memberikan kekuatan, membekalku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan cinta Atas karunia dari engkau akhirnya skripsi yang sederhana ini dapat terselesaikan.

Karya ini saya persembahkan sebagai tanda bakti, hormat dan terimakasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada Ibu (Almh. Mulyati) dan bapak (Alm. Supardi Atmojo) yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, ridho, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang hanya bisa kubalas dengan selembar kertas yang bertuliskan kata persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat ibu dan bapak Bahagia.

HALAMAN PERNYATAAN

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

Surakarta, 23 Agustus 2021

Peneliti



(Firda Ary Widyastuti)

PRAKATA

Puji syukur saya ucapkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala rahmat dan hidayah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini yang berjudul Optimasi CMC Na dan carbopol dalam gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) serta uji aktivitasnya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sebagai salah satu syarat menyandang gelar Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. apt.Hartono,M.Si selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional
2. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc. selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional serta pembimbing pendamping yang selalu memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat dalam penyelesaian skripsi.
3. apt. Iwan Setiawan, S.Farm., M.Sc selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat serta bantuan dalam penyelesaian skripsi.
4. Didik Wahyudi, S.Si., M.Si, selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
5. apt. Disa Andriani, S.Farm, M.Sc, selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
6. Almarhumah Ibu dan Almarhum Bapak tercinta dan terkasih semoga arwah beliau diterima di Sisinya.
7. Mas Saiful imron yang selalu mendukung, mendoakan, memberi semangat dalam menyelesaikan skripsi sehingga mendapat gelar Sarjana dengan tepat waktu.
8. Sahabat sahabat S1 Farmasi Angkatan 2017 Anis, Astika, Annisa nur, Esa, Galih, Izam, Retno, Maryani, Siti, Septi, Nugroho yang selalu memberikan semangat, bantuan dalam menyelesaikan penelitian.
9. Sahabat sahabat saya yang lain Annisa, Maylina, Lany, Widha, Ayun, Erlin, Devi, Galuh yang selalu memberikan semangat, bantuan dalam menyelesaikan penelitian.
10. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2017 yang memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian.

11. Staf dan Karyawan Program Studi S1 Farmasi STIKES Nasional, Laboran laboran yang telah membantu pelaksanaan praktikum dalam proses skripsi.
12. Staf dan Karyawan Program Studi S1 Farmasi STIKES Nasional, Laboran laboran yang telah membantu pelaksanaan praktikum dalam proses skripsi.
13. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun material.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan serta bermanfaat bagi pembacanya ataupun penelitian selanjutnya.

Surakarta, 23 Agustus 2021

Peneliti

(Firda Ary Widyastuti)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Daun Srikaya	6
1. Deskripsi tanaman	6
2. Kandungan kimia tanaman	7
3. Kegunaan tanaman	9
B. Bakteri	10
C. Antibakteri	11
1. Pengertian antibakteri	11
2. Uji aktivitas bakteri	11
3. Mekanisme kerja antibakteri	12
D. <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	14
E. Ekstraksi	18
1. Pengertian ekstraksi	18
2. Metode maserasi	19
F. Gel <i>Hand Sanitizer</i>	20
G. CMC Na	20
H. Carbopol	21
I. <i>Simplex Lattice Design</i>	21
J. Landasan Teori	22
K. Hipotesis	23
L. Kerangka Konseptual	24
BAB III. METODE PENELITIAN	25
A. Desain Penelitian	25
B. Alat Dan Bahan	25
1. Alat	25
2. Bahan	25
C. Variabel Penelitian	26
1. Variabel bebas	26

2. Variabel tergantung.....	26
3. Variabel terkendali.....	26
D. Definisi Operasional.....	27
E. Jalannya Penelitian.....	28
1. Determinasi tanaman.....	28
2. Penyiapan sampel.....	28
3. Pembuatan ekstrak.....	29
4. Identifikasi kandungan flavonoid.....	30
5. Pembuatan gel <i>hand sanitizer</i>	30
6. Formula gel <i>hand sanitizer</i>	31
7. Pengujian karakteristik gel <i>hand sanitizer</i>	31
8. Penentuan optimasi formula.....	33
9. Verifikasi formula optimum.....	33
10. Pengujian aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	33
11. Pengujian aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i>	37
F. Analisis Data.....	43
G. Alur Penelitian.....	45
H. Jadwal Penelitian.....	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	47
A. Determinasi Tanaman Srikaya.....	47
B. Pembuatan Ekstrak Daun Srikaya Srikaya.....	47
C. Uji Flavonoid.....	49
D. Pembuatan Sediaan Gel <i>Hand Sanitizer</i>	50
E. Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Gel <i>Hand Sanitizer</i>	52
F. Formula optimum.....	59
G. Verifikasi formula optimum.....	61
H. Uji aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i>	62
I. Uji aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	70
J. Pembuatan suspense bakteri.....	79
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	84
A. Kesimpulan.....	84
B. Saran.....	84
DAFTAR PUSTAKA.....	85
LAMPIRAN.....	93

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun srikaya	7
Gambar 2. Gambar (A) dan gambar (B) <i>coli</i>	14
Gambar 3. Koloni dan hasil mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Gambar 4. Kerangka konseptual	24
Gambar 5. Alur penelitian	44
Gambar 6. Hasil uji kandungan flavonoid ekstrak daun srikaya	49
Gambar 7. Hasil pewarnaan gram <i>Escherichia coli</i>	68
Gambar 8. Hasil uji TSIA	71
Gambar 9. Hasil uji sitrat	72
Gambar 10. Hasil uji SIM	74
Gambar 11. Hasil uji urea	75
Gambar 12. Hasil uji MR	76
Gambar 13. Hasil uji VP	77
Gambar 14. Hasil uji fermentasi karbohidrat	78
Gambar 15. Hasil uji PAD	79
Gambar 16. Hasil pengamatan koloni <i>Staphylococcus aureus</i>	80
Gambar 17. Hasil identifikasi MSA	81
Gambar 18. Gambar 18. Hasil uji koagulase	81
Gambar 19. Gambar 19. Hasil uji katalase	82
Gambar 20. Hasil pengujian aktivitas antibakteri	84

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi standar basis.....	31
Tabel 2. Formula gel <i>hand sanitizer</i> diperoleh dari metode SLD.....	31
Tabel 3. Uji organoleptis gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun srikaya.....	53
Tabel 4. Uji pH gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun srikaya.....	54
Tabel 5. Uji daya lekat gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun srikaya.....	56
Tabel 6. Uji daya sebar gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun srikaya.....	60
Tabel 7. Hasil Uji viskositas gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun srikaya.....	62
Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri.....	86

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi daun srikaya	98
Lampiran 2. Perhitungan randemen	99
Lampiran 3. Perhitungan zona hambat	100
Lampiran 4. Persiapan bahan ekstrak kental	102
Lampiran 5. Proses pembuatan sediaan	103
Lampiran 6. Uji kontrol kualitas sediaan gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol	104
Lampiran 7. Identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	105
Lampiran 8. Uji antibakteri sediaan gel <i>hand sanitizer</i>	106
Lampiran 9. Data <i>design expert</i> formula optimum	107
Lampiran 10. Data analisis pH pada <i>design expert</i>	108
Lampiran 11. Data analisis daya lekat <i>design expert</i>	109
Lampiran 12. Data analisis daya sebar <i>design expert</i>	110
Lampiran 13. Data analisis viskositas <i>design expert</i>	111
Lampiran 14 Hasil uji independent sampel t-test	112
Lampiran 15. Data uji homogenitas menggunakan SPSS	113
Lampiran 16. Data uji normalitas menggunakan SPSS	114
Lampiran 17. Data uji anova menggunakan SPSS	115
Lampiran 18. Verifikasi formula optimum	116
Lampiran 19. Identifikasi senyawa flavonoid	117
Lampiran 20. Pembuatan media	118

ABSTRACT

The preparation of hand sanitizer gel ethanol extract of srikaya leaf (*Annona squamosa*) has antibacterial activity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* because it contains flavonoids. The stability of the physical preparation of hand sanitizer gel is influenced by the combination of the proportion of CMC Na and carbopol as a gelling agent. This research was conducted to find the most optimum composition of CMC Na and carbopol, and to obtain results that were not significantly different from samples with positive controls. Antibacterial activity if it has the ability to inhibit bacteria will form a clear zone around the well.

This research was conducted using a laboratory experimental method by extracting srikaya leaves by maceration which was then continued with the manufacture of gel *hand sanitizer* with variations in the proportion of CMC Na and carbopol optimization was carried out. One of the optimization methods that can be used to obtain the optimum formula is the Simplex Lattice Design. Antibacterial activity tests were carried out on hand sanitizer gel preparations by looking at the inhibitory power based on the size of the clear zone. Test using independent t-test.

Based on the test results obtained the best composition is CMC Na 3% and carbopol 2% desirability value 0.536. The data were analyzed statistically using the SPSS 25 program, the significance value was > 0.05 . using the dosage formula to obtain the optimum formula based on the test parameters pH, dispersion, adhesion, and viscosity, the test parameters were carried out by *one sample t test*. Testing of antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* had a mean of 15.7 mm and 19.6, respectively. Inhibition data obtained significantly different results between the sample and the positive control.

Keywords: *Gel hand sanitizer, Annona squamosa, CMC Na, Carbopol, Escherichia coli, Staphylococcus aureus.*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Perpindahan bakteri dari dan melalui tangan kita hingga masuk ke saluran pencernaan dapat menyebabkan gangguan saluran pencernaan salah satunya ialah diare (Kemenkes RI, 2011). *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah penyebab penyakit diare yang bersifat patogen. Kejadian Luar Biasa (KLB) diare yang terjadi pada tahun 2018 mengalami peningkatan dibanding pada tahun 2011 CFR (*Case fatality rate*) sebesar 0,40% sedangkan pada tahun 2018 CFR (*Case fatality rate*) sebesar 4,76% (Kemenkes RI, 2019), *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang biasanya terdapat dalam saluran pencernaan sehingga dapat mengakibatkan infeksi pada sistem saluran pencernaan, sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan gram positif yang dapat menyebabkan infeksi kulit pada luka, bisul, dan menyebabkan infeksi lain yaitu keracunan pada makanan (Jawetz, *et al.*, 2010). Menurut Sugiyono *et al.*, (2014) hasil pemeriksaan tangan pejamah makanan yang teridentifikasi bakteri *Escherichia coli* sebanyak 50% dan *Staphylococcus aureus* 25%. Keadaan tersebut menunjukkan bahwa higiene perorangan masih kurang. Menurut penelitian Desiyanto *et al.*, (2013) perlakuan penggunaan antiseptik pada tangan efektif dalam penurunan jumlah angka kuman yang memiliki cara kerja menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau menyebabkan kematian bakteri (bakterisidal) (Iswara, 2015), dalam pembuatan sediaan antiseptik yang sering digunakan adalah triclosan, jika penggunaan triclosan dengan konsentrasi tinggi

dapat menyebabkan resistensi bakteri (Davision, 2010), untuk mengatasi masalah tersebut sehingga dapat dilakukan pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional terbukti bermanfaat bagi kesehatan, mudah didapat dan memiliki efek samping jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat-obat kimia (Endarini, 2016). Bahan herbal yang berguna sebagai antibakteri salah satunya adalah daun Srikaya (*Amnona squamosa*). Daun srikaya (*Amnona squamosa*) mengandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antimikroba yakni flavonoid (Kalidindi *et al.*, 2015). Kandungan flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan mengintervensi membran sitoplasma, menghambat sintesis asam nukleat, metabolisme energi, sintesis dinding sel, dan sintesis membran sel. Ekstrak etanol daun srikaya pada konsentrasi 50%, memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 10,10 mm dan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 17,88 mm (Tansil *et al.*, 2016).

Berdasarkan kondisi saat tidak disediakannya air dan sabun salah satu produk praktis yang dapat dijadikan alternatif untuk membersihkan tangan dalam beraktivitas yaitu produk gel *Hand sanitizer*. Hal tersebut mendorong pengembangan produk gel *hand sanitizer* dengan menggunakan ekstrak etanol daun srikaya yang memiliki aktivitas antibakteri sebagai zat aktifnya. *Hand sanitizer* adalah pembersih tangan yang memiliki kemampuan antibakteri dalam menghambat hingga membunuh bakteri pada tangan, mengandung alkohol 60%. Gel mulai populer digunakan karena penggunaanya mudah dan praktis tanpa membutuhkan air dan sabun. Gel *hand sanitizer* menjadi alternatif yang nyaman bagi masyarakat (Hapsari, 2015). Sediaan gel *hand sanitizer* dibuat dengan basis

CMC Na dan carbopol keuntungan penggunaan CMC Na sebagai basis diantaranya memberikan viskositas yang stabil. Carbopol sebagai gelling agent mempunyai keuntungan, yaitu dapat dicampur dengan banyak zat aktif, *acceptable*, serta memiliki penampilan organoleptis yang menarik, penggunaan carbopol sebagai basis pada sediaan gel dapat menghasilkan gel yang jernih. Hal tersebut menjadi penting dilakukannya optimasi terhadap kedua faktor tersebut agar mendapatkan parameter uji fisik meliputi uji pH, uji daya sebar, dan uji viskositas yang optimal. Salah satu metode optimasi yang dapat digunakan untuk mendapat formula optimum adalah *Simplex Lattice Design*. Kegunaan metode *Simplex Lattice Design* diantaranya penentuan formula, mengoptimalkan variabel formulasi dan mengetahui jumlah *Run* (Lannie, 2013). Bahan utama pembentuk gel adalah basis gel. Penggunaan CMC Na sebagai basis karena gel akan bersifat lembut, elastis, dan memiliki stabilitas yang tinggi. Carbopol adalah basis gel yang bila diformulasikan akan membentuk gel dengan penampakan yang jernih (Hasyim *et al.*, 2011). Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk menemukan komposisi CMC Na dan carbopol yang paling optimum. Selain itu diharapkan penelitian ini dapat memberi informasi aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

B. Perumusan masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Berapakah proporsi optimum kombinasi CMC Na dan carbopol dalam pembuatan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) dengan metode *Simplex Lattice Design*?
2. Apakah formula gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) yang paling optimum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk menemukan proporsi CMC Na dan carbopol yang paling optimum pada pembuatan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) dengan metode *Simplex Lattice Design*.
2. Untuk menemukan sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) dengan komposisi CMC Na dan carbopol yang paling optimum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi tentang formula sediaan gel *hand sanitizer* berbahan alam dari ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) dengan kombinasi CMC Na dan carbopol yang optimal.

2. Memberikan informasi tentang pengembangan gel *hand sanitizer* berbahan alam dari ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) yang mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan variasi menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD) yang bersifat eksploratif karena mencari area optimal dari CMC Na dan carbopol sebagai *gelling agent* dalam formula gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) setelah didapatkan area optimal dilakukan pengujian aktivitasnya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

B. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan selama penelitian adalah Alat gelas (Iwaki®) toples kaca, pipet volume, pipet tetes, timbangan digital (acis®), cawan porselin, mortar, stamper, ayakan, pH meter (Hanna H1 98107®), batang pengaduk (Iwaki®), *Rotary evaporator* (IKA RV 10®), viskometer (Rion®), inkubator (Jouan tipe IG 150®), jarum oshe, pembakar spiritus.

2. Bahan Penelitian

Serbuk daun srikaya (*Annona squamosa*) etanol 96%, carbopol, CMC Na, TEA, gliserin, nipagin, oleum citrus, aquadest, bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Escherichia coli*, NaCl, media NA (*Nutrient agar*), standar

Mac Farland, gel *hand sanitizer* merk “X”, media KIA / TSIA (*Kigler Inron Agar / Triple Sugar Iron Agar*), media SIM (*Sulfide Indol Motility*) , media citrate media MR (*Metil Red*), media VP (*Vroges Proskauer*), media PAD (*Phenil Alanin Diaminase*), media glukosa, media manitol, media sakarosa, media fruktosa, media laktosa, media MHA (*Muller Hilton Agar*), Media MSA (*Manitol Salt Agar*), NaCl 0,9%, H₂O₂ 3%, plasma citrat.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu komposisi CMC Na dan carbopol yang digunakan dalam formulasi gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*).

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini meliputi formula optimum dari sediaan gel yaitu uji pH, uji daya sebar, uji viskositas, uji daya lekat dan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3. Variabel terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah pemilihan simplisia tua, kecepatan dan lamanya pengadukan saat proses pembuatan gel *hand sanitizer*, kondisi dan wadah penyimpanan, dan metode uji aktivitas bakteri..

D. Definisi Operasional

1. Ekstraksi etanol daun srikaya ialah penyarian serbuk daun srikaya yang di maserasi menggunakan etanol 70% dan diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* serta oven sehingga menjadi ekstrak kental.
2. *Hand sanitizer* adalah sediaan dengan berbagai kandungan yang cepat membunuh mikroorganisme yang ada di kulit tangan. *hand sanitizer* banyak digunakan karena alasan kepraktisan yaitu mudah dibawa dan bisa cepat digunakan tanpa perlu menggunakan air. Cara pemakaiannya dengan diteteskan pada telapak tangan, kemudian diratakan pada permukaan tangan
3. Penggunaan CMC Na sebagai basis gel dapat membentuk larutan koloida dalam air yang dapat membuat gel menjadi tidak jernih. Carbopol sebagai *gelling agent* mempunyai keuntungan, yaitu dapat dicampur dengan banyak zat aktif, serta memiliki penampilan organoleptis yang menarik, penggunaan carbopol sebagai basis pada sediaan gel dapat menghasilkan gel yang jernih.
4. Sifat fisis gel *hand sanitizer* ialah parameter yang digunakan untuk mengetahui sifat fisis gel *hand sanitizer*, meliputi uji daya lekat, daya sebar, uji pH, dan uji viskositas.
5. Daya sebar ialah diameter penyebaran gel pada uji setelah diberi beban.
6. Viskositas ialah hambatan gel untuk mengalir dengan adanya pemberian gaya. Kriteria viskositas optimum ialah 500-1000 cPs.
7. Area optimum adalah pertemuan arsiran dari *countour*.

8. Plot daya sebar, daya lekat, viskositas, pH yang menunjukkan komposisi CMC Na dan carbopol yang menghasilkan gel *hand sanitizer* dengan sifat fisik yang baik.
9. Penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dari biakan murni Laboratorium Stikes Nasional Surakarta aktivitas antibakteri jika memiliki kemampuan terbentuknya zona bening sekitar sumuran.
10. Aktivitas antibakteri dilihat dari diameter zona hambat, dan dikatakan memiliki aktivitas antibakteri jika berbeda signifikan dengan kontrol negatif.

E. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah kebenaran sampel daun srikaya (*Annona squamosa*) yang berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada daun srikaya (*Annona squamosa*) terhadap kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Surakarta, Solo (Lampiran 1 hal 91).

2. Penyiapan sampel

a. Pengambilan sampel

Sampel daun srikaya diambil sebanyak 4000 gram dari Desa Bulan, Kecamatan Wonosari, Kabupaten Klaten. Sampel daun srikaya diambil dari daun yang masih segar dan pada daun yang tua.

b. Pembuatan simplisia

Daun srikaya 6000 gram dicuci bersih dan ditiriskan, kemudian ditempatkan pada wadah yang bersih lalu dikeringkan dengan cara dijemur daun srikaya dibawah sinar matahari yang ditutupi kain hitam. Daun srikaya yang sudah kering dihaluskan hingga diperoleh serbuk kering atau simplisia, kemudian diayak menggunakan pengayak nomor mesh 40 (Rivai, 2010).

3. Pembuatan ekstrak

Ekstrak daun srikaya dibuat dengan metode maserasi. Merasasi dilakukan dengan merendam simplisia sebanyak 2600 gram ke dalam pelarut etanol 70% (1:7,5) sebanyak 23,5 liter pada bejana, kemudian diaduk. Bejana ditutup menggunakan aluminium foil dan didiamkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk, setelah 3 hari, ekstrak disaring menggunakan corong buchner sehingga menghasilkan filtrat (filtrat 1). Ampas yang ada diremaserasi selama 2 hari dengan pelarut etanol 70% (1:2,5) sebanyak 2,5 liter dilakukan seperti halnya filtrat 1. Filtrat pertama dan kedua dicampur menjadi satu, lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental daun srikaya, setelah itu rendemen hasil ekstraksi kemudian dihitung % rendemen, dan disimpan dalam wadah tertutup (Puspitasari dan Lean, 2016).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak} \times 100\%}{\text{Bobot simplisia}}$$

4. Identifikasi kandungan flavonoid pada ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa*)

Skrining fitokimia dilakukan dengan sebanyak 0,1 gram ekstrak dimasukan kedalam plat tetes ditambahkan sedikit serbuk Mg dan diaduk sampai tercampur, dan ditambahkan 3 tetes HCl pekat dan campuran diaduk, perubahan warna pada larutan ekstrak diamati apabila timbul warna merah, kuning, atau jingga, maka ekstrak positif flavonoid (Rahayu *et al.*, 2015).

5. Pembuatan gel hand sanitizer

CMC Na ditaburkan kedalam aquadest panas diamkan selama 24 jam, setelah CMC Na megembang kemudian diaduk cepat hingga terbentuk massa gel. Carbopol ditambahkan air kemudian diaduk cepat dan ditambahkan trietanolamin, aduk perlahan hingga masa gel terbentuk sempurna. Masing-masing basis gel dicampurkan dan diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan gliserin, nipagin, dan ekstrak etanol daun srikaya yang telah dilarutkan dengan aquadest kedalam campuran CMC Na dan Carbopol, diaduk kembali hingga terbentuk massa yang homogen. Tambahkan aquadest hingga 50 ml sedikit demi sedikit ke dalam campuran hingga diperoleh masa gel , lalu ditambahkan oleum citrus (Rohanna *et al.*, 2019).

6. Formula gel *hand sanitizer*

Tabel 1. Komposisi standar basis gel *hand sanitizer*

Bahan	Standar
CMC Na	3-4%
Carbopol	1-2%

Tabel 2 Formula gel *hand sanitizer* diperoleh dari metode SLD

Bahan	Formula %							
	Run 1 8	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6	Run 7	Run
Ekstrak etanol daun srikaya	50	50	50	50	50	50	50	50
CMC Na	3,75	3,5	4	3	3,5	4	3	3,25
Carbopol	1,25	1,5	1	2	1,5	1	2	1,75
Trietanola min	3	3	3	3	3	3	3	3
Gliserin	15	15	15	15	15	15	15	15
Nipagin	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Oleum citrus	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Aquadest ad	75	75	75	75	75	75	75	75

7. Pengujian karakteristik gel *hand sanitizer*

a. Pengamatan organoleptis

Sediaan gel yang telah diformulasikan dilakukan pengamatan secara fisik meliputi konsistensi/bentuk, bau, dan warna. Gel biasanya jernih dengan konsistensi setengah padat (Ali *et al.*, 2019).

b. Uji homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara sampel gel dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok,

sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Ali *et al.*, 2019).

c. Pengukuran pH

Uji pH dilakukan untuk melihat tingkat keasaman sediaan gel untuk menjamin sediaan gel tidak menyebabkan iritasi pada kulit pH sediaan yang memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam interval 4,5-6,5 menggunakan kertas indikator pH (Ali *et al.*, 2019).

d. Pengukuran daya sebar

Pengukuran daya sebar dilakukan untuk menjamin pemerataan gel saat diaplikasikan pada kulit. Gel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan ditengah kaca bulat berskala. Di atas gel diletakkan kaca bulat lain atau bahan transparan lain dan pemberat sehingga berat kaca bulat dan pemberat 150 gram, didiamkan selama 1 menit, kemudian dicatat diameter penyebarannya. Daya sebar gel yang baik antara 5-7 cm (Ali *et al.*, 2019).

e. Uji daya lekat

Sampel 0,5 gram diletakkan diantara 2 obyek glass, kemudian ditekan dengan beban 1 kg diatasnya dan dibiarkan 5 menit. Setelah itu obyek diletakkan pada alat dan dilepaskan beban seberat 80 gram, dicatat waktunya sampai obyek glass terlepas (Miranti, 2009)

f. Uji viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan mengukur kekentalan menggunakan alat Rion viskotester VT-04. Cara kerja uji viskositas

yaitu dimasukkan kedalam *cup* dan dipasang *portable viscotester*, kemudian viskositas diketahui dengan mengamati gerakan jarum penunjuk viskositas, kriteria viskositas optimum ialah 500-1000 cPs (Ali *et al.*, 2019).

8. Penentuan optimasi formula

Optimasi formula ditentukan dengan metode *Simplex Lattice Design* dengan menggunakan data respon viskositas, daya sebar, daya lekat, dan viskositas (Suaida *et al.*, 2017). Salah satu metode optimasi yang dapat digunakan untuk optimasi kombinasi basis CMC Na dan carbopol yakni metode *Simplex Lattice Design* (SLD). Nilai desirability yang baik mendekati 1 berarti formula optimum yang dihasilkan semakin mencapai respon yang dikehendaki. Kegunaan metode *Simplex Lattice Design* diantaranya penentuan formula, mengoptimalkan variabel formulasi dan mengetahui jumlah *Run* (Lannie, 2013).

9. Verifikasi formula optimum

Verifikasi dilakukan untuk membandingkan antara prediksi dari *software* dengan hasil pengujian terhadap formulasi yang dilakukan. Verifikasi yang dilakukan dengan menganalisis data dengan *one-sample t test*. Membuat formula sebanyak 3 kali replikasi dan dilakukan pengujian terhadap sifat fisik sediaan gel yang meliputi uji pH, uji daya sebar, daya lekat, dan uji viskositas (Saryanti *et al.*, 2019). Kriteria untuk in range dipilih respon uji ph, daya lekat, dan viskositas.

10. Pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat - alat gelas disterilkan dalam oven dengan suhu 170° C selama ± 2 jam, jarum ose dan pinset dibakar dengan pembakar diatas api dan media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Muljono *et al.*, 2016).

b. Karakterisasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapatkan dari stok bakteri pada *Nutrient agar* miring dari Laboratorium Stikes Nasional Surakarta diinokulasikan 1 ohse koloni dari *Nutrient agar* miring pada media BHI cair sebagai media penyubur untuk pertumbuhan bakteri lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C setelah itu diinokulasikan ke media BAP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, bakteri yang sudah tumbuh dilakukan pengecatan gram. Morfologi sel bakteri dilakukan dengan pewarnaan gram . Satu sampai dua tetes aquades steril diletakkan diatas objek glass, koloni bakteri diambil 1-2 ohse dari media kultur yaitu *Nutrient Agar* kemudian diletakkan diatas aquadest steril dan sebarkan hingga merata, biarkan olesan tersebut kering karena udara, setelah olesan tersebut benar-benar kering kemudian disterilkan diatas nyala api. Tahap berikutnya ditetesi 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 dengan air yang mengalir lalu objek glass digenangi dengan gram D selama 2 menit, setelah 2 menit buang sisa cat dan dicuci pada air yang mengalir. Dikeringkan

terlebih dahulu dengan diangin-anginkan sebelum dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop dengan lensa obyektif 100x, sebelum dilakukan pengamatan pada mikroskop objek glass dilakukan terlebih dahulu ditetesi dengan minyak emersi sebanyak 1 tetes (Waluyo, 2010). Indikasi pewarnaanya yaitu bakteri gram positif akan berwarna violet dan bakteri gram negatif akan berwarna merah.

c. Inokulasi media MSA (*Manitol Salt Agar*)

Media yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu menggunakan media MSA yang dilakukan dengan cara menginokulasikan biakan bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam 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 (Waluyo, 2010).

d. Uji koagulase

NaCl 0,9% diambil 2-3 ohse dan letakkan di atas objek glass yang telah disterilkan, diambil 2-3 ohse koloni bakteri dari media NA miring menggunakan ohse lurus secara aseptis dan campurkan ke atas objek glass yang telah terdapat 2-3 ohse NaCl 0,9%. Ditambahkan 1 tetes plasma sitrat, dicampur lalu homogenkan, kemudian diamati perubahan yang terjadi. Interpretasi hasil : (+) terjadi aglutinasi, (-) tidak terjadi aglutinasi. Pada tes ini *Staphylococcus aureus* akan menunjukkan hasil positif (Radji, 2011).

e. Uji katalase

Media MSA diambil 2-3 ohse dari kemudian dilanjutkan dengan uji katalase, dimana koloni yang berwarna kuning diambil dari media MSA dengan menggunakan ohse letakkan diatas objek glass yang bersih secara aseptis dan campurkan ke atas objek glass ditambahkan 1 tetes H₂O₂ dan amati perubahan yang terjadi. Interpretasi hasil (+) jika terjadi gelembung gas (Imam *et al.*, 2011).

f. Pembuatan suspensi bakteri

Biakan bakteri diambil sebanyak 1-2 ohse pada media kultur yaitu *Nutrient Agar* kemudian disuspensikan pada NaCl 0,9% setelah itu, suspensi bakteri dibandingkan kekeruhannya dengan standar *Mac farland* atau sebanding dengan standar 0,5% *Mac farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri 10⁵ (CFU)/ml, setelah diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar *Mac farland*, selanjutnya suspense bakteri dituangkan pada media MHA sebanyak 1 ml secara *pour plate*.

g. Pembuatan sumuran

Pembuatan Sumuran dilakukan pada media MHA yang telah diinokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pembuatan lubang pada media MHA menggunakan *cork borier* berdiameter 8 mm.

h. Pengisian sumuran dengan gel *hand sanitizer*

Sumuran yang telah dibuat diisi dengan gel *hand sanitizer* ekstrak daun srikaya 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 gel *hand sanitizer* merk “X”, dan kontrol negatif basis carbopol setelah itu dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, pada penelitian ini dilakukan replikasi sebanyak 3x dengan menggunakan 3 cawan petri dimana masing-masing cawan petri berisi 3 sumuran (kontrol positif, kontrol negatif, gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Amnona squamosa*).

i. Pengamatan zona hambat

Pengamatan zona hambat dilakukan dengan mengukur diameter zona jernih (termasuk diameter lubang) sekitar daerah sumuran dengan menggunakan jangka sorong dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{(DV-DS) + (DH-DS)}{2}$$

Keterangan :

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter horizontal

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

11. Pengujian aktivitas antibakteri *Escherichia coli*

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat - alat gelas disterilkan dalam oven dengan suhu 170° C selama ± 2 jam, jarum ose dan pinset dibakar dengan pembakar diatas api dan media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Muljono *et al.*, 2016)

b. Pembuatan media MHA (Mueller Hinton Agar) dan media BHI (Brain Hearth Infusion)

Media yang digunakan telah tersedia dalam kemasan, sehingga dalam pembuatannya hanya dengan cara melarutkan dalam akuades sesuai dengan intruksi yang terdapat pada masing-masing kemasan. Banyaknya media yang ditimbang untuk tiap liternya adalah MHA sebanyak 34 gram dan BHI 37 gram ditimbang untuk setiap satu liter pelarut. MHA yang dibuat sebanyak 30 ml yaitu dengan melarutkan 5,1 gram dalam 150 ml, pelarut untuk 6 cawan petri. Media yang telah dilarutkan kemudian dipanaskan didalam panci yang berisi air dipanaskan hingga media larut semua dalam pelarut setelah itu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Uji biokimia

Escherichla coli diambil dari stok bakteri pada *Nutrient Agur* miring yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Sukoharjo. Bakteri dari *Nutrient Agar* miring dipindahkan ke media BHI cair setelah itu dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C, Keesokan harinya dari media BHI cair dipindahkan ke media *Mac Conkey* setelah itu dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri yang sudah tumbuh diambil 1 koloni saja untuk diují biokimia dan gula gula. Uji biokimia menurut Hartati (2012) meliputi :

1) Uji KIA/TSIA (*Kigler Inron Agar / Triple Sugar Iron Agar*)

Amati adanya pembentukan :

- a) Acid/asam : positif ditandai dengan media berwarna kuning.

Hal ini disebabkan media KIA mengandung karbohidrat yang akan difermentasikan oleh bakteri membentuk suasana asam. Warna kuning pada media disebabkan media mengandung indikator *phenol red* yang dalam suasana asam akan berwarna kuning.

- b) Alkali/basa : positif ditandai dengan media tetap berwarna merah

karena karbohidrat pada media tidak terurai. Pembacaan adanya pembentukan asam dan basa dengan cara mengamati bagian yang miring terlebih dahulu kemudian bagian yang tegak.

- c) Gas : positif ditandai adanya bagian yang kosong pada media atau media terangkat ke atas.

- d) H₂S : positif ditandai terbentuknya warna hitam pada media.

Proses desimilasi asam amino yang mengandung belerang (Crytine dan methionin) oleh bakteria akan melepaskan H₂S.

Untuk mengetahui adanya/terbentuknya H₂S.

2) Uji SIM (*Sulfide Indol Motility*)

Tusuk media menggunakan obor lurus sampai dasar media.

Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati adanya pembentukan :

- a) H₂S : positif ditandai terbentuknya warna hitam pada media.

- b) Motil : positif jika terdapat pertumbuhan yang menyebar disekitar tusukan atau pada permukaan media/media menjadi keruh.
- c) Indol : positif ditandai terbentuknya warna merah setelah ditambahkan 5 tetes reagen erlich/kovac. Indol merupakan zat berbau busuk yang dihasilkan dari pemecahan amino tryptophan yang terkandung dalam media oleh bakteri.

3) Urea

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar media. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna media menjadi merah, terjadi karena bakteri memfermentasikan kristal dalam media menjadi amoniak yang membuat suasana media menjadi basa. Adanya indikator *phenol red* dalam media menyebabkan media menjadi berwarna merah.

4) Uji MR (*Metil Red*)

Inokulasikan ke dalam media. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati adanya pembentukan acetoin positif ditandai dengan terbentuknya warna merah setelah pada media ditambahkan 10 tetes reagen barried dan 4 tetes reagen KOH 40% serta ditunggu selama 10 menit. Adanya glukosa pada media akan diubah menjadi asam piruvat yang diuraikan lagi menjadi acetoin. Acetoin akan

bereaksi dengan inti guanidine dari reagen barried membentuk warna merah.

- a) Asam MR : positif ditandai dengan wana merah setelah menambahkan 5 tetes reagen methyl red ke dalam media. Jika bakteri memecah glukosa asam dengan adanya indikator methyl red akan menyebabkan media menjadi merah.

5) PAD (*Phenil Alanin Diaminase*)

Inokulasikan ke dalam media. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati adanya pembentukan *Phenyl pyruvate/deaminase phenyl alanine* (PAD) positif ditandai dengan warna hijau pada media, kemudian media ditambahkan HCl 0,1 N sampai media berwarna kuning dan ditambahkan 5 tetes reagen FeCl₃ 10%. Phenyl alanine pada media akan di deaminasi oleh bakteri menjadi phenyl yang akan bereaksi dengan FeCl₃ membentuk warna hijau.

6) Uji Citrat

Tusuk media menggunakan obor lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig-zag pada kemiringan media. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

- a) Citrat positif ditandai terbentuknya warna biru pada media.
- b) Prosesnya : apabila bakteri yang ditanam menggunakan garam citrate sebagai sumber karbon, maka citrat akan diurai dan menghasilkan ion OH. Ion ini bersifat basa sehingga dengan

adanya indikator BTB media akan berubah menjadi berwarna biru.

7) Fermentasi karbohidrat

Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Gula-gula positif ditandai dengan media berwarna kuning. Adanya indikator *phenol red* akan menyebabkan media menjadi kuning. Gas (+) ditandai dengan kosongnya tabung durham.

d. Penggunaan kontrol

1) Kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan yaitu basis carbopol.

2) Kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan adalah *hand sanitizer* merk “X”.

e. Pembuatan stok bakteri

Escherichia coli diambil dari stok bakteri yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Kesehatan Nasional Sukoharjo, kemudian digoreskan pada media NA miring. Bakteri diinkubasi pada suhu 18-37°C selama 24 jam. Jika digunakan untuk hari berikutnya bakteri ini disimpan pada suhu 4°C sebagai stok bakteri.

f. Pembuatan sumuran

Pembuatan Sumuran dilakukan pada media MHA yang telah diinokulasikan bakteri *Escherichia coli*. Pembuatan lubang pada media MHA menggunakan *cork borier* berdiameter 8 mm.

g. Pengisian sumuran dengan gel *hand sanitizer*

Sumuran yang telah dibuat diisi dengan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya 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 *hand sanitizer* merk “X” dan kontrol negatif yaitu gel *hand sanitizer* tanpa ekstrak setelah itu dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, pada penelitian ini dilakukan replikasi sebanyak 3x dengan menggunakan 3 cawan petri dimana masing-masing cawan petri berisi 3 sumuran (Kontrol positif, kontrol negatif, gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*)).

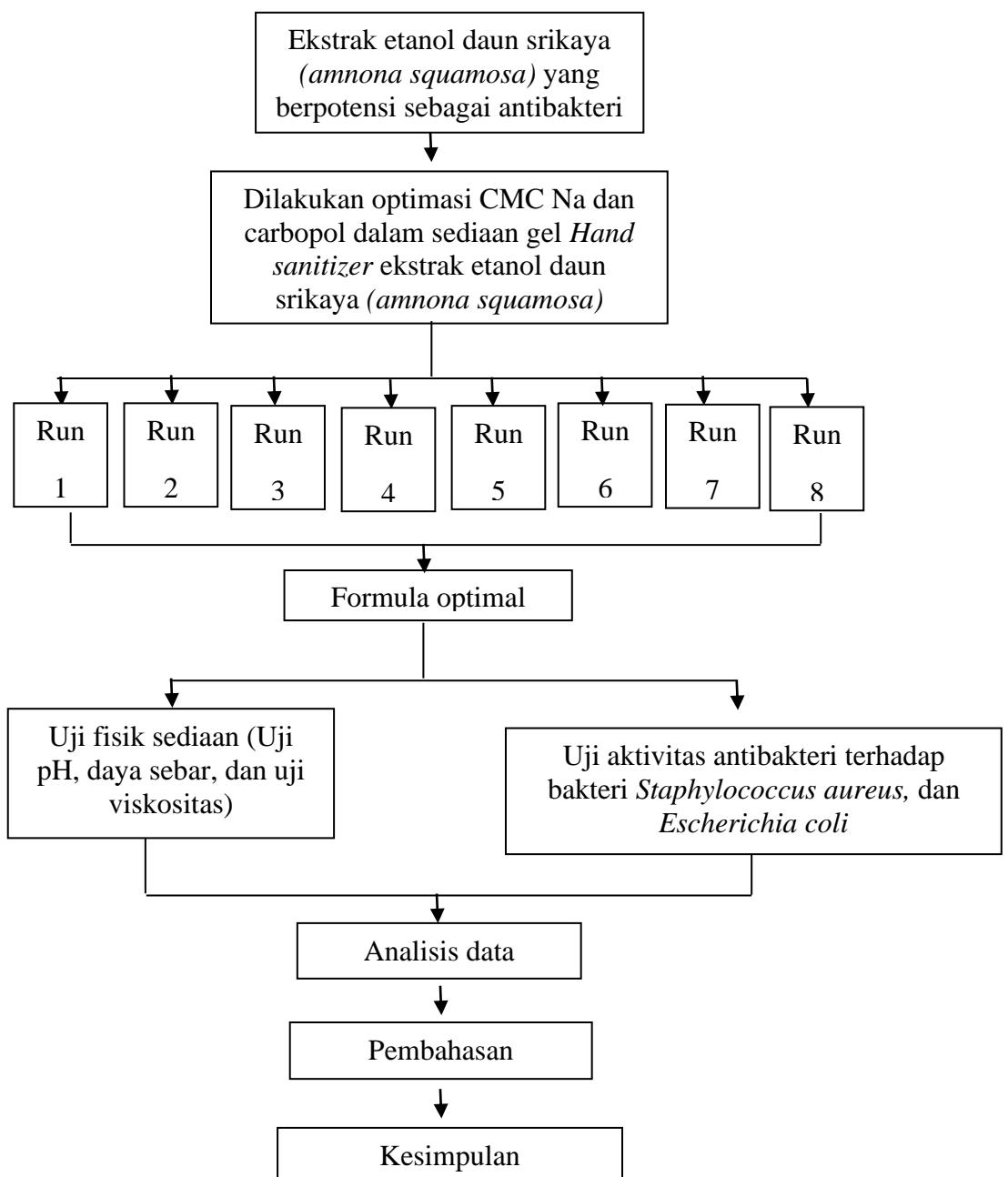
F. Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini bervariasi. Dimulai dari uji fisik homogenitas, pengukuran pH, uji daya sebar, daya lekat, dan uji viskositas. Analisis dari semua pengujian tersebut merupakan hasil uji fisik gel *hand sanitizer*. Penentuan optimasi formula ditentukan dengan metode *Simplex Lattice Design* dengan 2 variabel dan parameter yang diamati yaitu Ph, daya sebar, daya lekat dan viskositas. Didapatkan hasil formula yang optimum jika nilai desirability berkisar 0-1, dimana semakin tinggi nilai desirability (mendekati 1) berarti formula optimum yang dihasilkan semakin mencapai respon yang dikehendaki. Verifikasi formula optimal gel untuk membandingkan hasil prediksi

metode optimasi dengan hasil pengujian yang dilakukan diuji dengan *one sample t-test* (Saryanti *et al.*, 2019).

Data daya hambat yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis dengan analisis statistic *independent t-test* antara formula gel yang optimum akan dibandingkan terhadap kontrol positif (+) yaitu merk “X”. Analisis statistik *independent t-test* digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara kedua kelompok sampel yang tidak berhubungan. Analisis ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antibakteri pada pemberian sediaan gel *hand sanitizer* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, apabila nilai P Sig<0,05 hal ini berarti hasil bermakna atau signifikan, artinya terdapat hubungan bermakna antara variabel independen dan dependen, atau hipotesis penelitian diterima, jika hasilnya bermakna, apabila P Sig>0,05 berarti ada dua sampel yang diteliti tidak mendukung adanya perbedaan yang bermakna dan tidak ada pengaruh variabel independen terhadap dependen.

G. Alur Penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Proporsi optimum kombinasi CMC Na dan Carbopol dalam pembuatan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) adalah 3:2
2. Formula gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) yang paling optimum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan rata rata diameter sebesar 19,6 mm dan 15,7 mm.

B. Saran

1. Mengembangkan dalam bentuk sediaan dengan teknologi yang lebih tinggi seperti sediaan nanopartikel
2. Perlu dilakukan uji iritasi kulit untuk membuktikan bahwa sediaan tersebut aman.
3. Perlu dilakukan uji stabilitas sediaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alex, S. 2011 *Budidaya dan Khasiat Srikaya Untuk Kesehatan*. Pustaka Baru Press, Yogyakarta.
- Annisa. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Difeniltimah(IV) Di-3-Klorobenzoat dan Trifeniltimah(IV) 3-Klorobenzoat terhadap Bakteri Geram Negatif Pseudomonas aeruginosa dan Gram Positif Bacillus subtilis. *Tesis. Program Pascasarjana Magister Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Lampung.*
- Akhyar, 2010. Uji Daya Hambat dan Arialisis KLT Bioautografi Ekstrak ukar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa* Grif Terhadap *Vibrio harveyi*. *Skripsi. Fakultas Farmasi U niversitas Hasanudin Makassar*, Makassar.
- Ali, Fahmi, Hendra Stevani, and Dwi Rachmawaty, 2019. "Formulasi dan Stabilitas Sediaan Body Scrub Bedda Lotong Dengan Variasi Konsentrasi Trietanolamin." *Media Farmasi* 15(1): 71 Arief, M. 2008. Pengantar Metodologi Penelitian untuk Ilmu Kesehatan. UNS Press, Surakarta.
- Arisanty, I.P., (2013) Konsep Dasar Manajemen Perawatan Luka, Pamilih Eko Karyuni.ed, Jakarta:EGC
- Atun, S. 2016. *Metode Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Struktur Organik Bahan Alam*. Jurnal Konservasi cagar budaya Borobudur 8, 53-61.
- Barel, A.O., Paye,M., dan Maibach, H.I. 2001, *Handbook of Cosmetic Science and Technology*,Marcel Dekker, New York
- Barve D & Pandey N. 2011. *Phytochemical and Pharmacological Review on Annona squamosal. Linn.* International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences. Vol. 2(4).
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. 2013. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick& Aderberg. Ed 25. EGC, Jakarta.
- Cappuccino, J.G., dan Natalie, S. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi Edisi 8. Buku Kedokteran*. EGC, Jakarta. Hal. 329-333.
- Dalimartha, 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid V*. Puspa swara, Jakarta.
- Davision, R., Mailard., Pages., Pfaf., Rastogi. 2010. *Opinion on Triclosan Antimicrobial Resistance*. SCCP, European.

- Dewi E, Evie Yuliaswari, Endang Sri Rejeki, 2016. Optimasi Formula Gel Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L*) sebagai Antioksidan Dengan Metode *Simplex Lattice Design*. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Vol 12.No 1.
- Dewi, Nurfita 2012. *Budidaya, Khasiat Dan Cara Olah Mengkudu Untuk Mengobati Beberapa Penyakit*. Pustaka Baru Press, Yogyakarta.
- Desiyanto FA dan Djannah SN. 2013. Efektivitas Mencuci Tangan Menggunakan Cairan Pembersih Tangan Antiseptik (*Hand sanitizer*) Terhadap Jumlah Angka Kuman. Kesmas. Volume 7. Nomor 2. September 2013. ISSN: 1978-0575 : Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Elfidasari, D., A M Saraswati., G Nufadianti., V Setiowati, 2011. Perbandingan Kualitas Es di Lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia dengan Restoran Fast Food di Daerah Senayan dengan Indikator Jumlah *Escherichia coli* Terlarut, Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi, Vol.1(No.1).
- Endarini L H, 2016. Farmakognosi dan Fitokimia. Badan PPSDM, Jakarta.
- Ginarana, Astuti, W., Silvia, d 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Formulasi Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas lampung, Lampung.
- Golin, Andrew P., Choi, Dexter., Ghahary, Aziz, 2020. *Hand sanitizer: A Review of ingredients, mechanisms of action, modes of delivery, and efficacy against coronaviruses*
- Hapsari, D. N. 2015. Pemanfaatan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle Linn*) Sebagai Hand Sanitizer. Skripsi. Bayumedia Publishing, Yogyakarta.
- Haryati, N A., C.S. Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (*Syzigium myrtifolium Walp*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Kimia Mulawarman 13(1): 35-39.
- Hartati, A.S. 2019. *Dasar- Dasar Mikrobiologi Kesehatan*. Nuha Medika, Yogyakarta.
- Hasan, A H, Janez, M. 2012. *Chemical Reaction of Soybean Flavonoids with DNA : A Computational Study Using The Implicit Solvent Model*, International Jornal of Moleculer Sciences, Penang Malaysia

- Hasyim, N., Faradiba., & G.A. Baharuddin. 2011. Formulasi Gel Sari Buah Beilimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi L.*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, (15):5-9.
- Hemraj, V. 2013. A review on Commonly Used Biochemical Test For Bacteria. Department of Pharmacy, L.R Intitute o Pharmacy, Solan (H.P)., India.
- Hendra, Stevani R., Ratnasari.,D. 2019. Formulasi Sediaan *Hand sanitizer* dari ekstrak Biji Panggi. Media Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar, Makassar.
- Imam, E.R.S., Ratih, R., Hasutji, E.N., Suryanie., Wiwiek, T dan Sri, C. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Veteriner I*. Airlangga University Pres, Yogyakarta.
- Ismiyati N. 2014. Pengembangan Formulasi Masker Ekstrak Air Daun Alpuki (Persea americana Mill) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* pada Pengobatan Jerawat. *Skripsi*. Farmani Poltekkes Bhakti Setya Indonesia, Jakarta.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletani Terhadas Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*). Jakarta Jurusan Farmasi UIN Syarif Hidayatullah, Tangerang.
- Iswara, A. 2015. *Pola sensitivitas Escherichia coli terhadap antibiotic*. Edisi kedua, Universitas research colloquium, pp. 273-277.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg, 2015. Mikrobiologi Kedokteran. EGC, Jakarta.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg, 2012. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 26. EGC, Jakarta.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg, 2010. Mikrobiologi Kedokteran. EGC, Jakarta.
- Juliyanto S T. 2019. *Buku Ajar Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. UI, Jakarta.
- Kalidindi, N., Thimmaiah, N., Jagadeesh, NV., Nandeep, R, Swetha, S, Kalidindi B. 2015. *Antifungal and antioxidant activities of organic and aqueous extracts of annona squamosa Leaves*. *Journal of drug analysis*.
- Karsinah, Lucky, H.M., Suharto, Mardiastuti, H.W. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran: Batang Negatif Gram Escherichia*. Tangerang: Penerbit Binarupa Aksara. hlm. 195-8.

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

Kementrian Kesehatan RI. 2011. *Pedoman Penggunaan Antibiotik*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

Kementrian Kesehatan RI. 2014. *Perilaku Mencuci Tangan Pakai Sabun di Indonesia*. Pusat Data Dan Informasi, Jakarta.

Kementrian Kesehatan RI. 2019. *Profil Kesehatan Indonesia 2018*. Kementrian Kesehatan RI, Jakarta.

Kulla, Periskilla Dina Kali. 2016. *Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak bawang lanang (Allium Sativum L) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Universitas Hasanudin, Makassar.

Kurniawan, D.H. Dan Sulaiman, T. Ns., 2009. *Teknologi sediaan farmasi*, 92-97, Graha Ilmu, Yogyakarta.

Kuswiyanto, 2014. *Bakteriologi 2 Buku Ajar Analisi Kesehatan*. EGC, Jakarta

Leny, Heliawati. 2018. *Kimia Organik 3*. Universitas Pakuan Bogor, Bogor.

Lannie H. and Achmad F.,2013. Sediaan Solida. Pustaka Belajar, Yogyakarta.

Ummamie L, Restina, Erina, T. Reza Ferasyi, Darniati, Al Azhar. 2017. *Isolasi dan identifikasi Escherichia coli DAN Staphylococcus aureus pada keumamah di pasar tradhisional lambaro Aceh besar*. JIMVET, Aceh.

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.

Marianti. 2017. *Buku Kesehatan Masyarakat*. Salemba Medika, Jakarta.

Miranti, 2009. Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kencur (Kaempferia galangal) Dengan Basis Salep Larut Air Terhadap Sifat Fisik Salep dan Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Muljono, P., F., & Manampiring, A. E. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mayana jantan (*Coleus athropureus benth*) terhadap pertumbuhan *staphylococcus Sp* dan *Pseudomonas Sp*. *Jurnal E-biomedik*, 4(1), 164-172.

- Mulyadi. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium Trilnerve Vahl*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Vol 5 No 4.
- Mulyani S. 2013. Kimia dan Bioteknologi dalam Resistensi Antibiotik. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia. V, Surakarta.
- Permatawati. H.T., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrik, Fraksi N-Heksan. Ei. Asetat, Dan Air Dari Kulit Buah Kenitu (*Chrysophyllum Cainito* Terhadap Bakteri *Escherichia Coli Atce 25922 Skripsi*. Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Puspitasari, A.D., dan lean, S.P, 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokhletasi terhadap kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 13 (2), 16-23.
- Putra. 2010. Isolasi Senyawa Antioksidan dari kelopak bunga nusa indah (*Mussaenda frondosa L*). *Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol. 5. No 1: 48-56.
- Radji, M. 2015. *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC, Jakarta.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC, Jakarta.
- Rahayu, S., N. Kurniasih & V. Amalia. 2015. Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *Al Kimiya*, 2(1):1-8.
- Rahmadani, Fitri, 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Ramadhani, R.A., Riyadi Doddy, H,S., Triwibowo, B., Kusumaningtyas, R.D. 2017. *Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan*. Review Pemanfaat *Design Expert* untuk optimasi Komposisi Campuran Minyak Nabati sebagai Bahan Baku Sintesis Biodesel. 1(1), 11-16.
- Rijayanti RP 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera indica L*) terhadap *staphylococcus aureus* secara in vitro. *Disertasi*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjung Pura, Pontianak.

- Rowe, C. R., Sheskey, J.P., Weller, J.P. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th edition, American Pharmaceutical Association*, London.
- Sardiani, N., M. Litay., R. G. Budji dan D. Priosambodo. 2015. Potensi Turikata Rhopalaea Sp Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri. *Jurnal Alam dan Lingkungan*.6 (11) :1-10.
- Saryanti, D., Setiawan, I., Safitri, R. A. 2019. Optimasi Formula Sediaan Krim M/A dari Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata L.*). *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, Vol 1(1).
- Sayuti, N.A., 2015., 2015, Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*), Poltekkes Kemenkes Surakarta. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*: 5(2): 74-82.
- 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*
- Soedarto. 2015. *Buku Mikrobiologi Kedokteran*. CV Sagung seto, Jakarta.
- Sorbareeyah*, Lateh M. 2015. Formulasi Gel Tangan Sanitizer Ekstrak Etanol Buah Asam Gelugur (*Garcinia Atroviridis Griff. Et Andres*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. Fakultas farmasi Universitas Muhamadiyah Surakarta , Surakarta.
- Soeryoko H. 2011. *Kiat Pintar Memproduksi Kompos*. Andi Offset, Yogyakarta.
- Stevani H., Rohana., Dewi, R. 2019. Formulasi Sediaan Hand Sanitizer Dari Ekstrak Biji Pangi (*Pangium edule REINW*). Poltekkes Kemenkes, Makassar.
- Suaida, N., Sari, D . I., & Fitriana, M. 2017. Optimasi Sediaan Gel Fraksi Etil Asetat Buah Kasturi Dengan Kombinasi Basis CMC Na Dan Carbopol Menggunakan Metode *Simplex Lattice Design*. *Journal Current Pharmaceutical Scienc*.Vol. 1 No. 1
- Sudjono, T. A., Honniasih, M., & Pratimasari, Y. R. 2012. Pengaruh Konsentrasi Carbomer. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(2), 1- 12.
- Sugiyono, Puspita., L & Subandriani Nur D. 2014. Gambaran Pengetahuan, Sikap, Praktik Serta Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Pada Pejamah Dan Makanan Di PT PSA (Pelita

- Sejahtera Abadi). Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Syamsudin dan Bumed. 2013. *Metode Riset Kuantitatif*. Pustaka, Yogyakarta.
- Syamsuni, 2015. *Ilmu Resep*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 18-19, 21-22.
- Syahrurachman A. Chatim A. Soebandrio A, Karuniawati A. Santoso AUS, Harun BMH, .2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Penerbit Binarupa Aksara, Jakarta, hal: 125-134.
- Tansil. A. Y. M., Posangi. J., dan Bara. R. A. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal e-biomedik. Volume 4(2): Halaman 1-5.
- Tiran, Fitri Apriliyani., Nastiti, Christofori M.R.R., 2014. Aktivitas Antibakteri Lotion Minyak Kayu Manis Terhadap *Staphylococcus epidermidis* Penyebab Bau Kaki. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, Vol 11, No 2, hlm 72-80.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G. & Kaur H. 2011, *Phytochemical Screening And Extraction: A Review*, *International Pharmaceutica Sciencia*, I (1), 98- 106.
- Toy, Torar S.Soy. 2015. Uji daya Hambat Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria* sp Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal e-GIGI*. Vol 3 (1).
- Venda, D., R. J., Hesturini, Nurvita M, 2018. Perbandingan aktivitas ekstrak daun srikaya hijau dan merah (*Annona squamosal L.*) Terhadap bakteri bakteri *Staphylococcus aureus*. *Prosiding Seminar Nasional Sains*. Fakultas Farmasi Institut Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Jawa Timur.
- Wahyono, H.2010. Preventing Nosocomial Infections: Improving Compliance with Standard Precautions in An Indonesian Teaching Hospital. *Journal of Hospital Infection*, 64(1): 36-43.
- Waluyo. 2010. *Teknik Metode Dasar Mikrobiologi*. UMM Press, Jakarta.
- Wijaya, A.S. 2013. *Keperawatan Medikal Bedah 2, Keperawatan Dewasa Teori dan Askek*. Nuha Medika, Yogyakarta.
- Yuliarti, 2011. *Pengobatan Hipertensi Dengan Herbal*: Cetakan I. Agromedia Pustaka,Jakarta.

Zahrotu Romadhon, 2016, Identifikasi Bakteri Escherichia Coli dan Salmonella Sp pada Siomay yang Dijual di Kantin SD Negeri di Kelurahan Pisangan, Cirendeuy, dan Cempaka Putih. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.