

**OPTIMASI SEDIAAN GEL *HANDSANITIZER* EKSTRAK BUAH
BELIMBING WULUH DENGAN VARIASI KADAR CARBOPOL 940
DAN CMC-Na MENGGUNAKAN *MIXTURE DESIGN*
TERHADAP BAKTERI *S.Aureus* dan *E.Coli***

SKRIPSI



Oleh

FEBRY IRVANDA

1813206009

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2022

**OPTIMASI SEDIAAN GEL *HANDSANITIZER* EKSTRAK BUAH
BELIMBING WULUH DENGAN VARIASI KADAR CARBOPOL 940
DAN CMC-Na MENGGUNAKAN *MIXTURE DESIGN*
TERHADAP BAKTERI *S.Aureus* dan *E.Coli***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar
Sarjana Farmasi (S. Farm) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh:

FEBRY IRVANDA

1813206009

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2022

OPTIMASI SEDIAAN GEL *HANDSANITIZER* EKSTRAK BUAH
BELIMBING WULUH DENGAN VARIASI KADAR CARBOPOL 940
DAN CMC-Na MENGGUNAKAN *MIXTURE DESIGN*
TERHADAP BAKTERI *S.Aureus* dan *E.Coli*

SKRIPSI

Yang diajukan oleh :

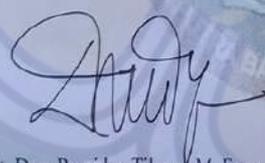
FEBRY IRVANDA

1813206009

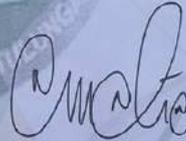
Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,



apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm.
NIDN. 07 191289 06



apt. Amalia Eka Putri, M. Farm.
NIDN : 07 281292 01

OPTIMASI SEDIAAN GEL *HANDSANITIZER* EKSTRAK BUAH
BELIMBING WULUH DENGAN VARIASI KADAR CARBOPOL 940
DAN CMC-Na MENGGUNAKAN *MIXTURE DESIGN*
TERHADAP BAKTERI *S.Aureus* dan *E.Coli*

SKRIPSI

Oleh :

FEBRY IRVANDA

1813206009

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi Program
Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal: 02 November 2022

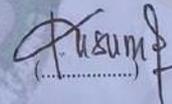
Ketua Penguji : apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm



Anggota penguji :1. apt. Amalia Eka Putri, M.Farm



2. apt. Tiara Mega Kusuma, M.Sc

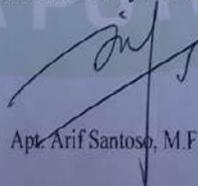


3. apt. Choirul Huda, M.Farm



Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa



Apt. Arif Santoso, M.Farm

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di 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 diterbitkan dalam daftar pustaka.

14 September 2022

Tulungagung,

Febry Irvanda





KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya yang telah memberi karunia, petunjuk, dan kemudahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian ini yang berjudul “Optimasi Formulasi Gel *Handsanitizer* Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Dengan Variasi Kadar Carbopol 940 Dan CMC-Na Menggunakan *Mixture Design* Terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai gelar Sarjana Farmasi di STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Penulis menyadari bahwa tanpa adanya bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, penyusunan skripsi penelitian ini tidak akan terselesaikan. Oleh karena itu pada kesempatan ini saya mengucapkan terima kasih yang sebesar- besarnya kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa bersama penulis baik dalam suka maupun duka, yang selalu ada dan memudahkan penulis bagaimanapun keadaan penulis.
2. Apt. Arif Santoso, M.Farm selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Wimbuh Tri Widodo, M.Si selaku Kemahasiswaan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
4. Apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm. selaku Kaprodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
5. Apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm. selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, ilmu, dan pengarahan dalam menyelesaikan proposal penelitian ini.
6. Apt. Amalia Eka Putri, M.Farm. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, ilmu, dan pengarahan dalam menyelesaikan proposal penelitian ini.

7. Apt. Tiara Mega Kusuma, M.Sc. Selaku Penguji pada Penelitian ini.
8. Apt. Choirul Huda, M.Farm. Selaku Penguji pada Penelitian ini.
9. Bapak/Ibu Dosen Program Studi S1 Farmasi beserta Staf Karyawan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah memberikan dukungan, nasehat, motivasi, bekal ilmu dan pengetahuan kepada penulis.
10. Kedua orang tua tercinta, malaikat yang nyata dalam dunia, Bapak Juwono dan Ibu Mujiati serta keluarga besar atas doa dan kasih sayangnya, dukungan moril maupun materil kepada penulis sehingga proposal ini dapat terselesaikan. Tidak ada kata yang bisa menggambarkan pengaruh kedua orang tua dalam kehidupan. Sekali lagi terimakasih sponsor utama.
11. Teman-teman seperjuangan Program Studi S1 Farmasi angkatan 2018 yang selalu bersama dalam suka maupun duka selama 4 tahun kuliah ini dan telah membantu memberikan masukan dan dukungan hingga proposal ini dapat terselesaikan. Saya benar-benar bangga pernah menemui orang-orang hebat seperti kalian.
12. Untuk Teman-teman yang selalu memberi dukungan, motivasi, semangat dalam penyusunan skripsi penelitian ini mulai perancangan judul hingga dapat terselesaikan.
13. Serta untuk pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan doa, dukungan, semangat, bantuan yang telah penulis terima baik psikis maupun nampak hingga terwujudnya skripsi penelitian ini, penulis sangat menyayangi kalian.

Atas bantuan dan segala amal baik yang telah diberikan, semoga Allah SWT membalas dengan pahala yang setimpal, dengan sesuatu yang baik. Besar harapan dari penulis semoga skripsi penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan tidak lepas dari kesalahan, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dalam membantu menyempurnakan

skripsi penelitian ini. Semoga skripsi ini dapat berguna bagi pengembangan ilmu pengetahuan di dunia kefarmasian dan masyarakat luas.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Tulungagung, Maret 2022

Penulis,

Febry irvanda

NIM : 1813206009



DAFTAR ISI

SKRIPSI.....	i
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 LATAR BELAKANG	1
1.2 RUMUSAN MASALAH	4
1.3 TUJUAN	4
1.4 MANFAAT	4
1.4.1 Bagi Peneliti.....	4
1.4.2 Bagi Instansi.....	5
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kulit	6
2.1.1 Anatomi Kulit.....	6
2.1.2 Fungsi Kulit.....	6
2.2 Tinjauan Tanaman Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L</i>)	7
2.2.1 Klasifikasi.....	7
2.2.2 Morfologi tanaman buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L</i>).....	8
2.2.3 Manfaat belimbing wuluh.....	8
2.2.4 Kandungan kimia buah belimbing wuluh.....	8
2.3 Simplisia	10
2.3.1 Pengertian simplisia.....	10
2.4 Syarat simplisia	11
2.5 Pembuatan simplisia secara umum	11

2.5.1	Sortasi Basah.....	12
2.5.2	Pencucian.....	12
2.5.3	Perajangan.....	12
2.5.4	Pengeringan.....	12
2.5.5	Sortasi Kering.....	13
2.5.6	Penyimpanan.....	13
2.6	Penghalusan Simplisia	13
2.7	Metode Ekstraksi	14
2.7.1	Cara dingin dapat dilakukan dengan cara:.....	15
2.7.2	Cara panas dapat dilakukan dengan cara:.....	16
2.8	Pelarut	17
2.8.1	Etanol.....	17
2.8.2	Aquadestilata.....	17
2.8.3	N-Heksan.....	18
2.8.4	Diklorometana.....	18
2.9	Gel	18
2.9.1	Tinjauan Tentang Komponen Pembentuk Gel.....	19
2.10	Tinjauan Tentang Evaluasi Gel	20
2.10.1	Uji organoleptik.....	20
2.10.2	Uji Homogenitas.....	20
2.10.3	Uji daya sebar.....	20
2.10.4	Uji pH.....	20
2.10.5	Uji daya lekat.....	20
2.10.6	Uji Viskositas.....	21
2.11	Tinjauan Tentang <i>Hand Sanitizer</i>	21
2.12	Bakteri	21
2.12.1	Definisi Bakteri.....	21
2.12.2	Golongan Bakteri.....	22
2.12.3	Bakteri Gram Positif.....	22
2.12.4	Bakteri Gram Negatif.....	22
2.13	<i>Staphylococcus aureus</i>	22

2.13.1	Klasifikasi.....	22
2.13.2	Morfologi.....	23
2.14	<i>Escherichia Coli</i>	24
2.14.1	Klasifikasi.....	24
2.14.2	Morfologi.....	24
2.15	Antibakteri Pembanding atau Kontrol Positif	25
2.15.1	Mekanisme Kerja Antibakteri.....	26
2.16	Antiseptik	27
2.17	Uji Aktivitas Antibakteri	27
2.17.1	Metode Difusi	28
2.18	Metode Optimasi	29
2.19	Hipotesis	30
BAB III METODE PENELITIAN.....		31
3.1	Alat dan Bahan	31
3.1.1	Alat.....	31
3.1.2	Bahan.....	31
3.2	Populasi dan Sampel	31
3.3	Desain Penelitian	31
3.4	Variabel Penelitian	32
3.4.1	Variabel <i>Independent</i> (Bebas).....	32
3.4.2	Variabel <i>Dependent</i> (Terikat).....	32
3.4.3	Variabel Terkontrol.....	32
3.5	Definisi Operasional	32
3.6	Metode Penelitian	34
3.6.1	Determinasi Tanaman.....	34
3.6.2	Pembuatan Simplisia.....	34
3.6.3	Uji kadar air serbuk simplisia.....	34
3.6.4	Uji susut pengeringan simplisia.....	35
3.6.5	Pembuatan ekstrak belimbing wuluh menggunakan metode maserasi	35

3.6.6	Identifikasi bebas alkohol.....	35
3.6.7	Skrining Fitokimia.....	36
3.7	Formulasi Gel	37
3.7.1	Formulasi Standart.....	37
3.7.2	Formulasi Modifikasi Sediaan Gel.....	38
3.8	Metode SLD	39
3.9	Cara pembuatan gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	39
3.10	Evaluasi sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	40
3.11	Analisa Hasil SLD	41
3.12	Uji Aktivitas Antibakteri Gel	41
3.13	Analisa Statistiska	43
3.14	Analisis Hasil	45
3.14.1	Hasil Gel <i>Handsanitizer</i>	45
3.14.2	Hasil Penentuan Formula Optimum sediaan gel <i>Handsanitizer</i> dengan <i>gelling agent</i> CMC-Na dan Carbopol 940	45
3.14.3	Hasil Verifikasi Formula Optimum sediaan gel <i>Handsanitizer</i> dengan <i>gelling agent</i> CMC-Na dan Carbopol 940	46
3.15	Kerangka Kerja	47
BAB IV.....		48
HASIL & PEMBAHASAN.....		48
4.1	Destirminasi Tanaman	48
4.2	Pembuatan Simplisia Buah Belimbing Wuluh	48
4.3	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	49
4.3.1	Uji kadar air serbuk simplisia.....	49
4.3.2	Uji Susut Pengeringan simplisia.....	50
4.3.3	Uji rendemen ekstrak.....	50
4.4	Uji Bebas Etanol.....	51

4.5	Skrining Fitokimia	52
4.5.1	Skrining Fitokimia Ekstrak.....	52
4.5.2	Uji Flavonoid.....	53
4.5.3	Uji Tanin.....	54
4.5.4	Uji Saponin.....	55
4.5.5	Uji Terpenoid.....	56
4.6	Formulasi Sediaan Gel	57
4.7	Formulasi Optimum	62
4.8	Nilai Respon Formulasi Sediaan Gel Menggunakan Metode SLD	58
4.9	Uji Stabilitas Sediaan Gel <i>Hand sanitizer</i>	63
4.9.1	Uji Organoleptis.....	64
4.9.2	Uji pH.....	65
4.9.3	Uji Homogenitas.....	66
4.9.4	Uji Daya Sebar.....	67
4.9.5	Uji Daya Lekat.....	68
4.9.6	Uji Viskositas.....	69
4.10	Uji Aktivitas Antibakteri	70
4.10.1	Pewarnaan Gram Bakteri <i>S.aureus</i> ATCC 23235 dan <i>E.coli</i> ATCC 25922	70
4.11	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 23235	72
4.12	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	77
BAB V.....		82
PENUTUP.....		82
5.1	Kesimpulan	82
5.2	Saran	82
DAFTAR PUSTAKA.....		83



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur kulit.....	5
Gambar 2.2 Belimbing wuluh.....	6
Gambar 2.3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	22
Gambar 2.4 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	23
Gambar 4.1 Uji Bebas Etanol.....	52
Gambar 4.2 Uji Flavonoid.....	54
Gambar 4.3 Uji Tanin.....	55
Gambar 4.4 Uji Saponin.....	55
Gambar 4.5 Uji Terpenoid.	56
Gambar 4.6 Hasil gambar dari persamaan respon.....	60
Gambar 4.7 Desirability Formula Optimum Sediaan Gel.....	63
Gambar 4.8 Uji Organoleptis.....	64
Gambar 4.9 Grafik pH sediaan gel selama 4 minggu.....	65
Gambar 4.10 Uji Homogenitas.....	67
Gambar 4.11 Grafik dari pengukuran uji daya sebar.....	67
Gambar 4.12 Grafik pengukuran uji daya lekat.....	68
Gambar 4.13 Grafik viskositas sediaan gel.....	69
Gambar 4.14 Pewarnaan Gram Bakteri <i>S.aureus</i> dan Bakteri <i>E.coli</i>	71
Gambar 4.15 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	73
Gambar 4.16 Diagram zona hambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 23235.....	74
Gambar 4.17 Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	78
Gambar 4.18 Diagram zona hambat bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	79

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi serbuk berdasarkan derajat halus	13
Tabel 3.1 Formulasi Standart	35
Tabel 3.2 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat.....	43
Tabel 3.3 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat.....	43
Tabel 4.1 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia.....	49
Tabel 4.2 Uji Susut Pengeringan simplisia.....	50
Tabel 4.3 Hasil Uji Rendemen Ekstrak Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>).....	50
Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>).....	51
Tabel 4.5 Hasil Skrining Fitokimia Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>).....	53
Tabel 4.6 Formula sediaan gel.....	57
Tabel 4.7 Variasi konsentrasi kombinasi CMC-Na dan carbopol 940 hasil <i>design expert</i>	58
Tabel 4.8 Nilai Uji daya lekat, daya sebar dan Uji viskositas masing-masing run formula.....	59
Tabel 4.9 Hasil Persamaa Respon.....	60
Tabel 4.10 Prediksi komposisi dan respon formulasi hasil software.....	62
Tabel 4.11 Hasil Uji pH sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh.....	65
Tabel 4.12 Hasil uji homogenitas.....	66
Tabel 4.13 Hasil uji daya sebar.....	67
Tabel 4.14 Hasil uji daya lekat	68
Tabel 4.15 Hasil uji viskositas.....	69
Tabel 4.16 Hasil uji aktivitas antibakteri <i>S.aureus</i>	73
Tabel 4.17 Hasil Uji Tukey Subset ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC23235.....	74
Tabel 4. 18 Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i>	78

Tabel 4.19 Hasil Uji Tukey Subset ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	ATCC
25922.....			79



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Buah Belimbing Wuluh.....	91
Lampiran 2. Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	92
Lampiran 3. Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 23235.....	93
Lampiran 4. Lampiran Dokumentasi Penelitian.....	94
Lampiran 5. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri.....	98
Lampiran 6. Perhitungan Hasil.....	98
Lampiran 7. Formulasi dan Perhitungan Bahan Sediaan Gel.....	99
Lampiran 8. Uji optimasi menggunakan <i>software Design Expert</i>	108
Lampiran 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 23235.....	113
Lampiran 10. Hasil uji man-whiney gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 23235.....	113
Lampiran 11. Hasil analisis data sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	114
Lampiran 12. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	118
Lampiran 13. Hasil uji Mann-Whitney sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	118
Lampiran 14. Hasil analisis data sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	119
Lampiran 15. Alur kerja.....	123

**OPTIMASI SEDIAAN GEL *HANDSANITIZER* EKSTRAK BUAH
BELIMBING WULUH DENGAN VARIASI KADAR CARBOPOL 940
DAN CMC-Na MENGGUNAKAN *MIXTURE DESIGN*
TERHADAP BAKTERI *S.Aureus* dan *E.Coli***

Febry Irvanda

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) mempunyai efektivitas sebagai antimikroba bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri tersebut dikarenakan adanya kandungan senyawa aktif berkhasiat yang terdapat di dalamnya yaitu Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol, dimana senyawa fenol dapat bersifat antifungi dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak buah belimbing wuluh dengan konsentrasi *gelling agent* CMC-Na 5,17 dan Carbopol 940 0,83 terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Salah satu metode dalam *mixture design* adalah *simplex lattice design* (SLD). Dari hasil perbandingan *gelling agent* tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai *desirability* formula optimum 0,841. Nilai *desirability* yang semakin mendekati nilai 1,000 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna. Metode penyarian ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 10%. Dalam konsentrasi tersebut dilakukan uji aktivitas antibakterinya dan sediaan gel diuji efektivitasnya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi kertas cakram. Data dianalisis dengan *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri “sedang” dengan rata-rata zona hambat sebesar 8,4 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan 7,2 mm pada bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci : Buah belimbing wuluh, *Mixture Design*, CMC-Na, Carbopol 940, dan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli*.

**OPTIMIZATION OF A PREPARATION OF HANDSANITIZER GEL
EXTRACT OF WULUH *Starfruit* FRUIT WITH VARIATIONS OF
CARBOPOL 940 LEVELS AND CMC-Na USING *MIXTURE DESIGN*
AGAINST BACTERIA *S.Aureus* and *E.Coli***

**Febry Irvanda
S1 Pharmacy Study Program**

ABSTRACT

Wuluh star fruit (*Averrhoa bilimbi* L) has effectiveness as an antimicrobial against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The antibacterial activity is due to the active compounds contained in it, namely flavonoids, which are the largest group of phenolic compounds, where phenolic compounds can be antifungal and antibacterial. This study aimed to test the antibacterial activity of star fruit extract with a concentration of gelling agent CMC-Na 5.17 and Carbopol 940 0.83 against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. One method in the mixture design is the *simplex lattice design* (SLD). From the results of the comparison of the gelling agent, it can be concluded that the desirability value of the optimum formula is 0.841. The desirability value that is getting closer to the value of 1,000 indicates the program's ability to produce the desired product is getting more perfect. Extract extraction method used in this study is a maceration method with 96% ethanol solvent. The concentration of the extract used was 10%. In this concentration, the antibacterial activity was tested and the gel preparation was tested for its effectiveness against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* using the paper disc diffusion method. Data were analyzed by *Kruskal-Wallis* and *Mann-Whitney*. The results showed that star fruit extract gel preparations had "moderate" antibacterial activity with an average inhibition zone of 8.4 mm for *Staphylococcus aureus* bacteria and 7.2 mm for *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: star fruit, *Mixture Design*, CMC-Na, Carbopol 940, and *Staphylococcus aureus* and *Escherichia Coli*.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri jamur dan parasit dapat menyebabkan alergi biasanya bisa terjadi pada kulit (Departemen Kesehatan RI, 2007). Penyakit kulit di Indonesia pada umumnya lebih banyak disebabkan oleh infeksi bakteri, jamur, parasit, dan penyakit dasar alergi (Siregar, 2015). Kulit menutupi permukaan tubuh dan memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan luar (Tranggono, 2007). Kulit merupakan pertahanan utama terhadap bakteri dan apabila kulit tidak lagi utuh. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang paling sering ditemukan di kulit (Gould *et al.*, 2003). Karimela *et al.* (2013) menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang paling dominan 80,33% mengkontaminasi. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan beberapa penyakit diantaranya bisul, jerawat, pneumonia, meningitis, dan artritis. Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini memproduksi nanah (Madigan *et al.*, 2008). Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang sering menyebabkan diare pada manusia yang dapat ditularkan melalui air maupun tangan yang kotor (Noviardi *et al.*, 2018).

Pengobatan utama yang dikarenakan oleh bakteri yaitu melalui penggunaan antibakteri. Salah satu alternatif dalam penggunaan antibakteri adalah *Handsantizer*. *Handsantizer* adalah produk kesehatan yang secara instant dapat mematikan kuman tanpa menggunakan air, dapat digunakan kapan saja, sebelum makan, dan setelah membuang sampah. Sediaan *Handsantizer* pada umumnya berbentuk gel yang memiliki kemampuan antibakteri yang dapat menghambat hingga membunuh bakteri (Sari and Isadiartuti, 2006). Banyak tanaman yang terbukti berpotensi sebagai antibakteri, salah satunya yaitu belimbing wuluh.

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) merupakan salah satu tanaman buah asli Indonesia dan daratan Malaya yang banyak ditemui sebagai tanaman pekarangan yang mudah ditanam dan tidak memerlukan perawatan khusus sehingga kemampuannya dalam menghasilkan buah sepanjang tahun terbuang sia-sia (Litbangkes, 2001). Buah belimbing wuluh mempunyai rasa asam yang tinggi dan kadar air buah yang tinggi sehingga kurang disukai untuk dimakan langsung sebagai buah seperti halnya belimbing manis (Shanti, 2008). Hasil dari uji skrining fitokimia terhadap ekstrak kental metanol buah belimbing wuluh diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen saponin, terpenoid dan minyak atsiri dengan kandungan utamanya adalah flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol, dimana senyawa fenol dapat bersifat antifungi dan antibakteri (Rahayu, 2013). Sampai saat ini belimbing wuluh telah diformulasikan dalam beberapa bentuk sediaan topikal antara lain sabun (Nurama, 2014), krim (Tisnadiyah, 2017), lotion (Fadhilah, 2013) dan gel (Ikhsanuddin and Mardiyah, 2017). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh efektif sebagai antimikroba bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak 10% (Arifianti *et.al.*, 2014). Konsentrasi ekstrak 10% atau konsentrasi paling rendah pada penelitian ini mampu menghambat pertumbuhan antibakteri dan menghasilkan diameter zona hambat (Ngajow *et al.*, 2013).

Gel memiliki beberapa keunggulan sebagai sediaan farmasi dibandingkan sediaan topikal lainnya, antara lain tidak lengket, menyerap dengan baik, transparan, lembut, mudah diaplikasikan, dan tidak mengeringkan kulit (Fatmawaty *et al.*, 2015). Bahan utama untuk membuat gel adalah CMC-Na dan Carbopol 940 umumnya digunakan berbasis gel. Basis CMC-Na memiliki kelebihan antara lain memiliki nilai pH yang lebih tinggi dari Carbopol 940 sebesar 2-10 dan daya sebar yang lebih besar (Maulina and Sugihartini, 2015). CMC-Na dapat membentuk larutan koloid dalam air sehingga komposisi gel yang diperoleh tidak jernih. ditandai dengan bintik-bintik pada sediaan (Rowe *et al.*, 2009). Carbopol adalah basis gel yang bila diformulasikan membentuk gel jernih, yang menyebar dengan baik pada kulit, memiliki efek mendinginkan, tidak

menyumbat pori-pori kulit dan mudah dicuci dengan air, tetapi carbopol memiliki pH yang asam (2,5-4,5), diperlukan trietanolamina (TEA) sebagai bahan dasar untuk menetralkan pH carbopol 940 dan dapat meningkatkan viskositas sediaan (Hasyim, *et al.* 2011).

Formulasi hasil penelitian gel buah belimbing wuluh dengan basis CMC-Na yang dilakukan oleh Ikhsanuddin dan Mardhiyah (2017) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi basis gel CMC-Na dapat mengurangi daya sebar dan daya lekat gel, sehingga perlu ditingkatkan dengan mengoptimalkan optimasi basis CMC-Na dan carbopol 940 untuk mendapatkan komposisi yang baik dengan daya lekat dan daya sebar yang baik. Hal ini karena CMC-Na memiliki ikatan hidrogen yang lebih banyak, sehingga titik didihnya lebih tinggi dan ukuran molekulnya akan lebih besar. Hal ini meningkatkan viskositas komposisi gel (lebih kental) dan oleh karena itu harus ditingkatkan dengan mengoptimalkan basis CMC-Na dan carbopol 940 untuk mendapatkan sediaan dengan daya lekat yang sesuai. Penggunaan carbopol 940 sebagai dasar formulasi gel oleh Hidayanti dkk., (2015) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi carbopol 940 dapat mengurangi daya sebar, meningkatkan pH dan menimbulkan lebih banyak busa, yang dapat menyebabkan kerusakan lebih cepat pada sediaan. Konsentrasi Carbopol 940 0,5% meningkatkan daya sebar, pH dari 6-8, homogen dan busa lebih sedikit. Berdasarkan pertimbangan tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang optimasi formula gel dari ekstrak buah belimbing wuluh menggunakan perangkat lunak *design expert* dengan metode *Simplex Lattice Design* (SLD). Parameter yang dilihat dari respon meliputi pH, daya sebar, dan daya lekat (Susanto, 2008).

Salah satu metode dalam *mixture design* adalah *simplex lattice design* (SLD). *Simplex lattice design* adalah metode optimasi yang digunakan untuk menentukan formula optimum suatu campuran bahan dengan proporsi jumlah total suatu bahan yang berbeda harus 1 (100%). Bahan atau faktor yang digunakan dalam optimasi adalah minimal terdiri dari dua bahan yang berbeda. Faktor dalam *mixture design* akan menentukan ruang desain atau daerah uji. Metode *Simplex Lattice Design* (SLD) merupakan metode yang digunakan untuk menentukan sediaan yang paling

optimal dari dua campuran atau lebih (Bolton, 1997). Metode ini merupakan metode yang paling sederhana serta lebih efektif dan efisien karena lebih murah dan tidak perlu membutuhkan banyak tenaga (Ermawati dkk., 2017). Tujuan dari metode SLD ini adalah untuk menentukan konsentrasi bahan yang tepat, menghindari *trial error* dalam formulasi, menghasilkan formulasi yang cepat praktis dengan sifat fisik yang optimal dan respon yang dapat diterima konsumen (Maghfiroh, 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut akan dilakukan “Optimasi Sediaan Gel *Handsanitizer* Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Dengan Variasi Kadar Carbopol 940 Dan CMC-Na Menggunakan *Mixture Design* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”.

1.2. RUMUSAN MASALAH

- 1.2.1. Variasi konsentrasi kombinasi *gelling agent* manakah yang menghasilkan karakteristik fisik gel *handsanitizer* paling optimal ?
- 1.2.2. Apakah formulasi sediaan gel *handsanitizer* ekstrak buah belimbing wuluh memiliki aktivitas terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*?

1.3 TUJUAN

- 1.3.1 Untuk mengetahui variasi konsentrasi kombinasi *gelling agent* manakah yang menghasilkan karakteristik fisik gel *handsanitizer* paling optimal.
- 1.3.2 Untuk mengetahui formulasi sediaan gel *handsanitizer* ekstrak buah belimbing wuluh memiliki aktivitas terhadap terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

1.4 MANFAAT

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan dan memanfaatkan tanaman buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) untuk sediaan gel *Handsanitizer* sebagai antibakteri.

1.4.2 Bagi Instansi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan suatu informasi ilmiah terkait pemanfaatan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) sebagai acuan dalam penelitian selanjutnya.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan untuk memudahkan masyarakat dalam menggunakan dan memanfaatkan tanaman buah belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi L*) dalam kehidupan sehari-hari.

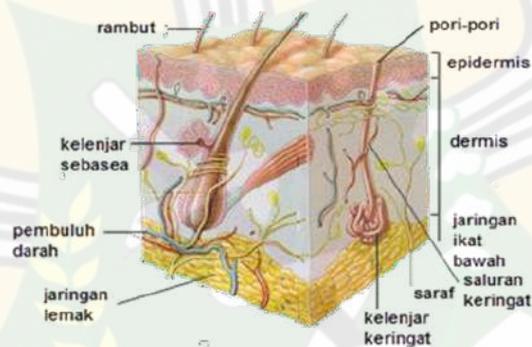


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit adalah organ tubuh yang terletak paling luar, menutupi dan melindungi permukaan tubuh, berhubungan dengan selaput lendir yang melapisi rongga-rongga, lubang-lubang masuk. Luas kulit orang dewasa 1.5 m² dengan berat kira-kira 15 % berat badan. Kulit merupakan organ esensial dan vital serta merupakan cermin kesehatan dan kehidupan. Kulit juga sangat kompleks, elastis dan sensitif bervariasi pada berbagai keadaan iklim, umur seks, ras, dan juga bergantung pada lokasi tubuh (Djuanda A, 2002).



Gambar 2.1 Struktur kulit (Wida 2015)

2.1.1 Anatomi Kulit

Pembagian kulit secara garis besar terdiri dari tiga lapisan utama yaitu. Lapisan epidermis terdiri atas stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum, dan stratum basale. Lapisan dermis adalah lapisan bawah epidermis yang jauh lebih tebal daripada epidermis. Lapisan ini terdiri atas lapisan elastis dan fibrosa padat dengan elemen-elemen seluler dan folikel rambut (Djuanda A,2002).

2.1.2 Fungsi Kulit

Fungsi utama kulit adalah proteksi, absorpsi, presepsi, ekskresi pengaturan suhu tubuh, pembentukan pigmen, pembentukan vitamin D, dan kreatinisisasi. Kulit memiliki lapisan kulit yang berfungsi sebagai pelindung tubuh dari tiap bagian lapisan kulit terdalam sampai luar. Kulit yang sehat tidak mudah menyerap air,

larutan dan benda padat, tetapi cairan yang mudah menguap, lebih mudah diserap begitupun yang larut lemak. Kulit mengandung ujung-ujung saraf sensorik di dermis dan subkutis. Kelenjar-kelenjar kulit mengeluarkan zat-zat yang tidak berguna lagi atau sisa metabolisme dalam tubuh berupa natrium klorida, urea, asam urat dan amonia. Kulit mengeluarkan keringat dan mengerutkan pembuluh darah kulit. Sel pembentuk pigmen (melanosit). Terletak di lapisan basal. Kretinisasi terjadi melalui proses sintesis dan degradasi menjadi lapisan tanduk. Dimungkinkan dengan mengubah 7-dehidro kolestrol dengan pertolongan sinar matahari. Tetapi kebutuhan tubuh akan vitamin D tidak cukup dari hal tersebut, sehingga pemberian vitamin D sistemik masih diperlukan (Djuanda A, 2002).

2.2 Tinjauan Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)



Gambar 2.2 Belimbing wuluh (Kumar *et al.*, 2013)

2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi buah belimbing wuluh sebagai berikut : (Kumar *et al.*, 2013)

- Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)
- Subkingdom : *Tracheobionta* (Tumbuhan berpembuluh)
- Super divisi : *Spermatophyta* (Menghasilkan biji)
- Divisi : *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : *Dicotyledonae* (Berkeping dua)
- Sub kelas : *Rosidae*
- Ordo : *Oxalidales*
- Famili : *Oxalidaceae* (Suku belimbing-belimbingan)
- Genus : *Averrhoa*
- Spesies : *Averrhoa bilimbi* L

2.2.2 Morfologi tanaman buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*)

Pohon belimbing wuluh tingginya mencapai 10 m, memiliki *batang* kasar dan berbenjol-benjol dan pohonnya kecil. Tanaman ini memiliki cabang sedikit, arahnya condong keatas, memiliki bulu halus seperti beludru berwarna coklat muda. Belimbing wuluh berdaun majemuk, terdiri atas 21-45 pasang daun. Bunga belimbing wuluh berkelompok, keluar pada batang dan cabang-cabangnya menggantung panjangnya 5-20 cm. Mahkota Bungan belimbing wuluh berbentuk elips dengan panjang 13-20 mm, bunganya berwarna ungu gelap dan bagian pangkalnya ungu muda. Buah belimbing wuluh berbentuk lonjong sampai berbentuk galah, panjangnya 4-6,5 cm. berwarna hijau kekuningan, rasa buahnya asam dan memiliki biji berbentuk bulat telur agak gepeng (BPOM, 2006).

2.2.3 Manfaat belimbing wuluh

Buah belimbing wuluh dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit seperti batuk, sariawan, perut sakit, gondongan, remaik, batuk rejan, gusi berdarah, sariawan, sakit gigi berlubang, jerawat, panu, tekanan darah tinggi, kelumpuhan, memperbaiki fungsi pencernaan, dan radang rectum (Parikesit, 2011).

2.2.4 Kandungan kimia buah belimbing wuluh

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) mengandung banyak vitamin C alami yang berguna sebagai penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap penyakit. Belimbing wuluh mempunyai kandungan unsur kimia yang disebut asam oksalat dan kalium. Menurut Herlih (1993), dalam Rahayu (2013) dari hasil pemeriksaan kandungan kimia buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) mengandung golongan senyawa oksalat, minyak menguap, fenol, flavonoid, dan pektin. Herbie (2015) menyebutkan batang belimbing wuluh mengandung saponin, tannin, glukosida, kalsium oksalat, sulfur, asam format, peroksidase. Sedangkan daunnya mengandung tannin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat, dan kalium sitrat. Buah belimbing wuluh mengandung banyak zat tannin, saponin, glukosida sulfur, asam format, peroksida, flavonoid, serta terpenoid. Karena rasanya yang sangat masam, sudah bisa dipastikan bahwa belimbing wuluh juga mengandung banyak vitamin C (Gendrowati, 2015).

Ekstrak etanol buah belimbing wuluh menunjukkan uji positif pada pengujian flavanoid dan terpenoid (Rahayu, 2013).

2.2.4.1 Flavonoid

Flavonoid adalah pigmen tumbuhan, bertanggung jawab atas warna bunga, buah, dan kadang daun. Bila tidak langsung terlihat, mereka sering bertindak sebagai *co-pigmen*. pigmen flavon dan flavonol tak berwarna melindungi jaringan tanaman dan senyawa seperti antosianin terhadap kerusakan radiasi ultraviolet (Hoffmann, 2003). Hasil penelitian ini senyawa flavonoid bersifat aktif sebagai antimikroba. Senyawa flavonoid merupakan salah satu antimikroba yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Flavonoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, butanol, dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Denaturasi protein menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein. Fungsi membran sel yang terganggu dapat menyebabkan meningkatnya permeabilitas sel, sehingga mengakibatkan kerusakan sel jamur. Kerusakan tersebut menyebabkan kematian sel jamur. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat menyebabkan denaturasi protein dan berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur. Denaturasi protein dapat merusak sel secara permanen dan tidak bisa diperbaiki lagi (Rahayu, 2013).

2.2.4.2 Saponin

Saponin adalah sekelompok glikosida tanaman yang dapat larut dalam air dan dapat menempel pada steroid lipofilik (C_{27}) atau triterpenoid (C_{30}) (Hoffmann, 2003). Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Hal ini akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan and Aryana, 2015).

2.2.4.3 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. (Sumardjo, 2009). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya perumbuhan sel bakteri dan pada akhirnya bakteri akan mati (Retnowati, Bialangi and Posang, 2011).

2.2.4.4 Tanin

Tanin adalah zat organik yang ada dalam ekstrak tumbuhan yang dapat larut dalam air, merupakan senyawa polifenol ($C_6-C_3-C_6$) yang mengendapkan protein dan membentuk kompleks dengan polisakarida, dan terdiri dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam (Hoffmann, 2003). Mekanisme antimikroba tanin berkaitan dengan kemampuan tannin membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga terjadi gangguan pada dinding bakteri dan bakteri lisis (Sujatmiko., 2014 ; Sumardjo., 2009).

2.3 Simplisia

2.3.1 Pengertian simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan yang dipergunakan sebagai obat (Depkes RI, 2000). Simplisia harus memenuhi persyaratan untuk menjamin keseragaman senyawa aktif dan menjamin keamanan dalam penggunaannya. Faktor yang mempengaruhi persyaratan mutu yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia, cara pengepakan dan penyimpanan simplisia. Simplisia dibedakan menjadi 3 jenis yaitu :

2.3.1.1 Simplisia Nabati

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar

dari tanaman atau isi sel yang dikeluarkan dengan cara tertentu dari selnya (Depkes RI, 2000).

2.3.1.2 Simplisia hewani

Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian dari hewan atau zat yang dihasilkan dari hewan yang belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1979).

2.3.1.3 Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia pelikan atau mineral merupakan simplisia yang berasal dari bumi, baik telah diolah maupun belum diolah dan tidak berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1979).

2.4 Syarat simplisia

Simplisia yang aman dan berkhasiat adalah simplisia yang tidak mengandung bahaya kimia, mikrobiologis dan bahaya fisik, serta mengandung zat aktif yang berkhasiat. Ciri simplisia yang adalah dalam kondisi kering (kadar air <10% untuk simplisia daun, bila diremas bergemerisik dan berubah menjadi serpihan, simplisia bunga bila diremas bergemerisik dan berubah menjadi serpihan atau mudah dipatahkan, dan simplisia buah dan rimpang (irisan) bila diremas mudah dipatahkan. Ciri lain simplisia yang baik adalah tidak berjamur dan berbau khas menyerupai bahan segarnya (Herawati *et al.*, 2012).

Standarisasi suatu simplisia tidak lain pemenuhan terhadap persyaratan sebagai bahan dan penetapan nilai berbagai parameter dari produk seperti yang ditetapkan sebelumnya. Standarisasi simplisia mempunyai pengertian bahwa simplisia yang akan digunakan yang tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen Kesehatan (Materia Medika Indonesia). Sedangkan sebagai produk yang langsung dikonsumsi (serbuk jamu) masih harus memenuhi persyaratan produk kefarmasian sesuai dengan peraturan yang berlaku (Depkes RI, 2000).

2.5 Pembuatan simplisia secara umum

Untuk menghasilkan simplisia yang bermutu dan terhindar dari cemaran umumnya dilakukan tahapan kegiatan berikut ini :

2.5.1 Sortasi Basah

Proses ini dilakukan untuk memisahkan kotoran maupun bahan asing. Sebagai contoh jika digunakan dari akar maka tumbuhan obat harus bebas dari tanah, kerikil, rumput dan bahan asing lain (Badan POM RI, 2013).

2.5.2 Pencucian

Proses pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lain. Pencucian dibutuhkan air bersih dalam prosesnya dan pencucian dilakukan dalam waktu singkat untuk bahan simplisia yang mengandung zat aktif yang larut air. Proses ini tidak menghilangkan seluruh mikroba karena air yang digunakan biasanya mengandung sejumlah mikroba. Pada bahan simplisia akar, batang atau buah dapat dilakukan pengupasan kulit luar untuk mengurangi jumlah mikroba (Badan POM RI, 2013).

2.5.3 Perajangan

Proses perajangan dilakukan untuk memperluas permukaan bahan sehingga dapat mempermudah proses ekstraksi, pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang dikeringkan maka semakin cepat penguapan air dan mempercepat waktu pengeringan. Irisan yang terlalu tipis juga mengakibatkan berkurangnya khasiat yang mudah menguap (Badan POM RI, 2013).

2.5.4 Pengeringan

Tujuannya yaitu untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10%. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi 60°C, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah

mungkin, misalnya 30°C-40°C. Terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan (menggunakan instrumen).

2.5.5 Sortasi Kering

Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan dari benda asing, kotoran - kotoran yang masih menempel, dan simplisia yang rusak akibat proses yang dilakukan sebelumnya. Hal ini dilakukan untuk memilih simplisia kering yang bermutu baik (Badan POM RI, 2013).

2.5.6 Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saing tercampur antara simplisia satu dengan yang lainnya. Selanjutnya, wadah-wadah yang berisi simplisia disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan. Untuk persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus inert, artinya tidak mudah bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan kandungan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen, dan uap air (Depkes RI, 2000).

2.6 Penghalusan Simplisia

Serbuk adalah campuran homogen dua atau lebih obat yang diserbukkan. Pada pembuatan serbuk kasar, terutama simplisia nabati, digerus lebih dulu sampai derajat halus tertentu setelah itu dikeringkan pada suhu tidak lebih dari 60°C (Anief, 2007).

Tabel 2.1 Klasifikasi serbuk berdasarkan derajat halus (Hertiani, 2012)

Nomor Pengayak	Ukuran (pm)	Derajat Kehalusan
8	2360	Serbuk sangat kasar
20	850	Serbuk kasar
40	425	Serbuk agak kasar
60	250	Serbuk halus
80	180	Serbuk sangat halus

Derajat kehalusan simplisia perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi. Dengan kehalusan simplisia penting untuk mengupayakan agar penarikan dapat berlangsung semaksimal mungkin, kehalusan menyangkut luas permukaan yang akan berkontak dengan pelarut untuk ekstraksi (Agoes, 2007).

Kadar air serbuk dari simplisia harus kurang dari 10%. Karena reaksi enzimatik tidak berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10%. Dengan demikian proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10% (Prasetyo and Entang, 2013).

Menurut Farmakope Indonesia dalam penetapan derajat halus serbuk simplisia nabati dan simplisia hewani, tidak ada bagian dari obat yang dibuang selama penggilingan atau pengayakan, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.

2.7 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut seperti minyak atsiri, alkaloid, flavonoid sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut seperti protein, karbohidrat, serat dengan menggunakan pelarut cair. Kandungan senyawa aktif pada simplisia dapat mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI, 2000). Beberapa metode ekstraksi yang digunakan yaitu sebagai berikut :

2.7.1 Cara dingin dapat dilakukan dengan cara:

2.7.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan proses pengekstraksian menggunakan pelarut dengan beberapa kali penggojokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau suhu kamar (Depkes RI, 2000). Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari seperti air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Perbandingan antara bahan dan pelarut yang digunakan pada metode maserasi adalah 1 : 2 atau merendam 1 bagian simplisia dengan derajat kehalusan tertentu dengan pelarut (Dwi Ratna *et al.*, 2015). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan akan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel akan menyebabkan zat aktif terlarut dalam cairan penyari (Depkes RI, 1986).

Maserasi digunakan untuk ekstraksi simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak dan lain-lain. Keuntungan ekstraksi maserasi yaitu cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan. Maserasi dapat dilakukan modifikasi yaitu dengan remaserasi. Cairan penyari pada proses remaserasi dibagi menjadi dua kemudian seluruh serbuk simplisia dimaserasi menggunakan cairan penyari pertama. Filtrat hasil maserasi pertama dimaserasi kembali dengan cairan penyari kedua (Depkes RI, 1986).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fauzana (2010), hasil rendemen dari metode remaserasi menghasilkan jumlah rendemen yaitu sekitar 15,60% sampai 16,70% sedangkan metode maserasi menghasilkan rendemen sekitar 12,20% sampai 12,60%. Hal ini disebabkan karena residu pelarut pada ekstraksi 14 remaserasi merupakan pelarut baru sehingga pelarut belum mengalami kejenuhan dan memiliki kemampuan mengekstrak lebih tinggi.

2.7.1.2 Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang pengerjaannya dilakukan pada suhu atau temperatur ruang. Proses ekstraksi menggunakan metode perkolasi menggunakan alat yang disebut perkolator (Depkes RI, 2000).

2.7.2 Cara panas dapat dilakukan dengan cara:

2.7.2.1 Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut pada suhu titik didihnya yang dilakukan pada waktu tertentu dan jumlah pelarut yang digunakan terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Pada dasarnya proses ekstraksi refluks memerlukan alat khusus dan perlakuan pengulangan proses pada residu pertama hingga 3-5 kali sehingga didapatkan ekstraksi yang sempurna (Depkes RI, 2000).

2.7.2.2 Sokletasi

Sokhlet merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dan pada umumnya proses ini dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi proses ekstraksi secara kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Depkes RI, 2000).

2.7.2.3 Digesti

Digesti adalah ekstraksi maserasi kinetik (pengadukan terus menerus) pada suhu lebih tinggi dari suhu ruang yang dilakukan pada suhu 40-50°C (Depkes RI, 2000).

2.7.2.4 Infus

Infus merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut air pada penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih) dengan suhu 96-98°C selama \pm 15-20menit (Depkes RI, 2000).

2.7.2.5 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Badan POM, 2000).

2.8 Pelarut

Pelarut merupakan zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Pemilihan pelarut umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu selektif atau dapat melarutkan semua zat berkhasiat yang dikehendaki, pelarut memiliki titik didih yang cukup rendah, pelarut bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar (Depkes RI, 1986). Beberapa pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu sebagai berikut:

2.8.1 Etanol

Etanol (C_2H_5OH) memiliki nama lain yaitu etil alkohol. Etanol dapat melarutkan alkaloid, minyak atsiri, glikosida, antrakinon, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan kurkumin. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan bakteri sulit tumbuh dalam etanol dengan konsentrasi lebih dari 20%, tidak beracun, dan netral (Depkes RI, 1986).

Etanol memiliki massa jenis $0,789 \text{ g/cm}^3$, berat molekul $46,04 \text{ g/mol}$, viskositas pada 20°C yaitu $1,200 \text{ cP}$, titik didih $78,4^\circ\text{C}$, momen dipol sebesar $1,69 \text{ D}$ (gas), dan tidak berwarna (Chandra, 2015). Menurut Arifianti *et al.* (2014), etanol 96 % merupakan pelarut yang mampu mengekstraksi senyawa seperti flavonoid, saponin dan tanin. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Roslizawaty *et al.* (2013), pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif yaitu etanol 96% menunjukkan hasil bahwa etanol 96% tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga zona hambat yang dihasilkan ekstrak bukan berasal dari pelarut etanol 96%.

2.8.2 Aquadestilata

Aquadest berasal dari istilah latin aquadestilata yang berarti air suling. Air suling merupakan air yang diperoleh dari pengembunan uap air akibat penguapan atau pendidihan air (Ham, 2006). Ikatan hidrogen air pada tekan atmosfer bersifat mengalir (flow) pada suhu 100°C dan densitasnya 1 g/ml (Winarno, 2002).

2.8.3 N-Heksan

N-Heksan (C_6H_{14}) merupakan pelarut non polar yang memiliki sifat mudah menguap. Pelarut ini memiliki titik lebur $-95^\circ C$ (Susanti et al., 2012). N-Heksan berbentuk cairan jernih, memiliki bau seperti eter, memiliki berat molekul 86,18 gr/mol dan memiliki titik didih $68,73^\circ C$ (Depkes RI, 1995). N-Heksan larut dalam pelarut non polar atau sedikit polar seperti dietil eter atau benzena, tetapi tidak larut dalam pelarut polar seperti air (Brieger, 1969).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Puspita Sari (2016), pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif yaitu heksan menunjukkan hasil bahwa heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sehingga zona hambat yang dihasilkan ekstrak bukan berasal dari pelarut heksan.

2.8.4 Diklorometana

Diklorometana atau metilena klorida merupakan senyawa organik dengan rumus kimia CH_2Cl_2 . Diklorometana merupakan senyawa tidak berwarna dan memiliki aroma (Nafis, 2005). Diklorometana larut dalam pelarut organik lainnya, namun tidak larut sempurna dengan air. Diklorometana digunakan sebagai bahan dasar pembuatan sediaan farmasi dan sebagai pelarut (Lee, 2005).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sri Agustini et al. (2017), pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif yaitu diklorometana menunjukkan hasil bahwa diklorometana tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* sehingga zona hambat yang dihasilkan fraksi diklorometana bukan berasal dari pelarut diklorometana.

2.9 Gel

Gel merupakan sediaan semi padat yang berbentuk sediaan dengan konsistensi semi padat (setengah padat) yang digunakan untuk pemakaian luar, diaplikasikan pada kulit. Bahan obat harus larut atau terdispersi homogen didalam basis atau pembawa. Sediaan semipadat yang dimaksudkan disini adalah gel (Sulaiman dan Kuswahyuning, 2008).

2.9.1 Tinjauan Tentang Komponen Pembentuk Gel

2.9.1.1 Bahan Aktif

Bahan aktif merupakan bahan yang didapat dari bahan alam maupun bahan kimia. Bahan aktif berperan penting dalam setiap sediaan, terutama dalam sediaan semi padat (Sulaiman and Kuswahyuning, 2008).

2.9.1.2 Gelling Agent

Gelling agent atau pembentuk gel sebagai bahan pengikat membentuk suatu semisolid yang stabil. Bahan pembentuk gel ini meliputi CMC-Na dan Carbopol 940 (Sulaiman and Kuswahyuning, 2008).

2.9.1.3 Zat penahan lembab

Gliserin digunakan dalam sediaan farmasi biasanya digunakan sebagai pelembut (*emollient*). Penambahan gliserin juga digunakan dalam gel, baik yang sistem air maupun non air. Konsentrasi yang digunakan sebagai pelembut adalah kurang dari 30% (Rowe *et al.*, 2009).

2.9.1.4 Zat pengalkali

Trietanolamin (TEA) dapat digunakan pada sediaan topikal pada formulasi gel. Pemerian dari bahan ini adalah berupa cairan kental, tidak berwarna hingga kuning pucat, bau lemah mirip amoniak, higroskopik, mudah larut dalam air dan etanol (95%) P, larut dalam kloroform. Dapat digunakan sebagai agen pengalkali dengan mengurangi tegangan permukaan dan meningkatkan kejernihan pada konsentrasi 2-4% (Rowe *et al.*, 2009).

2.9.1.5 Pengawet

Gel memiliki kandungan air yang banyak sehingga diperlukan penambahan pengawet atau preservatif agar mencegah terjadinya kerusakan sediaan gel akibat kontaminasi bakterial. Dalam sediaan topikal digunakan metil paraben sebagai pengawet, konsentrasi metil paraben yang digunakan adalah 0,02-0,3% (Rowe *et al.*, 2009).

2.10 Tinjauan Tentang Evaluasi Gel

Uji evaluasi sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak belimbing wuluh adalah sebagai berikut :

2.10.1 Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan terhadap bentuk, warna dan bau dari sediaan yang telah dibuat (Mappa *et al.*, 2013).

2.10.2 Uji Homogenitas

Pemeriksaan homogenitas sediaan dapat dilakukan dengan cara, sediaan dioleskan pada dua keping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Mappa *et al.*, 2013).

2.10.3 Uji daya sebar

Daya sebar adalah kemampuan dari suatu sediaan untuk menyebar di tempat aplikasi. Hal ini berhubungan dengan sudut kontak dari sediaan dengan tempat aplikasinya. Daya sebar merupakan salah satu karakteristik yang bertanggung jawab dalam keefektifan pelepasan zat aktif dan penerimaan konsumen dalam penggunaan sediaan semisolid. Uji daya sebar adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan menyebar sediaan pada saat diaplikasikan pada kulit (Garg *et al.*, 2002).

2.10.4 Uji pH

Menurut Walters (2008), pH kulit manusia ialah sekitar 4,5- 6,5. Jika pH terlalu basa dapat menyebabkan kulit menjadi kering, sedangkan jika terlalu asam dapat mengiritasi kulit. Berdasarkan hal tersebut, maka sediaan yang bersifat topikal perlu disesuaikan dengan pH kulit manusia.

2.10.5 Uji daya lekat

Kemampuan sediaan untuk melekat di tempat aplikasi sediaan sangat penting. Daya lekat merupakan salah satu karakteristik yang bertanggung jawab terhadap keefektifan sediaan dalam memberikan efek farmakologis. Semakin lama daya lekat suatu sediaan pada tempat aplikasi, maka efek farmakologis yang dihasilkan akan semakin besar. Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui

seberapa besar kemampuan gel melekat pada kulit dalam waktu tertentu. (Wulandari., 2015).

2.10.6 Uji Viskositas

Viskositas merupakan gambaran suatu benda cair untuk mengalir. Viskositas menentukan sifat sediaan dalam hal campuran dan sifat alirnya, pada saat diproduksi, dimasukkan ke dalam kemasan, serta sifat-sifat penting pada saat pemakaian, seperti konsistensi, daya sebar, dan kelembaban. Selain itu, viskositas juga akan mempengaruhi stabilitas fisik dan ketersediaan hayatinya. Semakin tinggi viskositas, waktu retensi pada tempat aksi akan naik, sedangkan daya sebar akan menurun. Viskositas juga menentukan lama lekatnya sediaan pada kulit, sehingga obat dapat dihantarkan dengan baik. Viskositas sediaan dapat dinaikkan dengan menambahkan polimer (Donovan and Flanagan, 1996).

2.11 Tinjauan Tentang *Hand Sanitizer*

Gel *hand sanitizer* merupakan sediaan yang berbentuk gel yang digunakan untuk mengurangi atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme tanpa membutuhkan air (Girou *et al.*, 2002). Cara pemakaiannya adalah dengan ditetaskan pada telapak tangan, kemudian diratakan pada permukaan tangan tanpa dibilas dengan air (Sari dan Isadiartuti, 2006). Penggunaan *hand sanitizer* dapat mengendalikan infeksi global dan dapat mengurangi kontaminasi bakteri pada tangan (Kampf and Ostermeyer, 2004).

2.12 Bakteri

2.12.1 Definisi Bakteri

Nama bakteri berasal dari kata “bakterion” yang berarti tongkat atau batang. Bakteri merupakan mikroorganisme bersel satu, berkembangbiak dengan pembelahan diri dan berukuran kecil sehingga hanya tampak dengan menggunakan mikroskop (Dwidjoseputro, 1978). Bakteri merupakan sel prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasma. Bakteri dapat dibedakan berdasarkan

ukuran, susunan, dan responnya terhadap antibiotik. Bentuk sel bakteri meliputi kokus (bulat), basil (batang) dan spirillum (spiral). Bentuk sel menunjukkan karakteristik dari spesies bakteri, tetapi dapat bervariasi tergantung kondisi pertumbuhannya. Ukuran bakteri berkisar antara 0,5 sampai 5 μm (Pelczar *et al.*, 1998).

2.12.2 Golongan Bakteri

Hasil pewarnaan bakteri menunjukkan perbedaan kompleks atau struktur dinding sel sehingga dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu sebagai berikut (Sunatmo, 2007):

2.12.3 Bakteri Gram Positif

Bakteri Gram positif mempunyai dinding dengan lapisan peptidoglikan yang tebal.

2.12.4 Bakteri Gram Negatif

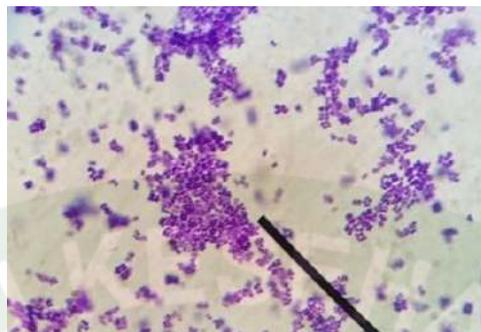
Bakteri Gram negatif terlihat berwarna merah muda. Bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih tipis daripada bakteri Gram positif dan mengandung lipid/lemak dalam presentase yang lebih tinggi daripada bakteri Gram positif.

2.13 *Staphylococcus aureus*

2.13.1 Klasifikasi

klasifikasi ilmiah dari bakteri *Staphylococcus aureus*, antara lain (Brooks *et al.*, 2008):

Domain	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Marga	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Soedarto, 2015)



Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2008)

2.13.2 Morfologi

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Joshi and Devkota, 2014).

Hidup didalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan seperti hidung, mulut, dan tenggorokan dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. *S.aureus* memiliki kemampuan untuk mensintesis lipase yang dapat mengubah sebum trigliserid menjadi asam lemak bebas yang dapat merangsang inflamasi. Bakteri ini dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti pneumonia, meningitis, empiema, endokartitis, jerawat, pioderma atau impetigo (Martina, 2012).

2.14 *Escherichia Coli*

2.14.1 Klasifikasi

Menurut Adriana (2017) bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diklasifikasikan sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2.4 *Escherichia coli* ATCC 25922 (Brooks, 2013)

2.14.2 Morfologi

Escherichia coli ATCC 25922 berbentuk batang pendek (kokobasil), bersifat Gram negatif, berukuran $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$. Bakteri ini tidak membentuk spora, tidak tahan terhadap suasana asam, tidak sensitif terhadap panas, dan sebagian besar bergerak menggunakan flagel peritrikus (merata tersebar ke seluruh permukaan sel) namun ada pula yang nonmotil, dan beberapa strain mempunyai kapsul. Cara tumbuh bakteri ini adalah anaerob fakultatif atau umumnya bersifat kemoheterotof Nilai pH yang digunakan untuk pertumbuhannya adalah 7,0-7,5 dan suhu pertumbuhannya $10^{\circ}\text{C}-40^{\circ}\text{C}$ dengan suhu optimum 37°C (Maradona, 2013).

Escherichia coli ATCC 25922 dapat diidentifikasi pada media diferensial *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA). Media ini mempunyai kandungan methylene blue dimana zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif sehingga yang tumbuh hanya bakteri Gram negatif. EMBA mempunyai kondisi yang asam sehingga hal tersebut membuat kompleks presipitat dan menimbulkan warna hijau kilap logam pada *Escherichia coli* ATCC 25922 (Putri, 2015).

2.15 Antibakteri Pembanding atau Kontrol Positif

Antibakteri adalah suatu senyawa yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan dapat membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.*, 2005). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dan membunuhnya, dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) atau kadar bunuh minimal (KBM). Kadang aktivitas antimikroba tertentu dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisidal apabila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswara *et al.*, 1995)

Antibakteri yang digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif adalah kloramfenikol. Kloramfenikol digunakan karena mempunyai mekanisme kerja yang sama seperti senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kenikir (Rita *et al.*, 2016). Kloramfenikol merupakan suatu golongan antibiotika yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan spektrum kerja yang luas (Siswando *et al.*, 2000). Kloramfenikol efektif terhadap gram positif maupun gram negatif (Ganiswara, 1995). Antibiotika ini bekerja dengan menghambat proses sintesis protein yang terjadi pada sel bakteri *S.aureus*. Kloramfenikol akan berikatan secara reversibel dengan unit ribosom 50S sehingga mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom (Katzung, 2000). Karakteristik kloramfenikol menurut FI IV adalah sebagai berikut:

Nama Umum : Kloramfenikol

Nama Lain : *Chloramphenicol*

Nama Kimia : D(-) treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol :

BM : 323,13

Suhu Lebur : 149°C-153°C

Pemerian : Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.

Kelarutan : Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam diklorometana.

Persyaratan : Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Kloramfenikol termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* karena memiliki zona hambat sebesar 22 mm (Ratna *et al.*, 2016).

2.15.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Menurut Darmadi (2008), dalam Jasmine (2018) bahwa mekanisme kerja antibakteri dibagi menjadi empat, yaitu :

2.15.1.1 Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Penghambatan terhadap sintesis dinding sel bakteri yaitu dengan cara mencegah penggabungan asam N-asetilmuramat ke dalam struktur mukopeptide yang biasanya membentuk sifat kaku pada dinding sel. Contoh: Basitrasin, sefalosporin, sikloserin, penisillin, vankomisin (Jasmine, 2018).

2.15.1.2 Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Antibiotik ini bergabung dengan membran sel dan menyebabkan disorientasi komponen-komponen lipoprotein serta mencegah berfungsinya membran sebagai perintang osmotik. Contoh: amfoterisin B, kolistin, imidazol, triazol, polien, polimiksin (Jasmine, 2018).

2.15.1.3 Penghambatan terhadap sintesis protein

Antibiotik ini bekerja dengan cara menghalangi terikatnya RNA pada situs spesifik di ribosom selama perpanjangan rantai peptida, yang mengakibatkan terjadinya hambatan sintesis protein. Contoh: kloramfenikol, eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, aminoglikosida (Jasmine, 2018).

2.15.1.4 Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

Bakteri membutuhkan asam p-aminobenzoat (APAB) untuk mensintesis asam folat, yaitu suatu koenzim esensial. Dikarenakan molekul APAB dengan molekul antibiotik hampir sama, maka antibiotik akan bersaing dengan APAB sehingga akan menghambat sintesis asam folat. Mekanisme kerja antibiotik ini merupakan contoh penghambatan kompetitif antara metabolit esensial (APAB) dengan analog metabolit (antibiotik). Contoh: quinolon, pyrimethamin, rifampin, sulfonamid, trimetrexat (Jasmine, 2018).

2.16 Antiseptik

Antiseptik adalah bahan kimia yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroorganisme berbahaya yang terdapat pada permukaan tubuh luar makhluk hidup seperti pada permukaan kulit dan membran mukosa. Secara umum, antiseptik berbeda dengan obat-obatan maupun disinfektan. Disinfektan berfungsi sebagai zat untuk membunuh mikroorganisme yang terdapat pada benda yang tidak bernyawa seperti meja, lantai dan pisau bedah sedangkan antiseptik digunakan untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan tubuh, misalnya kulit. Mekanisme kerja antiseptik terhadap mikroorganisme berbeda-beda, seperti dengan mendehidrasi (mengeringkan) bakteri, mengoksidasi sel bakteri, mengkoagulasi (menggumpalkan) cairan di sekitar bakteri, atau meracuni sel bakteri (Entjang 2003).

2.17 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri secara invitro. Pengujian ini dapat dilakukan dengan dua

metode yakni metode penyebaran (*Diffusion method*) dengan menggunakan cakram kertas dan metode pengenceran (*Dilution method*) (Kristanti, 2008).

2.17.1 Metode Difusi

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Lempengan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah disebare bakteri yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Zona (daerah) jernih disekeliling cakram kertas (paperdisk) mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar (Pratiwi, 2012). Menurut Pratama (2015) setelah dilakukan inkubasi, diameter zona hambat yang jernih disekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme misalnya seperti sifat medium dan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat (Jawetz *et al.*, 2005).

2.17.1.1 Metode *disk diffusion*

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Lempengan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah disebare bakteri yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Zona (daerah) jernih disekeliling cakram kertas (Paper disk) mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar (Pratiwi, 2012). Menurut Pratama (2015) setelah dilakukan inkubasi, diameter zona hambat yang jernih disekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme misalnya seperti sifat medium dan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat (Jawetz *et al.*, 2005)

2.17.1.2 Metode *E-Test*

Metode ini digunakan untuk mengestimasi MIC (Minimum inhibitory concentration) atau Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam metode ini menggunakan strip plastik yang mengandung agen antibakteri dari

kadar terendah sampai tertinggi lalu diletakkan pada permukaan media Agar yang telah ditanam bakteri. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya menunjukkan kadar agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri pada media Agar (Pratiwi, 2012).

2.17.1.3 Ditch-plate technique

Ditch plate technique, zat antimikroba diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji digoreskan ke arah parit (Pratiwi, 2008).

2.17.1.4 Cup-plate technique

Cup-plate technique, metode ini hampir sama dengan metode disc diffusion namun bedanya tidak menggunakan kertas. Pada media agar dibuat sumur, dan pada sumur tersebut diberi zat antimikroba (Pratiwi, 2008).

2.18 Metode Optimasi

2.18.1 Metode Simplex Lattice Design (SLD)

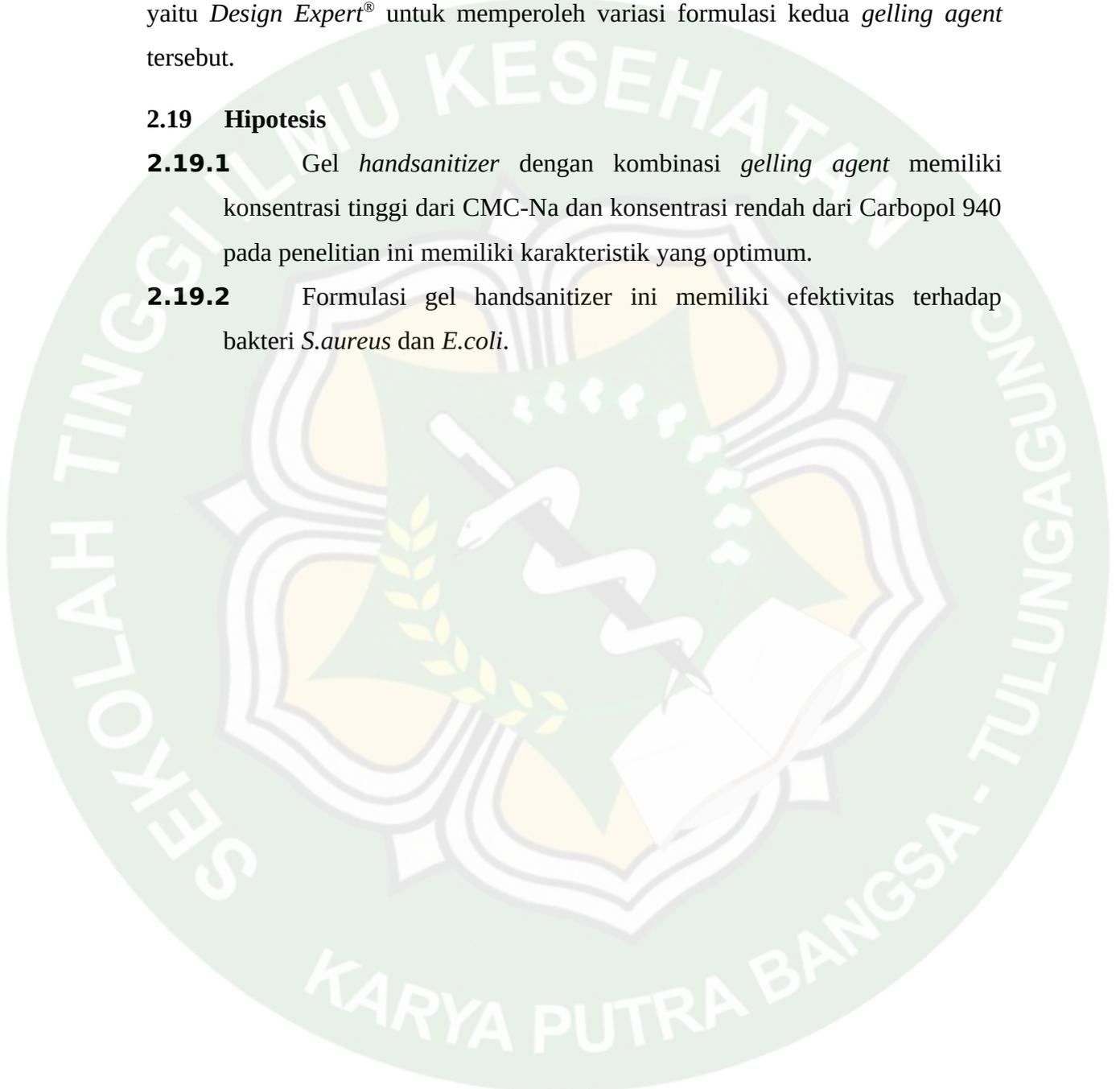
Optimasi merupakan suatu metode atau desain ekperimental yang dipakai untuk memberikan kemudahan pada penyusunan dan interpretasi data secara matematis. *Simplex Lattice Design* (SLD) adalah salah satu metode optimasi yang dapat digunakan, metode ini menentukan formula optimal dari suatu campuran bahan dengan membuat komposisi campuran atau jumlah total dari bahan yang berbeda tersebut mempunyai jumlah yang konstan. Metode SLD lebih efektif dibandingkan dengan metode *trial and error* karena penggunaannya yang lebih cepat dan dalam metode ini tidak diperlukan banyak bahan. Metode SLD cocok untuk prosedur optimasi formula dimana jumlah total dari bahan yang berbeda adalah konstan. Metode ini dapat digunakan untuk optimasi formula pada berbagai jumlah komposisi bahan yang berbeda, dengan minimal terdiri dari dua komponen bahan. Metode ini merupakan metode optimasi yang paling sederhana, baik digunakan untuk optimasi campuran antara bahan dalam sediaan padat, semi padat, atau pemilihan pelarut. Selain dengan SLD, optimasi dapat pula dilakukan dengan cara coba-coba / *trial and error*, teknik optimasi sistematis, atau dengan menggunakan *Mixture Design* (Kurniawan, D.W and Sulaiman, T.N.S, 2009).

Berdasarkan profil sifat-sifat fisik dapat ditentukan kombinasi *gelling agent* CMC-Na dan Carbopol 940 dengan nilai optimum untuk digunakan sebagai formulasi yang memenuhi persyaratan. Dalam penelitian ini digunakan *software* yaitu *Design Expert*[®] untuk memperoleh variasi formulasi kedua *gelling agent* tersebut.

2.19 Hipotesis

2.19.1 Gel *handsanitizer* dengan kombinasi *gelling agent* memiliki konsentrasi tinggi dari CMC-Na dan konsentrasi rendah dari Carbopol 940 pada penelitian ini memiliki karakteristik yang optimum.

2.19.2 Formulasi gel *handsanitizer* ini memiliki efektivitas terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu botol maserasi, Erlenmeyer (*Pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung reaksi, alumunium foil, corong pisah (*Pyrex*), kaca arloji, pipet, blender, spatula, gelas ukur (*Pyrex*), autoklaf, cawan petri, jarum ose, pinset, mikropipet, lampu spiritus, kapas, hot plate, oven, lemari pendingin, laminar air flow (LAF), inkubator, cakram kosong steril, jangka sorong, dan alat-alat gelas standar laboratorium dan dalam penelitian ini digunakan *software* yaitu *Design Expret*.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*), Aquadest, Etanol 96%, Propilen glikol (*Merck*), Gliserin (*Socimas*), Metilparaben (*Merck*), Carbopol 940 (*Merck*), CMC-Na (*Merck*), TEA (*Merck*), media Nutrient Agar, media Nutrien broth, antibiotik Kloramfenikol, bakteri yang digunakan adalah *S.aureus* ATCC 25923, dan *E.coli* ATCC 25922.

3.2 Populasi dan Sampel

Sampel tanaman buah belimbing wuluh didapatkan di UPT Materia Medica Kota Batu, Malang, Jawa Timur. Sampel buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dengan warna kulit buah berwarna hijau tua. Alasan pengambilan buah belimbing wuluh dengan warna kulit tua yaitu banyaknya senyawa aktif flavonoid yang terkandung didalamnya dibandingkan dengan buah belimbing wuluh dengan warna kulit buah berwarna hijau muda (Departemen Pertanian, 2007).

3.3 Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental, yaitu melakukan kegiatan percobaan untuk mengamati pengaruh antara variabel dengan melakukan pengamatan terhadap kelompok eksperimen (Notoatmodjo, 2012).

Membandingkan CMC-Na, carbopol dan CMC-Na kombinasi carbopol 940 sebagai gelling agent dalam sediaan akan mempengaruhi karakteristik sediaan gel *Handsanitizer* ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*).

Metode *Simplex Lattice Design* (SLD) merupakan suatu metode yang digunakan pada prosedur optimasi formulasi yang berguna dalam perencanaan sediaan obat. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan proporsi relatif bahan-bahan yang membuat suatu formulasi paling baik mengenai variabel atau hasil yang ditentukan Lachman (Priyanto, 2011).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel *Independent* (Bebas)

Variabel bebas adalah variabel dimana yang mempengaruhi variabel terikat (Notoatmodjo, 2012). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi CMC-Na dan CMC-Na pada kombinasi Carbopol 940 sebagai pembentuk gelling agent.

3.4.2 Variabel *Dependent* (Terikat)

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas (Notoatmodjo, 2012). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah uji evaluasi sifat formulasi gel *Handsanitizer* yang meliputi organoleptis, homogenitas, daya sebars, pH, dan daya lekat.

3.4.3 Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga hubungan variabel bebas terhadap variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor eksternal yang belum diteliti (Sugiyono, 2009). Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah pengaturan suhu pada konsentrasi ekstrak.

3.5 Definisi Operasional

Konsentrasi CMC-Na merupakan jumlah gelling agent CMC-Na yang digunakan dalam formulasi gel handsanitizer ekstrak buah belimbing wuluh. Alat ukurnya menggunakan neraca analitik dengan alat ukur gram. Konsentrasi CMC-Na kombinasi carbopol 940 adalah jumlah gelling agent CMC-Na dan carbopol

940 yang digunakan dalam sediaan gel handsanitizer ekstrak belimbing wuluh. alat ukur yang digunakan adalah timbangan analitik dengan skala ukur gram.

Simplex Lattice Design (SLD) adalah metode optimasi yang digunakan untuk menentukan formula optimum terbaik suatu komposisi bahan (Hidayat *et al.*, 2021). Optimasi formula dengan SLD dapat dilakukan dengan menggunakan *software design expert*.

Uji organoleptis adalah uji yang dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan terhadap bentuk, warna dan bau dari sediaan secara visual menggunakan panca indra.

Uji homogenitas adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui apakah setiap komponen tercampur merata dalam sediaan gel.

Uji daya sebar adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan penyebaran gel pada kulit. Alat ukur yang digunakan yaitu sebuah penggaris dengan skala pengukuran cm.

Uji pH adalah pengujian untuk mengetahui apakah formulasi gel yang disiapkan memiliki nilai yang sesuai dan dapat diterima oleh kulit. Alat ukur yang digunakan adalah pH meter.

Uji daya lekat merupakan uji yang dilakukan untuk menunjukkan kemampuan gel *Handsanitizer* melekat pada kulit.

Uji stabilitas fisik dilakukan untuk menentukan apakah gel stabil terhadap penyimpanan.

Uji Viskositas merupakan suatu tahanan di mana suatu cairan dapat mengalir. Semakin tinggi viskositas suatu sediaan maka semakin besar pula tahanannya, sehingga gaya yang di butuhkan untuk membuat sediaan tersebut mengalir juga semakin besar, begitu juga sebaliknya.

Pengaturan suhu pemekatan ekstrak adalah dengan mengatur suhu pada waterbath saat melakukan pemekatan ekstrak pada suhu 60°C. foil, rotary evaporator, waterbath, pH meter, kaca objek, tabung reaksi, termometer, cawan porselen dan shaker.

Pengaturan penyimpanan CMC-Na dan carbopol 940 yang dijaga agar terhindar dari kerusakan dan mengurangi kualitas penyimpanan didalam tempat yang tertutup.

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Sampel tanaman buah belimbing wuluh dilakukan determinasi di UPT Materia Medica Kota Batu, Malang, Jawa Timur. Tujuan determinasi tersebut untuk mengetahui identitas tanaman berdasarkan klasifikasi ilmiah (Insanu *et al.*, 2011).

3.6.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan simplisia halus dengan nomor pengayak 60 dengan lebar nominal lobang 0,105 mm, garis tengahnya 0,064, dan ukurannya ukuran 250 µm (Depkes RI, 2008).

3.6.3 Uji kadar air serbuk simplisia

Menimbang serbuk simplisia buah belimbing wuluh sebanyak 10 g dalam wadah yang telah ditara, kemudian mengeringkan selama 5 jam pada suhu 105°C. Proses selanjutnya yaitu menimbang serbuk simplisia hasil pengeringan dan menghitung kadar air. Perhitungan uji kadar air yaitu sebagai berikut : (Depkes RI, 2000)

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{A-B}{A} \times 100 \% \quad (\text{Selawa } et \text{ al.}, 2013).$$

Keterangan :

A = Berat sampel sebelum dipanaskan

B = Berat sampel setelah dipanaskan

Kandungan air serbuk simplisia yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam serbuk simplisia kurang dari 10% sehingga mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM RI, 2014).

3.6.4 Uji susut pengeringan simplisia

Susut pengeringan adalah pengurangan berat bahan setelah dikeringkan dengan cara yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2008).

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(a - b)}{a} \times 100\% \quad (\text{Depkes RI, 2000}).$$

Keterangan :

a = berat awal simplisia (g)

b = berat akhir simplisia (g).

3.6.5 Pembuatan ekstrak belimbing wuluh menggunakan metode maserasi

Serbuk simplisia buah belimbing wuluh ditimbang sebanyak 1000 g. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:2 (Andayani *et al.*, 2014). Memasukkan serbuk simplisia buah belimbing wuluh dalam botol maserasi, lalu menambahkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 ml hingga terendam dan dilakukan pengadukan hingga homogen, kemudian disimpan dalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Selama perendaman setiap hari dilakukan pengadukan selama 15 menit. Setelah perendaman selama 5 hari, kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kain mori rangkap dua dan dengan kertas saring untuk mendapatkan filtrat (Depkes RI, 2008). Seluruh filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

3.6.6 Identifikasi bebas alkohol

Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak belimbing wuluh benar-benar bebas dari alkohol dengan cara esterifikasi. Ekstrak ditambahkan asam sulfat pekat dan asam asetat kemudian dipanaskan. Hasil uji negatif apabila tidak tercium bau khas ester (Kurniawati, 2015).

3.6.7 Skrining Fitokimia

3.6.7.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 2 g ekstrak dilarutkan dalam 5 ml etanol dan dipanaskan secara *in vitro* selama 5 menit. ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Selanjutnya, 0,2 g bubuk mg ditambahkan. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya warna merah tua dalam waktu 3 menit (Ngajow *et al.*, 2013).

3.6.7.2 Uji Tanin

Sebanyak 0,1 g ekstrak ditambahkan 1 mL larutan Fe (III) klorida 10% (Merck). Apabila terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin (Simaremare, 2014).

3.6.7.3 Uji Saponin

Sampel diambil sebanyak kurang lebih 1 mL dididihkan dengan 10 mL aquades dalam penangas air. Filtrat dikocok dan mendinginkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin. Busa terbentuk karena adsorpsi molekul saponin pada permukaan air dapat menurunkan permukaan tegangan permukaan air yang dapat menimbulkan busa (Harborne, 2006).

3.7 Formulasi Gel

3.7.1 Formulasi Standart

Tabel 3.1 Formula yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada formulasi dari penelitian (Suhaimi *et al.*, 2019).

Bahan	Jumlah (g)	Fungsi
Carbopol 940	0.5-2.0	Gelling agent
CMC-Na	3.0-6.0	Gelling agent
TEA	0,6	Alkalizing
Metil Paraben	0,06	Pengawet
Gliserin	3,99	Emmolient
Propilen glikol	2	Humektan
Aquadest ad	Ad 30 ml	Pelarut

3.7.2 Formulasi Modifikasi Sediaan Gel

Bahan	Konsentrasi (%)													
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14
Ekstrak	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
CMC-Na	4,43	4,22	4,60	5,28	4,43	4,43	4,00	4,00	5,50	5,08	4,76	4,92	5,50	5,08
Carbopol 940	1,57	1,78	1,40	0,72	1,57	1,57	2,00	2,00	0,50	0,92	1,24	1,08	0,50	0,92
Trietanolamin (TEA)	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Metil Paraben	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Gliserin	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99	3,99
Propilenglikol	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Aquadest	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Respon	Kriteria	Importance	Keterangan
Uji daya lekat	<i>Maximize</i>	+++	Penting
Uji daya sebar	<i>Maximize</i>	+++++	Paling penting
Uji viskositas	<i>Minimize</i>	+++	Penting

3.8 Metode SLD

Metode *Simplex Lattice Design* (SLD) merupakan suatu metode yang digunakan pada prosedur optimasi formulasi yang berguna dalam perencanaan sediaan obat. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan proporsi relatif bahan-bahan yang membuat suatu formulasi paling baik mengenai variabel atau hasil yang ditentukan Lachman (Priyanto, 2011). Metode SLD ini didasarkan pada adanya dua variabel bebas, yaitu A dan B. Rancangan ini dibuat dengan tiga kombinasi dan yang diamati respon yang di dapatkan. Respon yang diterima harus mendekati tujuan yang telah ditentukan baik maksimal ataupun minimal (Bolton, 1997).

3.9 Cara pembuatan gel *hand sanitizer* ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*).

Menyiapkan alat dan bahan. Ditimbang semua bahan dalam formula di atas, Carbopol 940 dikembangkan dalam air didiamkan selama semalam. Ditimbang CMC-Na, kemudian didispersikan kedalam aquadest panas sebanyak 10x dari bobot CMC-Na, kemudian diaduk dengan cepat hingga terbentuk massa gel (massa 1). Ditambahkan TEA kedalam *gelling agent* carbopol dan CMC-Na kombinasi carbopol 940 aduk perlahan hingga homogen. Metil paraben ditimbang dan dilarutkan gliserin dengan sebagian propilenglikol (massa 2), dimasukkan kedalam mortir dan diaduk sampai homogen. Ekstrak belimbing wuluh ditimbang dan dimasukkan kedalam mortir dan diaduk sampai homogen lalu tambahkan sisa air suling. Sediaan di evaluasi meliputi organoleptis, homogenitas, daya sebar, pH, daya lekat, dan viskositas.

3.10 Evaluasi sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L).

3.10.1 Uji Stabilitas

Uji stabilitas fisik sediaan gel *handsanitizer* ekstrak buah belimbing wuluh dilakukan dengan mengamati sifat fisik sediaan meliputi organoleptis, pH, homogenitas, daya lekat, daya sebar, uji viskositas dan waktu mengering dilakukan 28 hari (Marlina and Rosalini, 2017).

3.10.2 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan terhadap bentuk, warna dan bau dari sediaan yang telah dibuat (Mappa *et al*, 2013).

3.10.3 Uji Homogenitas

Pemeriksaan homogenitas sediaan dapat dilakukan dengan cara, sediaan dioleskan pada dua keping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Mappa *et al*, 2013).

3.10.4 Uji Daya sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk menjamin pemerataan gel saat diaplikasikan pada kulit yang dilakukan segera setelah gel dibuat. Gel ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian diletakkan ditengah kaca bulat berskala. Di atas gel diletakkan kaca bulat atau bahan transparan lain dan pemberat sehingga berat kaca bulat dan pemberat 50 g, 100 g, 150 g, didiamkan 1 menit, kemudian dicatat diameter penyebarannya (Mappa *et al*, 2013). Daya sebar gel yang baik antara 5-7 cm (Naibaho *et al*, 2013).

3.10.5 Uji pH

gel dilarutkan sebanyak 1g dalam 50 ml aquadest, dan kemudian diukur pH sediaan gel yang diencerkan. Alat dikalibrasi terlebih dahulu, kemudian kertas pH dicelupkan ke dalam larutan uji dan nilainya ditampilkan pada kertas pH meter. Ditunggu sampai stabil yang menunjukkan pH larutan uji (Febriani *et al.*, 2020).

3.10.6 Uji Daya lekat

Gel sebanyak 0,5 g diletakkan di atas kaca objek yang telah ditentukan luasnya. Selanjutnya, objek kaca yang lain diletakkan di atas gel tersebut dan diberi beban sebanyak 1 kg selama 5 menit. Kemudian dipasang kaca objek pada alat uji, kemudian beban seberat 80 g dilepaskan dan dicatat waktunya hingga kedua kaca objek tersebut terlepas (Azkya *et al.*, 2017) daya lekat gel yang baik antara 6-13 detik.

3.10.7 Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan cara rotor dipasang pada alat uji, diatur hingga rotor tercelup dalam gel. Alat diaktifkan, skala yang ditunjukkan dibaca hingga menunjukkan angka yang stabil (Widia *et al.*, 2012).

3.11 Analisa Hasil SLD

Penentuan formula yang paling optimum ditentukan dengan *Simplex lattice design* (SLD), menggunakan perangkat lunak yaitu *design expert* versi 11, parameter yang dilihat dari respon meliputi pH, daya sebar, daya lekat. Setelah itu dari hasil optimasi tersebut selanjutnya dilakukan verifikasi menggunakan analisis *statistik one sample t-test* dengan program perangkat lunak SPSS versi 15 (Susanto, 2008).

3.12 Uji Aktivitas Antibakteri Gel

3.12.1 Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan pada penelitian ini disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi alat dilakukan dengan mencuci bersih, kemudian alat dikeringkan dan dibungkus menggunakan kertas perkamen (Muhamad, 2014). Sterilisasi media dan larutan uji dilakukan dengan menggunakan wadah yang sesuai dengan menutup mulut wadah menggunakan kapas dan membungkus wadah menggunakan aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.12.2 Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)

Media NB digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri uji. Menimbang serbuk NB sebanyak 0,08 g kemudian melarutkan dalam 10 ml aquadestilata, dan memanaskan sampai mendidih sehingga serbuk NB terlarut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi kemudian didinginkan (Muhamad, 2014).

3.12.3 Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Medium NA digunakan untuk membiakkan bakteri uji. Menimbang serbuk NA sebanyak 0,2 g kemudian melarutkan dalam aquadestilata sebanyak 15 ml dan memanaskan sampai mendidih sehingga serbuk NA terlarut. Selanjutnya media NA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media agar siap dituangkan pada plate atau cawan petri (Muhamad, 2014). Cawan petri berdiameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 ml, sedangkan cawan petri berdiameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 ml (Widodo and Kusharyati, 2013).

3.12.4 Peremajaan bakteri uji

Peremajaan kultur murni mikroba uji. Bakteri diambil dari biakan masing-masing satu Ose lalu diinokulasi dalam medium NA miring. Masing-masing bakteri diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C. Setelah itu dapat digunakan sebagai bakteri uji.

3.12.5 Pembuatan suspensi bakteri uji

Biakan mikroba *S.aureus* dan *E.coli* yang telah dipermuda selama 24 jam diambil 1 ose dan dilarutkan dalam NaCl sebanyak 2 ml dan kekeruhannya dibandingkan dengan standart kekeruhan Mc Farland 0,5 (mengandung bakteri 10^8 n CFU/ml).

3.12.6 Uji aktivitas dengan metode cakram

Pada Cakram kertas digunakan suatu kertas cakram saring (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring yang mengandung zat antimikroba tersebut diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu

tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji yaitu pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Ada 2 macam zona hambat yang terbentuk dari cara kirby bauer. Radical zone yaitu suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal. *Irradical zone* yaitu suatu daerah sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan (Herda Ariyani, *et al*, 2018).

3.12.7 Pengukuran zona hambat

Pengukuran zona hambat menggunakan mistar berskala atau jangka sorong. Pengukuran dilakukan pada zona bening yang muncul di sekitar kertas cakram secara horizontal dan vertikal, kemudian diperoleh berupa diameter (mm). Pengukuran dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan hasil yang akurat (Mulyatni, 2012).

Tabel 3.2 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Susanto *et al.*, 2012).

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 21 mm	Sangat Kuat
11 – 20 mm	Kuat
6 – 10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

3.13 Analisa Statistiska

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri buah belimbing wuluh terhadap bakteri *E.coli* ATCC 25922 dan *S.aureus* ATCC 25923 dianalisis menggunakan program SPSS 22 untuk melihat apakah buah belimbing wuluh mampu menghambat bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dan *E.coli* ATCC 25922. Pengolahan data dapat dilakukan sebagai berikut :

3.13.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

H0 : Data berdistribusi normal

H1 : Data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan

- a. Jika $p > 0,05$; maka H0 diterima
- b. Jika $p < 0,05$; maka H1 diterima.

3.13.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel-sampel yang diambil dari populasi yang sama. Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic*.

H0 : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen.

H1 : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen.

Pengambilan keputusan:

- a. Jika $p > 0,05$; maka H0 diterima
- b. Jika $p \leq 0,05$; maka H1 diterima

3.13.3 Uji *Kruskal-Wallis*

Uji *Kruskal-Wallis* merupakan sebuah uji yang bertujuan untuk menentukan adanya perbedaan yang signifikan antara dua atau lebih kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada pertumbuhan bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dan *E.coli* ATCC 25922.

H0 : Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dan *E.coli* ATCC. 25922.

H1 : Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dan *E.coli* ATCC. 25922.

Pengambilan keputusan :

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.13.4 Uji Mann-Whitney

Uji *Mann-Whitney* digunakan bertujuan untuk menguji signifikansi hipotesis antar dua sampel (Sriwidadi, 2011). Perumusan hipotesis:

H_0 : tidak ada perbedaan bermakna

H_1 : ada perbedaan bermakna

Pengambilan keputusan:

1. Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
2. Jika $p < 0,05$; maka H_1 diterima

3.14 Analisis Hasil

3.14.1 Hasil Gel *Handsanitizer*

Sediaan gel terdiri dari CMC-Na dan Carbopol 940, dengan formula basis gel Carbomer 940 dan CMC-Na dengan konsentrasi 0,5-2,0 dan 3,0-6,0 Trietanolamina, Gliserin, Metil Paraben, Propilen glikol, Aquadestilata. Carbopol 940 dan CMC-Na dilarutkan dalam aquadest panas sampai larut didalam beaker glass. Kemudian ditambah larutan metil paraben dan propilen glikol. Gliserin dimasukkan ke dalam larutan Carbopol 940 dan CMC-Na. Trietanolamina ditambahkan sedikit demi sedikit dengan kecepatan pengadukan yang lebih tinggi sampai terbentuk gel yang homogen ditambah sisa aquadest (Nurmalati, 2019).

3.14.2 Hasil Penentuan Formula Optimum sediaan gel *Handsanitizer* dengan *gelling agent* CMC-Na dan Carbopol 940

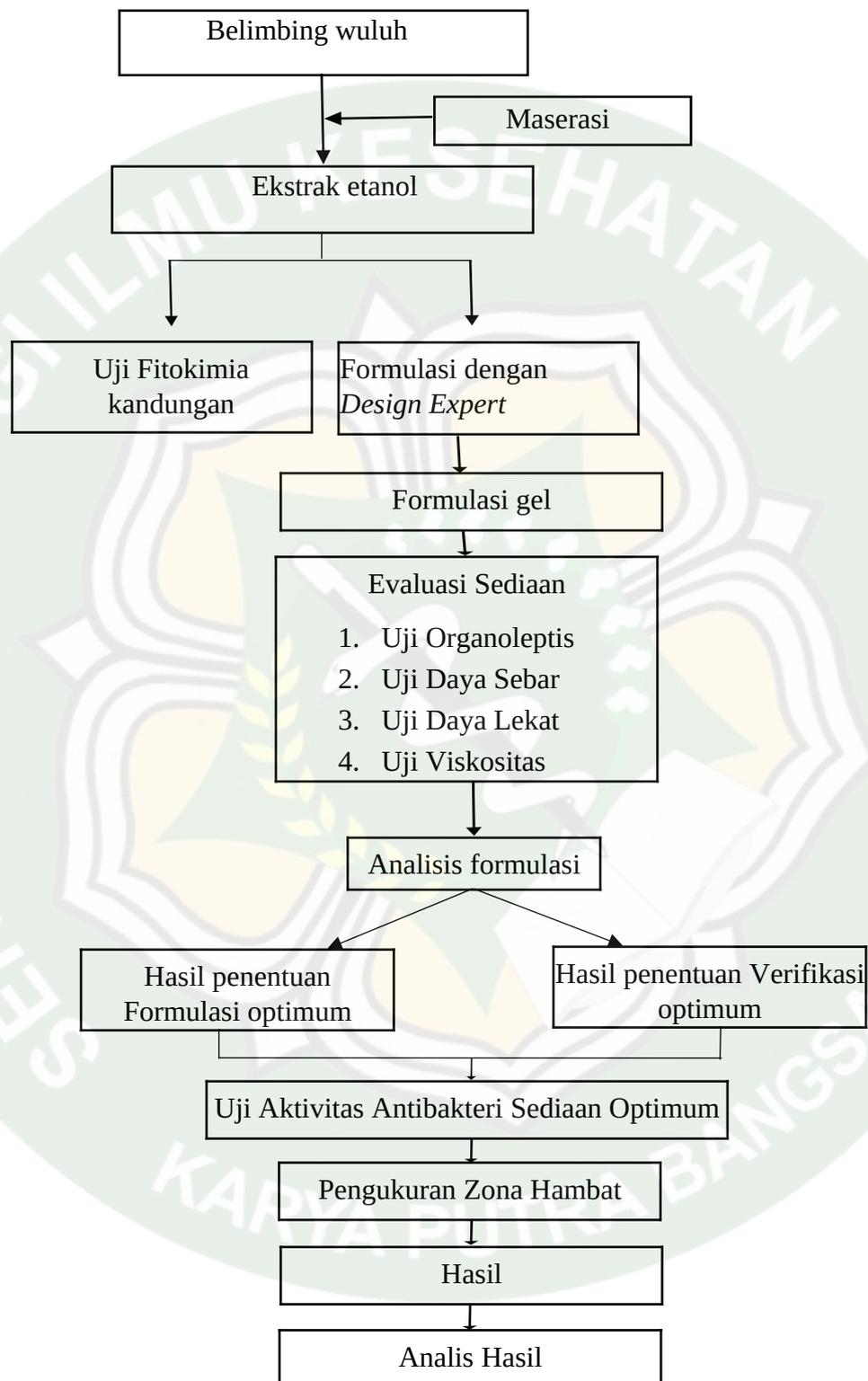
Berdasarkan hasil analistik statistik SLD, kedua respon sifat fisik gel CMC-Na dan Carbopol 940 yaitu viskositas, daya sebar, dan daya lekat. Oleh sebab itu, kedua *gelling agent* dapat digunakan sebagai parameter penentu formula optimum. Penetapan goal dilakukan berdasarkan nilai respon yang diharapkan. Goal untuk respon viskositas yaitu in range, daya sebar yaitu maximize, sedangkan daya lekat yaitu minimize. Derajat kepentingan yang

digunakan adalah default (+++). Nilai desirability yang dipilih adalah nilai tertinggi dengan kombinasi CMC-Na dan Carbopol 940. *Software Design Expert* memprediksikan nilai respon viskositas formula yang optimum (Mada and Zulkarnain, 2018).

3.14.3 Hasil Verifikasi Formula Optimum sediaan gel *Handsanitizer* dengan *gelling agent* CMC-Na dan Carbopol 940

Verifikasi formula optimum gel dengan kombinasi CMC-Na dan Carbopol 940 hasil prediksi dilakukan untuk mengetahui apakah nilai prediksi yang diberikan oleh *software* sesuai dengan nilai hasil percobaan yang sebenarnya. Prediksi respon sifat fisik formula optimum yang diperoleh dari analisis menggunakan *software Design Expert* selanjutnya dibandingkan dengan respon sifat fisik formula optimum yang diperoleh pada percobaan minggu ke-0 menggunakan *software SPSS® Statistic 16*. Metode analisis statistik yang digunakan yaitu *one sample t-test* (Mada and Zulkarnain, 2018).

3.15. Kerangka Kerja



Gambar 3.1 kerangka kerja



BAB IV

HASIL & PEMBAHASAN

4.1 Destirminasi Tanaman

Determinasi tanaman buah belimbing wuluh dilakukan di Materia Medika, Batu. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dengan kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225b-227b-229b-230b-234b-235b-236b-237b-238b-1b-1a. Nomor surat 074/543/102.20-A/2022.

Morfologi Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah. Morfologi tanaman belimbing wuluh yaitu tinggi pohon dengan tinggi 5-10. Batang tegak, bercabang-cabang, permukaan kasar, banyak tonjolan, hijau kotor. Daun majemuk, menyirip, anak daun 25-45 helai, bulat telur, ujung meruncing, pangkal membulat, Panjang 7-10 cm, lebar 1-3 cm, bertangkai pendek, pertulangan menyirip, hijau muda, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, pada tonjolan batang dan cabang, menggantung, panjang 5-20 cm, kelopak \pm 6 mm, merah, daun mahkota bergandenga, bentuk lanset, ungu. Buah buni, bulat, Panjang 4-6 cm, hijau kekuningan. Biji lanset atau segi tiga, masih muda hijau setelah tua kuning kehijauan. Akar tunggang coklat kehitaman. Hasil determinasi dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*). Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.2 Pembuatan Simplisia Buah Belimbing Wuluh

Serbuk buah belimbing wuluh diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena memiliki cara ekstraksi yang sederhana, serta cara pengerjaannya sederhana dan tidak memerlukan pemanasan sehingga senyawa aktif dari tanaman tidak mengalami kerusakan (Medina *et al.*, 2014).

Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia buah belimbing wuluh dalam pelarut. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena etanol adalah pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar, nonpolar dan semi polar. Pelarut Etanol 96% dipilih karena presentase air sebanyak 4% dan etanol sebanyak 96% dapat mengurangi kontaminasi atau pertumbuhan mikroorganisme didalam ekstrak (Maryam *et al.*, 2015).

Penelitian ini proses ekstraksi serbuk simplisia buah belimbing wuluh dilakukan dengan metode maserasi karena pelaksanaan dan peralatannya sederhana, pengerjaan mudah, dan tidak memerlukan pemanasan dalam prosesnya, sehingga senyawa yang ditarik tidak mengalami degradasi (Sogandi *et al.*, 2019). Dilakukan dalam penelitian ini adalah ekstraksi buah belimbing wuluh sebanyak 3 kg dengan metode maserasi. Belimbing wuluh dicuci bersih dan diangin-anginkan sehingga kering, diiris tipis dan direndam etanol 96% dengan perbandingan 1:2 selama 3 x 24 jam di dalam wadah tertutup. (Andayani *et al.*, 2014).

4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.3.1 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Hasil dari uji kadar air serbuk simplisia buah belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil uji kadar air serbuk simplisia buah belimbing wuluh

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	%Hasil
Buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>)	10,00 g	9,00 g	10%

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan 10 g serbuk dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Serbuk kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam kemudian ditimbang. Pengujian kadar kadar air serbuk diperoleh hasil sebesar 10%. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk yang digunakan telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. (Depkes RI, 1985).

4.3.2 Uji Susut Pengerinan Simplisia

Hasil dari uji susut pengerinan simplisia buah belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji susut pengerinan simplisia buah belimbing wuluh

Sampel	Bobot buah basah	Bobot buah kering	%Hasil
Buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>)	5,00 g	2,10 g	58%

Uji susut pengerinan pada simplisia digunakan untuk mengetahui rentang besarnya pengurangan berat simplisia pada proses pengerinan (Depkes RI, 2000). Hasil uji susut pengerinan simplisia sebesar 58% sehingga dapat dikatakan bahwa pada proses pengerinan tersebut, simplisia mengalami pengurangan berat bahan yang besar. Hal ini disebabkan karena suhu pada proses pengerinan simplisia dapat mempengaruhi proses transpirasi kandungan air yang terdapat pada simplisia (Luliana *et al.*, 2016).

4.3.3 Uji rendemen ekstrak

Hasil dari uji rendemen ekstrak buah belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Uji Rendemen Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbing L.*)

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	%Hasil
Buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>)	1000 g	131 g	13,1%

Berdasarkan Tabel 4.3 diketahui bahwa nilai rendemen ekstrak buah belimbing wuluh yaitu sebesar 13,1%. Hasil ini menunjukkan bahwa rendemen ekstrak sesuai dengan persyaratan Farmakope Herbal Indonesia, yaitu rendemen ekstrak tidak kurang dari 6,8% (Depkes RI, 2017). Nilai tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis pelarut, konsentrasi pelarut, ukuran partikel simplisia, dan lamanya waktu ekstraksi (Susanty, 2016). Nilai rendemen ekstrak ini, menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak nilai ekstrak yang dihasilkan. Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik

dengan jumlah rendemen yang dihasilkan yang artinya semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan. (Wijaya *et al.*, 2018).

4.4 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh yang dihasilkan bebas dari etanol karena pelarut tersebut dapat membunuh bakteri sehingga dikhawatirkan mempengaruhi aktivitas antibakteri hijau (Ramadhani, 2020). Hasil uji bebas etanol ekstrak buah belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbing L.*)

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>)	H ₂ SO ₄ + kalium dikromat	+	Bebas Etanol

*Keterangan : (+) Tidak terbentuk warna jingga, hijau kebiruan.

Hasil uji bebas etanol pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh sudah bebas dari etanol. Hasil uji yang diperoleh bahwa tidak adanya perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan, melainkan ekstrak berwarna hitam kecoklatan sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh telah bebas dari etanol. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada Gambar 4.1



(a) (b)

Gambar 4.1 Uji Bebas Etanol.

Keterangan :

- a. Sebelum dilakukan uji bebas etanol
- b. Sesudah dilakukan uji bebas etanol

4.5 Skrining Fitokimia

4.5.1 Skrining Fitokimia Ekstrak

Pengujian ini dilakukan di Laboratorium Botani STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung untuk mengetahui senyawa atau metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel dengan cara menambahkan beberapa bahan kimia sehingga dapat diidentifikasi dengan adanya perubahan warna pada sampel. Menurut Ikhsanudin & Mardhiyah (2017), buah belimbing wuluh memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, tannin, terpenoid. Pada penelitian ini dilakukan 4 macam skrining, yaitu flavonoid, saponin, tannin, terpenoid. Hasil skrining fitokimia ekstrak buah belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Skrining Fitokimia Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbing L.*)

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavanoid	Etanol 96% + Mg + HCl pekat	Merah keclokatan	+
Tanin	Etanol 96% + FeCl 1%	Hitam Kehijauan	+
Saponin	<i>Aquadestilata</i>	Terbentuk busa	+

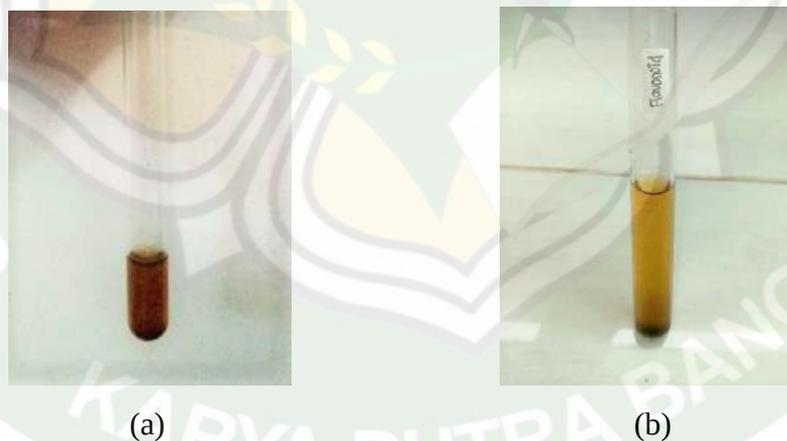
Terpenoid	Asam asetat + H ₂ SO ₄	Merah bata	+
-----------	--	------------	---

Keterangan : (+) Mengandung senyawa.

(-) Tidak mengandung senyawa.

4.5.2 Uji Flavonoid

Pengujian flavonoid bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan flavonoid di dalam ekstrak buah belimbing wuluh. Uji flavonoid dilakukan dengan mencampurkan ekstrak buah belimbing wuluh sebanyak 0,5 g dengan 3 ml etanol 96% ke dalam tabung reaksi. Campuran dikocok kemudian dipanaskan dan disaring. Filtrat yang diperoleh, ditambahkan serbuk magnesium (Mg) 0,1 g dan 2 tetes asam klorida (HCl) pekat (Putriana, 2018). Hasil uji flavonoid ekstrak buah belimbing wuluh menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga orange. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl). Penambahan serbuk Mg bertujuan agar membentuk ikatan dengan gugus karbonil pada senyawa flavonoid. Penambahan HCl bertujuan untuk membentuk garam flavilium yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah jingga (Fajriaty *et al.*, 2018). Hasil uji flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4.2



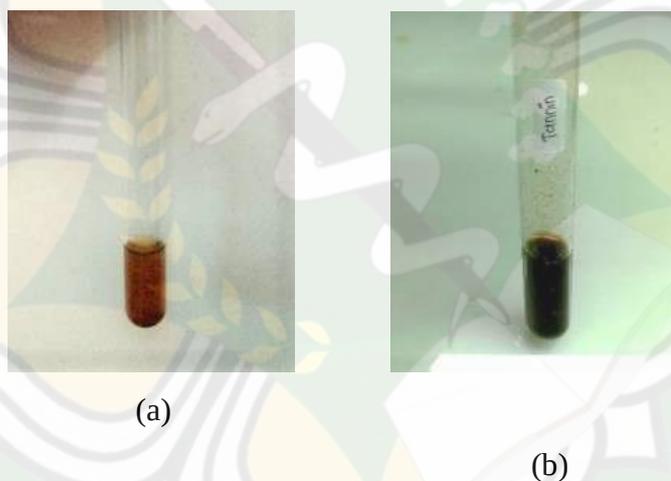
Gambar 4.2 Uji Flavonoid.

Keterangan :

- Sebelum dilakukan uji Flavonoid
- Sesudah dilakukan uji Flavonoid

4.5.3 Uji Tanin

Pada pengujian ini, diperoleh hasil positif karena hasil yang didapatkan pada ekstrak buah belimbing wuluh terbentuk warna hitam kehijauan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe_3^+ yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat. Uji skrining fitokimia menggunakan FeCl_3 karena dapat menentukan bahwa sampel tersebut mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 1% memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel tersebut terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Nuryanti *et al.*, 2014). Hasil uji tanin dapat dilihat pada Gambar 4.3



Gambar 4.3 Uji Tanin.

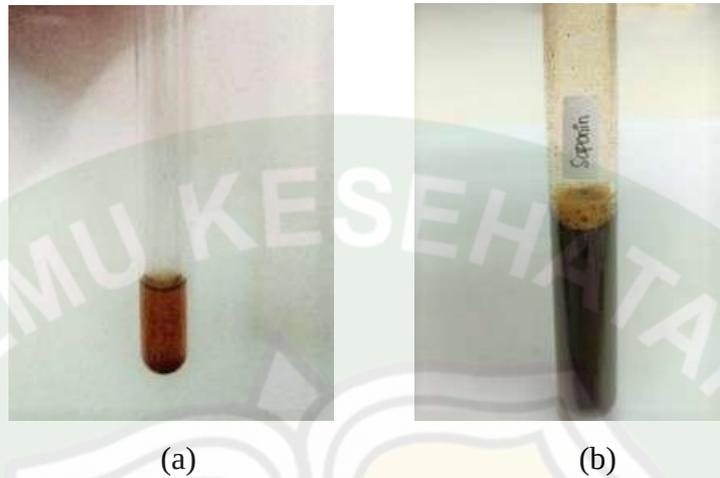
Keterangan :

- a. Sebelum dilakukan uji Tanin
- b. Sesudah dilakukan uji Tanin

4.5.4 Uji Saponin

Hasil uji saponin ekstrak buah belimbing wuluh menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya busa stabil. Busa tersebut terbentuk karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan kemudian terhidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya (Ningsih *et al.*, 2016). Hasil

uji saponin dapat dilihat pada Gambar 4.4



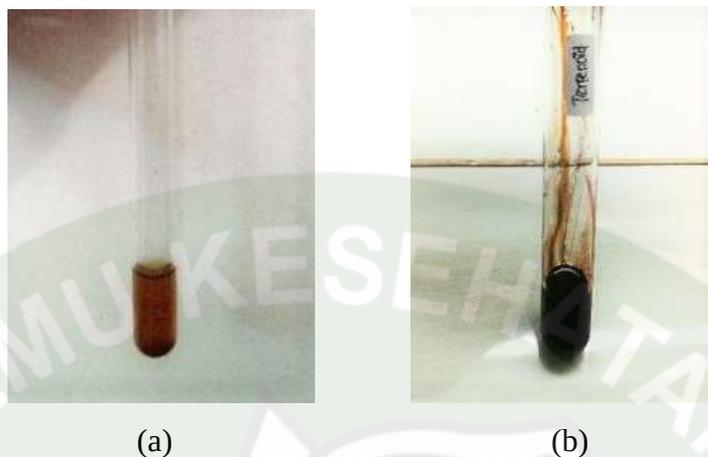
Gambar 4.4 Uji Saponin.

Keterangan :

- a. Sebelum dilakukan uji Saponin
- b. Sesudah dilakukan uji Saponin

4.5.5 Uji Terpenoid

Pengujian terpenoid bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan terpenoid di dalam ekstrak buah belimbing wuluh. Pemeriksaan terpenoid dilakukan dengan penambahan pereaksi *Lieberman Burchard* yang terdiri dari asam asetat dan asam sulfat pekat. *Liebermann-Buchard* (asam asetat) yang nantinya akan memberikan warna merah jingga atau ungu untuk terpenoid dan biru untuk steroid. Pada penambahan pereaksi *Liebermann-Buchard*, molekul-molekul asam anhidrida asetat dan asam sulfat akan berikatan dengan molekul senyawa terpenoid/steroid sehingga menghasilkan reaksi yang tampak pada perubahan warna. Hasil uji terpenoid ekstrak buah belimbing wuluh menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan timbulnya warna merah bata (Yanti *et al.*, 2019). Hasil uji terpenoid dapat dilihat pada Gambar 4.5



Gambar 4.5 Uji Terpenoid.

Keterangan :

- a. Sebelum dilakukan uji Terpenoid
- b. Sesudah dilakukan uji Terpenoid

4.6 Formulasi Sediaan Gel

Formulasi sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh dengan menentukan hasil nilai optimum dari kedua *gelling agent* CMC-Na dan Carbopol 940. Sebelum menentukan formula optimum, dilakukan terlebih dahulu uji pendahuluan dengan menggunakan basis CMC-Na dan Carbopol 940 menggunakan aplikasi *software design expert* untuk mengetahui variasi konsentrasi kedua *gelling agent*. Variasi konsentrasi kombinasi dari kedua *gelling agent* itu sendiri dapat dilihat dengan memasukkan nilai rentang konsentrasi dari CMC-Na dan Carbopol 940 hasil *design expert* (Susianti, *et al.*,2021) dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Formula gel ekstrak buah belimbing wuluh (Susianti, *et al.*,2021)

Bahan	Jumlah (g)
Ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh	3
Carbopol 940 (<i>Merck</i>)	0.5-2.0

CMC-Na (<i>Merck</i>)	3.0-6.0
TEA (<i>Merck</i>)	0,6
Metil Paraben (<i>Merck</i>)	0,06
Gliserin (<i>Socimas</i>)	3,99
Propilen glikol (<i>Merck</i>)	2
Aquadest ad	Ad 30 ml

Hasil dari kombinasi kedua *gelling agent* menunjukkan jumlah formulasi dengan cara memasukkan nilai rentang konsentrasi dari CMC-Na dan Carbopol 940 kemudian didapatkan hasil variasi konsentrasi (Susanto, 2008).

Data yang didapatkan dari hasil uji evaluasi dari kedua *gelling agent* kemudian dibandingkan dengan persyaratan yang terdapat pada literatur pengujian. Formula optimum yang diperoleh ditentukan dengan menggunakan bantuan *software Design Expert* berdasarkan total konsentrasi yang dihasilkan (Ermawati, *et al.*,2018) dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Variasi konsentrasi kombinasi CMC-Na dan carbopol 940 hasil *design expert*.

Run	Jumlah (g)	
	CMC-Na	Carbopol 940
1	4,43	1,57
2	4,22	1,78
3	4,60	1,40
4	5,28	0,72
5	4,43	1,57
6	4,43	1,57
7	4,00	2,00
8	4,00	2,00
9	5,50	0,50
10	5,08	0,92
11	4,76	1,24
12	4,92	1,08
13	5,50	0,50
14	5,08	0,92

4.7 Nilai Respon Formulasi Sediaan Gel Menggunakan Metode SLD

Nilai respon dari 14 run formula yang dilihat dari parameter Uji daya lekat, daya sebar dan Uji Viskositas. Hasil persamaan dilakukan untuk melihat apakah persamaan dari hasil penelitian ini valid atau tidak. Hasil penelitian ini divalidasi dengan uji satu arah menggunakan *Software Design Expert Version 13 Trial* sehingga didapatkan nilai *importance*. Validasi yang dilakukan, didapatkan nilai *importance* dari masing-masing respon, nilai *importance* dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Nilai Uji daya lekat, daya sebar dan Uji viskositas masing-masing run formula.

Run	Respon		
	Uji daya lekat (detik)	Uji daya sebar (cm)	Viskositas (dPas)
1	10.35	5	60
2	11.32	5.5	75
3	11.54	5.3	60
4	10.21	5.92	70
5	10.35	5	60
6	10.35	5	60
7	11.05	5.17	75
8	11.05	5.17	75
9	10.25	5.37	75
10	10.11	6.35	60
11	11.05	6.17	60
12	10.19	5.37	75
13	10.25	5.37	75
14	10.11	6.35	60

Berdasarkan persamaan respon daya lekat dapat dilihat bahwa koefisien campuran CMC-Na dan Carbopol 940 memiliki kriteria *Minimize* (+++) yang menandakan kombinasi basis CMC-Na dan Carbopol 940 dapat memberikan pengaruh paling besar dalam meningkatkan daya lekat sediaan gel. Persamaan respon daya sebar menunjukkan bahwa semua komponen memberikan pengaruh

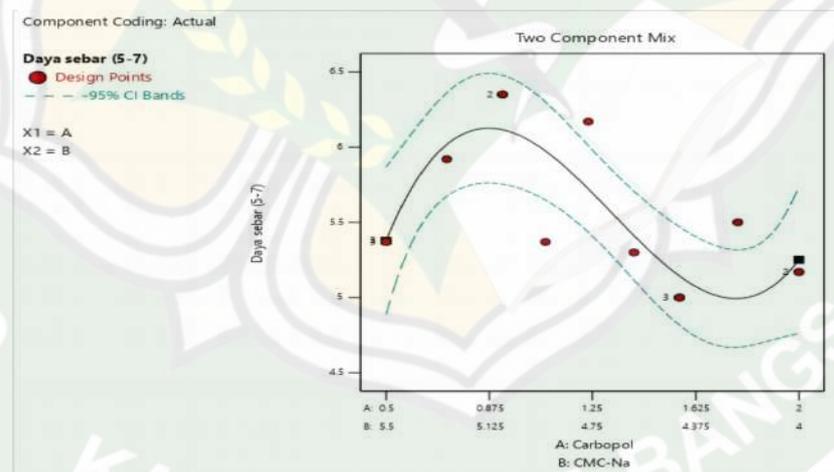
pada peningkatan daya sebar sediaan gel. Campuran CMC-Na dan Carbopol 940 memiliki nilai kriteria paling besar *Maximize* (++++), hal tersebut menandakan kombinasi CMC-Na dan Carbopol 940 dapat berpengaruh terhadap daya sebar sediaan gel. Berdasarkan persamaan pada di atas dapat dilihat hasil untuk masing-masing respon yaitu untuk respon Viskositas memiliki kriteria *inrange* (+++) dengan campuran basis CMC-Na dan Carbopol 940 memiliki nilai yang menandakan kombinasi basis CMC-Na dan Carbopol 940 dapat mengetahui kekentalan dari viskositas sediaan gel yang baik dapat dilihat pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Hasil persamaan respon

Respon	Kriteria	Importance	Keterangan
Uji daya lekat	<i>Minimize</i>	+++	Penting
Uji daya sebar	<i>Maximize</i>	++++	Paling penting
Uji viskositas	<i>In range</i>	+++	Penting

Grafik untuk masing-masing respon daya lekat, daya sebar dan viskositas dalam optimasi 14 Run formula dapat dilihat pada Gambar 4.6.

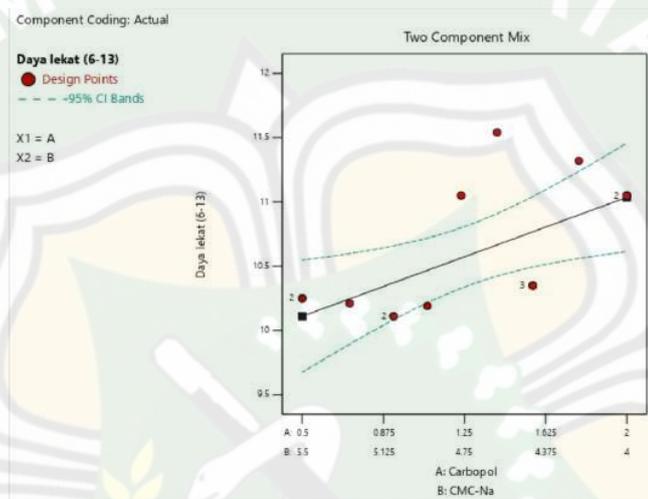
Gambar 4.6 Hasil gambar dari persamaan respon



Gambar (a) grafik hasil respon Daya sebar

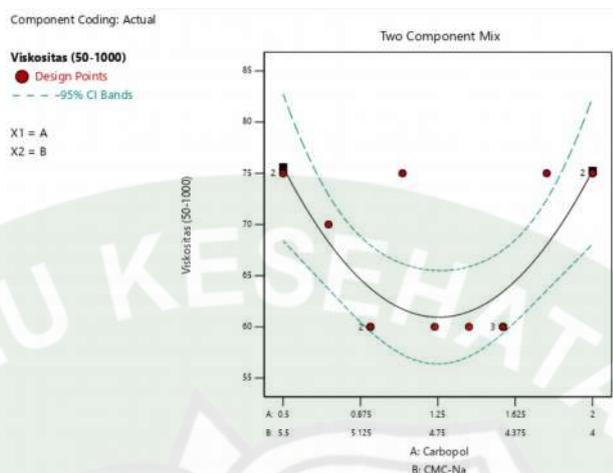
Berdasarkan *contour plot* daya sebar gel pada gambar (a) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi CMC-Na maka daya sebar sediaan akan meningkat. Hal ini dikarenakan basis CMC-Na memiliki rentang viskositas yang lebih kecil (13.000 cps) dibandingkan basis Carbopol 940 (20.000-40.000 cps). Rentang

viskositas yang lebih kecil dari basis CMC-Na tersebut, akan menghasilkan daya sebar yang lebih besar jika dibandingkan dengan basis Carbopol 940 (Fachrurrozi, Syamsurizal, and Maharini, 2020). Persyaratan daya sebar untuk sediaan topikal adalah 5-7 cm (Dyera Forestryana *et al.*, 2020). Oleh karena itu, semakin tinggi konsentrasi CMC-Na dalam sediaan, daya sebar sediaan tersebut juga akan semakin tinggi.



Gambar (b) gambar hasil respon Daya lekat

Berdasarkan gambar (b) menunjukkan bahwa hasil pergeseran daya lekat tidak linear karena setiap formula mempunyai pergeseran daya sebar yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan karena terjadinya reaksi hidrolisis pada polimer Carbopol 940. Reaksi hidrolisis yang terjadi pada ikatan *cross-link* Carbopol 940 akan menyebabkan ikatan antar polimer menurun sehingga daya lekat sediaan menjadi lebih besar dari pada sebelumnya (Yuliani *et al.*, 2012). Dari hasil pengujian formula memiliki daya lekat yang baik karena masuk dalam kriteria yaitu tidak kurang dari 4 detik (Hastuty *et al.*, 2018).



Gambar (c) gambar hasil respon Viskositas

Berdasarkan gambar (c) dapat disimpulkan bahwa grafik hasil pergeseran viskositas tidak linear karena setiap formula memiliki nilai pergeseran viskositas yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan karena terjadinya reaksi hidrolisis pada polimer Carbopol 940. Reaksi hidrolisis yang terjadi pada ikatan *cross-link* akan menyebabkan ikatan antar polimer menurun dan pada akhirnya menurunkan viskositas sediaan (Yuliani *et al.*, 2012). Dari hasil uji pergeseran viskositas yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa sediaan gel memenuhi kriteria yang diinginkan. Penentuan viskositas dilakukan dengan menggunakan *viscometer stormer*. Persyaratan viskositas yang baik pada sediaan semisolid adalah sebesar 4000 – 40.000 cPs (Dyera Forestryana *et al.*, 2020).

4.8 Formulasi Optimum

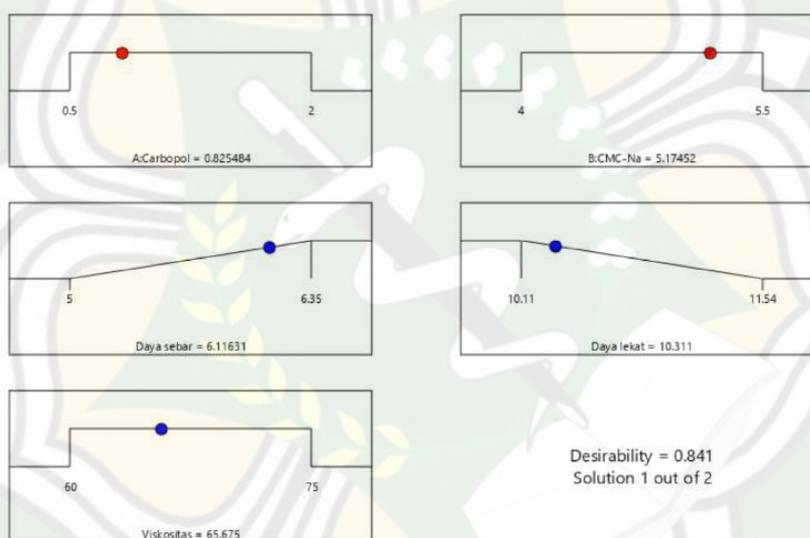
Komposisi formula optimum yang diperoleh dari prediksi *software design expert*® Versi 11 dapat dilihat pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10 Prediksi komposisi dan respon formulasi optimum hasil *software*

Respon					
CMC-Na	Carbopol 940	Daya sebar	Daya lekat	Viskositas	Desirability
5.17	0.83	6.11631	10.311	65.675	0.841

Optimasi formula bertujuan untuk menentukan komposisi yang optimum dari faktor yang digunakan yaitu CMC-Na dan Carbopol 940 sebagai *gelling agent*. Optimasi formula ditentukan berdasarkan uji sifat fisik dan stabilitas fisik

sediaan gel dengan memenuhi parameter yang diinginkan. Prediksi formula optimum menggunakan *Software Design Expert Version 13 Trial* terhadap parameter sifat fisik dan stabilitas fisik sediaan gel. Formula yang dipilih adalah formula yang memiliki nilai *desirability* mendekati maksimum. Nilai *desirability* adalah nilai fungsi untuk optimasi yang menunjukkan kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir. Nilai *desirability* biasanya berada dalam rentang 0-1. Nilai *desirability* yang semakin mendekati nilai 1,000 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna (Susianti *et al.*, 2021). Hasil *desirability* formula optimum pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 *Desirability* Formula Optimum Sediaan Gel.

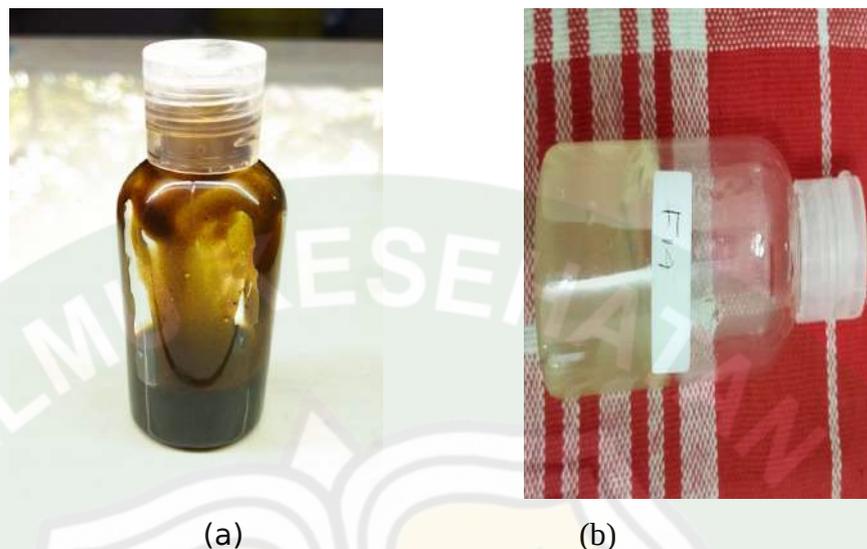
Kriteria *desirability* pada sediaan ini didasarkan pada formula yang memenuhi hasil uji kontrol kualitas yang diinginkan yaitu, daya sebar gel 5-7 cm, daya lekat antara 6-13 detik, viskositas sediaan 2-4 Pa.s, dan pada uji stabilitas sediaan sudah memenuhi kriteria. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa komposisi optimum pada formula terdapat pada formulasi CMC-Na 5,17 dan Carbopol 940 0,83 karena memiliki nilai *desirability* yang mendekati 1 dan memenuhi parameter sifat fisik yang diinginkan.

4.9 Uji Stabilitas Sediaan Gel Hand sanitizer

Tujuan uji stabilitas sediaan adalah untuk menjamin bahwa setiap bahan obat yang didistribusikan tetap memenuhi persyaratan yang ditetapkan meskipun sudah cukup lama dalam penyimpanan. Ekstrak buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 10% diformulasikan dalam 1 Formula gel dengan penambahan CMC-Na dan Carbopol 940 sebagai *gelling agent* dengan konsentrasi berbeda, yaitu 5,17 dan 0,83 sesuai rentang konsentrasi kombinasi formulasi optimum CMC-Na dan Carbopol 940 sebagai *gelling agent*. Evaluasi sediaan dilakukan pada Formula gel dengan ekstrak dan Basis gel tanpa ekstrak. Pengujian stabilitas dilakukan pada hari ke- 7, 14, 21 dan 28 meliputi uji organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, dan viskositas.

4.9.1 Uji Organoleptis

Uji organoleptik bertujuan untuk melihat tampilan fisik dari suatu sediaan yang meliputi bentuk, warna dan bau. Dalam uji organoleptis diamati secara langsung bentuk, warna dan bau dari sediaan gel ekstrak daun kemuning dan daun kelor tanpa menggunakan alat bantu. Bentuk dari gel yang dihasilkan pada penelitian ini yaitu semisolid, bau yang dihasilkan bau khas gel, bau khas gel sama seperti bau ekstrak yang dijadikan bahan aktif dalam sediaan. Sediaan berwarna coklat, warna coklat pada sediaan mengindikasikan adanya kandungan ekstrak buah belimbing wuluh yang tampak berbeda dari basis gel yaitu putih. Menurut Ansel (2005), gel biasanya jernih dengan konsistensi setengah padat namun berdasarkan hasil pengamatan, gel yang dibuat memiliki warna coklat tua yang merupakan pengaruh dari ekstrak yang digunakan.



Gambar 4.8 Uji Organoleptis. (a) Formula; (b) Basis.

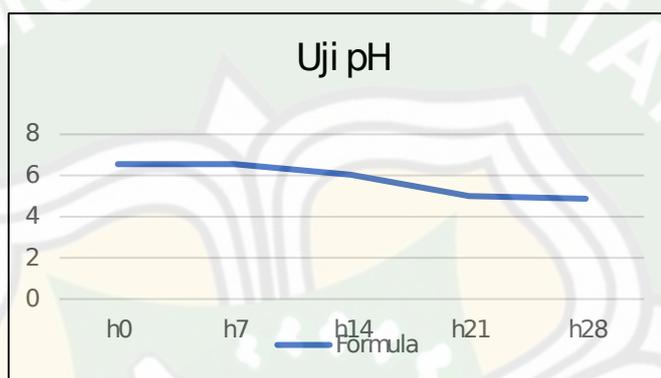
Uji ini dilakukan pengamatan berupa bau, warna, bentuk terhadap formula gel ekstrak buah belimbing wuluh dan basis gel tanpa ekstrak. Hasil pengamatan organoleptis Formula gel ekstrak menunjukkan sediaan yang dibuat berbentuk setengah padat dengan aroma khas belimbing wuluh dan berwarna coklat muda. Warna coklat dihasilkan dari warna ekstrak kental buah belimbing wuluh yang berwarna coklat, sedangkan pada Basis gel sebagai kontrol sediaan memiliki warna yang putih jernih dan bau khas. Berdasarkan hasil pengamatan, sediaan yang dibuat memenuhi parameter kualitas gel yang baik. Salah satu Formula dan Basis sebagai kontrol memiliki konsistensi semi solid (gel). Pengujian ini dilakukan pada hari ke-7, 14, 21, dan 28. Namun di hari ke-28 pada Formula mengalami perubahan warna menjadi sedikit coklat gelap, hal ini dikarenakan perubahan suhu pada saat penyimpanan sehingga mengakibatkan perubahan warna pada serum tersebut. Tabel hasil uji organoleptik sediaan dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.9.2 Uji pH

Uji pH bertujuan untuk mengetahui pH sediaan yang dibuat, yang mana harus sesuai dengan pH kulit (Naibaho *et al.*, 2013). Uji pH dilakukan dengan mengoleskan sediaan pada kertas pH universal kemudian diamati perubahan warna dan dibandingkan dengan indikator pH yang digunakan.

Tabel 4.11 Hasil Uji pH sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh

Sampel	Rata-rata Hari ke-				Rata-rata \pm SD
	7	14	21	28	
Sediaan gel	6,6	6,1	6,0	6	6 \pm 0

**Gambar 4.9** Grafik pH sediaan gel selama 4 minggu

Berdasarkan hasil uji pH yang diperoleh, sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh mempunyai nilai pH rata-rata 6 selama masa penyimpanan 4 minggu dan tidak mengalami perbedaan yang signifikan. Hal ini berarti pH sediaan sudah memenuhi kriteria pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Mappa *et al.*, 2013). Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sediaan gel stabil selama masa penyimpanan 28 hari menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan, artinya pH sediaan stabil selama penyimpanan 28 hari (Ratnapuri *et al.*, 2019).

Perubahan pH sediaan selama penyimpanan menandakan kurang stabilnya sediaan selama penyimpanan. Ketidak stabilan ini dapat merusak produk selama penyimpanan atau penggunaan. Perubahan nilai pH akan terpengaruh oleh media yang terdekomposisi oleh suhu tinggi saat pembuatan atau penyimpanan yang menghasilkan asam atau basa, asam atau basa ini mempengaruhi pH. Selain itu perubahan pH juga disebabkan faktor lingkungan seperti suhu, penyimpanan, yang kurang baik (Young *et al.*, 2002). Hasil dari uji pH bisa dilihat pada Lampiran 4.

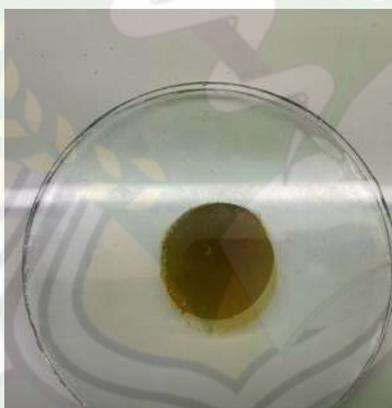
4.9.3 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh pada gelas obyek secara merata dan diamati secara visual. Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui tidak adanya butiran kasar pada sediaan (Sayuti, 2015). Hasil uji homogenitas sediaan gel buah belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.12 dan pada Lampiran 4.

Tabel 4.12 Hasil uji homogenitas

Sampel	Rata-rata Hari ke-			
	7	14	21	28
Sediaan gel	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Berdasarkan Tabel 4.12 diketahui bahwa sediaan gel yang dibuat sudah homogen yang ditandai dengan tidak adanya butiran kasar dalam sediaan serta tetap stabil selama masa penyimpanan.



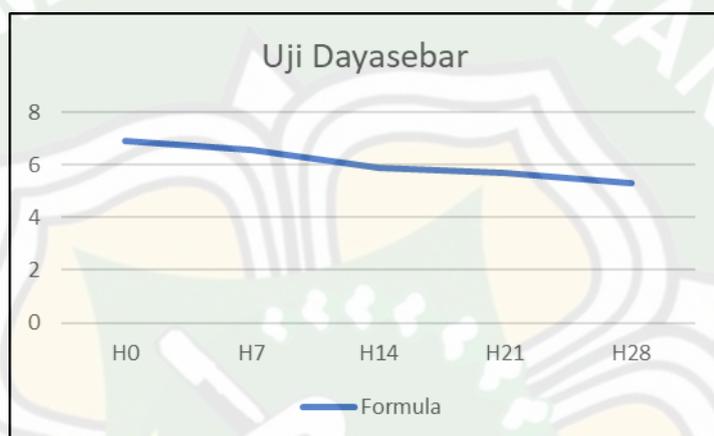
Gambar 4.10 Uji Homogenitas

4.9.4 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan penyebaran gel. Pengujian daya sebar merupakan salah satu syarat dari suatu sediaan semisolid. Suatu sediaan semisolid memiliki daya sebar yang tinggi maka akan memberikan daerah penyebaran yang luas pada kulit sehingga zat aktif yang terkandung akan tersebar secara merata.

Tabel 4.13 Hasil uji daya sebar
Rata-rata (cm) Hari ke-

Sampel	Rata-rata (cm) Hari ke-				Rata-rata ± SD
	7	14	21	28	
Sediaan gel	6.9	6.30	6.02	5.40	6 ± 0.667



Gambar 4.11 Grafik dari pengukuran uji daya sebar

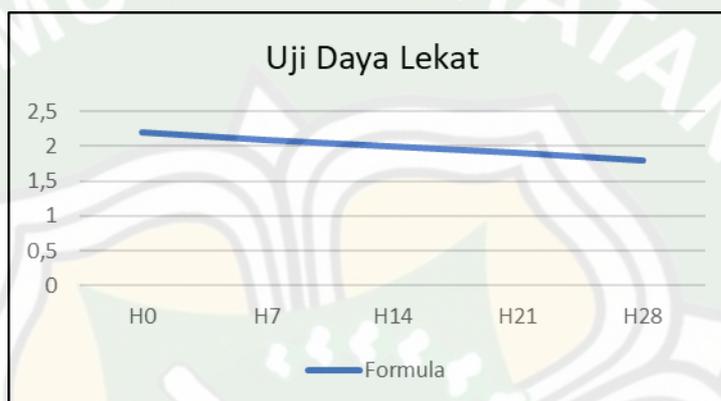
Berdasarkan Tabel 4.13, dapat diketahui bahwa pengujian daya sebar gel buah belimbing wuluh telah sesuai dengan ketentuan dari uji daya sebar. Daya sebar sediaan pada hari ke-0 sampai hari ke-28 memperlihatkan hasil yang sama atau tidak jauh berbeda dan masih dalam rentan yang ditentukan yaitu 5-7 cm (Wasiaturrahmah, 2018). Adanya bahan alam ekstrak mempengaruhi daya sebar gel dengan terjadinya penurunan viskositas (Dila, 2012). Sehingga dapat disimpulkan bahwa gel yang dibuat memiliki daya sebar yang stabil selama masa penyimpanan. Hasil uji daya sebar bisa dilihat pada Lampiran 4.

4.9.5 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan gel untuk melekat ketika dioleskan pada kulit. Daya lekat yang rendah menggambarkan bahwa sediaan mudah terlepas dari kulit sehingga memberikan efek yang kurang maksimal. Daya lekat sediaan gel sebaiknya lebih dari 1 detik (Afianti *et al.*, 2015). Hasil uji daya lekat dapat dilihat pada Tabel 4.14 dan pada Lampiran 4.

Tabel 4.14 Hasil uji daya lekat

Sampel	Rata-rata Hari ke-				Rata-rata \pm SD
	7	14	21	28	
Sediaan gel	2.2	2.0	1.58	1.55	2 \pm 0,149

**Gambar 4.12** Grafik pengukuran uji daya lekat

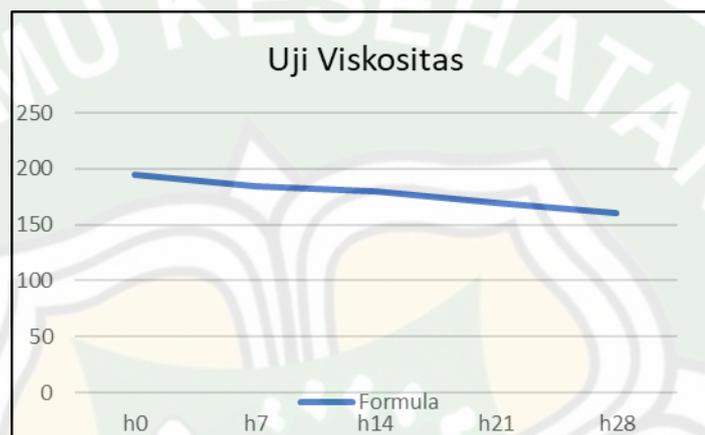
Berdasarkan Tabel 4.14, diketahui bahwa sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh memiliki daya lekat yang sesuai dengan ketentuan yaitu ≥ 1 detik (Afianti *et al.*, 2015). Sediaan gel yang dibuat memiliki daya lekat yang stabil selama masa penyimpanan yang ditandai dengan tidak adanya perubahan yang signifikan pada hasil uji daya lekat dari hari ke-0 hingga hari ke-28. Gel yang memiliki daya lekat yang tinggi akan melekat lama di kulit, sebaliknya gel yang memiliki daya lekat yang rendah akan cepat hilang dari kulit hal tersebut dipengaruhi oleh viskositas sediaan gel (Afianti *et al.*, 2015).

4.9.6 Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer *Rion* menggunakan rotor nomor 1. Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui kekentalan dari gel. Gel yang tidak terlalu cair maupun tidak terlalu kental merupakan ciri gel yang baik. Viskositas gel yang baik berada pada rentang 50 – 1000 dPa.s, dengan viskositas optimal 200 dPa.s (Nurahmanto *et al.*, 2017).

Tabel 4.15 Hasil uji viskositas

Sampel	Rata-rata (dPas) Hari ke-				Rata-rata \pm SD
	7	14	21	28	
Sediaan gel	195	185	170	165	178 \pm 13,509



Gambar 4.13 Grafik viskositas sediaan gel

Hasil uji viskositas menunjukkan adanya penurunan pada viskositas selama penyimpanan 4 minggu. Viskositas gel dipengaruhi oleh konsentrasi CMC-Na dan Carbopol 940. Carbopol 940 bertanggung jawab terhadap terbentuknya matriks gel. Selama penyimpanan, Carbopol 940 dapat mengalami kerusakan yang menyebabkan perubahan viskositas gel. Hal ini dapat disebabkan oleh suhu dan kemasan yang kurang kedap sehingga gel menyerap uap air dari luar dan menambah volume air dalam gel. Penambahan bahan-bahan lain seperti propilenglikol dan gliserin yang konsistensinya cair, dapat menurunkan viskositas sediaan gel (Nutrisia, 2015). Meskipun mengalami penurunan hasil viskositas sediaan gel yang dibuat sudah memenuhi syarat nilai viskositas sediaan gel karena masih masuk dalam rentang viskositas yaitu 50-1000 dPa.s (Nurahmanto *et al.*, 2017). Hasil dari uji viskositas bisa dilihat pada Lampiran 2.

4.10 Uji Aktivitas Antibakteri

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui identitas dari bakteri uji yang digunakan. Bakteri uji pada penelitian ini adalah *S.aureus* ATCC 23235 dan *E.coli* ATCC 25922 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan

Surabaya. Identifikasi bakteri yang dilakukan pada penelitian ini yaitu uji pewarnaan Gram dan identifikasi bakteri

4.10.1 Pewarnaan Gram Bakteri *S.aureus* ATCC 23235 dan *E.coli* ATCC 25922

Uji pewarnaan Gram merupakan teknik pewarnaan diferensial yang memisahkan bakteri menjadi dua kelompok yaitu Gram positif dan Gram negatif. Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri dan mengetahui kemurnian sel bakteri. *S.aureus* merupakan bakteri Gram positif yang menghasilkan warna ungu pada pewarnaan Gram dan berbentuk kokus ketika diamati dibawah mikroskop (Dewi, 2013). Bakteri Gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Perbedaan struktur luar dinding sel bakteri Gram positif dan negatif mengakibatkan terjadinya perbedaan warna pada akhir prosedur pewarnaan Gram (Dewi, 2013). Dinding sel terluar bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan tebal tanpa lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida sedangkan bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan tipis yang dibungkus oleh lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida (Karimela *et al.*, 2017).

Bakteri Gram positif mempertahankan zat warna kristal violet karenanya tampak ungu tua sedangkan bakteri Gram negatif kehilangan kristal violet ketika dicuci dengan alkohol dan waktu diberi pewarna tandingan dengan warna merah safranin tampak berwarna merah (Inur *et al.*, 2017). Menurut Afrianti and Muhammad (2017), perbedaan warna tersebut dikarenakan perbedaan ketebalan dinding peptidoglikan bakteri, bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan lebih tipis dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Perbedaan ketebalan dinding ini mengakibatkan perbedaan kemampuan afinitas dengan pewarna Gram. Hasil uji pewarnaan pada penelitian ini yaitu berwarna merah yang berarti hasil positif bakteri *E.coli* ATCC 25922. Hasil pewarnaan bakteri *S.aureus* ATCC 23235 dan *E.coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada Gambar 4.14.



a. Bakteri *S.aureus* ATCC 2325

b. Bakteri *E.coli* 25922

Gambar 4.14 Pewarnaan pada bakteri

4.11 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235

Uji aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram yaitu sediaan gel yang terdapat pada kertas cakram akan berdifusi ke dalam media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji yaitu *S.aureus* ATCC 23235. Metode ini dipilih karena proses pengerjaan yang mudah dilakukan dan tidak memerlukan peralatan khusus (Harlita *et al.*, 2019). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri yaitu *S.aureus* ATCC 23235. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan adanya zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram (Rahmadani, 2015).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak buah belimbing wuluh dilakukan pada dua bakteri yaitu *S.aureus* ATCC 23235 sebagai Gram positif. Pengujian antibakteri ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 23235 dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram digunakan karena pada metode ini proses pengerjaan mudah untuk dilakukan serta peralatan yang digunakan sederhana dan tidak memerlukan

peralatan khusus (Rahmadani, 2015). Prinsip dari metode difusi cakram yaitu sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh yang terdapat pada kertas cakram akan berdifusi kedalam media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji yaitu *S.aureus* ATCC 23235, sehingga sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh akan menghambat pertumbuhan dari bakteri *S.aureus* ATCC 23235.



Gambar 4.15 Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235

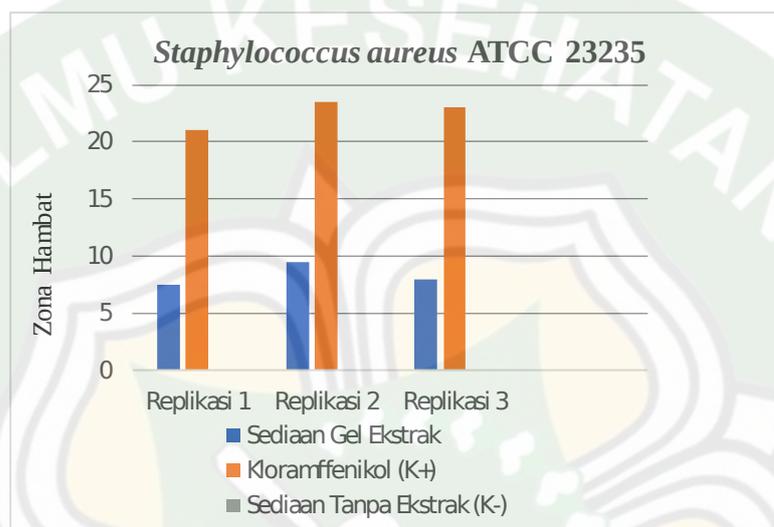
Tabel 4.16 Hasil uji aktivitas antibakteri *S.aureus* ATCC 23235

Sampel	Diameter (mm)			Rata-rata±	Sifat
	RI	RII	RIII	Sd	
I	7,5	9,5	8	8.4 ± 0,4	Sedang
II	21	23,5	23	22,8 ± 1,527	Kuat
III	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat

Keterangan : I : Sampel sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbing L.*)

II : Sampel kloramfenikol (K+)

III : Sampel sediaan tanpa ekstrak (K-)



Gambar 4.16 Diagram zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235

Tabel 4.17 Hasil Uji Tukey Subset ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235

		Zona Hambat (mm)			
		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	K- <i>S.aureus</i>	3	0,00		
	GEWB 10% <i>S.aureus</i>	3		8,33	
	K+ <i>S.aureus</i>	3			22,5
Sig.			1,00	1,00	1,00

Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol karena kloramfenikol memiliki mekanisme yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam buah belimbing wuluh yaitu senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA serta merusak membran sel bakteri (Rijayanti, 2014). Kloramfenikol mampu

mengubah proses denaturasi protein dan asam nukleat pada bakteri sehingga antibiotik ini dapat merusak sel bakteri (Ganiswara, 2012). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Ratna *et al* 2016) yang mana dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa kontrol positif kloramfenikol dapat menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *S.aureus* sebesar 16-22 mm yang termasuk dalam kategori kuat. Sehingga bakteri *S.aureus* bersifat sensitif terhadap kloramfenikol (Ratna *et al.*, 2016).

Kontrol negatif yang digunakan pada uji antibakteri sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh ini adalah sediaan gel kosong atau sediaan gel yang tidak terdapat zat aktif (ekstrak buah) dalam formulasinya. Sediaan gel kosong ini berfungsi sebagai pembanding dan untuk mengetahui basis gel yang digunakan terdapat aktifitas antibakteri terhadap *S.aureus* atau tidak. Kontrol negatif digunakan untuk melihat adanya aktivitas antibakteri pada pelarut atau tidak sehingga tidak menimbulkan bias pada hasil penelitian (Sudarmi *et al.*, 2017). Berdasarkan tabel 4.16 dapat diketahui bahwa hasil zona hambat kontrol negatif pada penelitian ini memiliki rata-rata $0,00 \pm 0,000$. Berdasarkan analisis statistik menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kontrol positif dan sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh yang dibuktikan dengan signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri pada sediaan ekstrak (Maulana *et al.*, 2021). Menurut hasil penelitian dari (Dewi, 2013) menunjukkan bahwa sediaan gel kosong yang digunakan sebagai kontrol negatif merupakan sediaan yang baik yang dapat melarutkan basis gel tanpa memberikan pengaruh zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh mempunyai aktivitas antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Klasifikasi respon daya hambat antibakteri yang dilihat dari zona bening menurut (Jannata, 2014) terdiri dari 4 respon, yaitu sangat kuat (≥ 20 mm), kuat (10 – 20 mm), sedang (5 – 10 mm), lemah (≤ 5 mm). Dari hasil penelitian pengujian aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak buah belimbing

wuluh pada konsentrasi 10% dengan rata - rata diameter zona hambat sebesar 8,4 mm termasuk dalam kategori “sedang” karena zona hambat yang dihasilkan berkisar antara 5 – 10 mm. Adanya zona hambat tersebut karena buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) mengandung zat kimia yaitu tanin dan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri (Susanto et al., 2012).

Mekanisme kerja senyawa tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Hal ini dikarenakan pada senyawa tanin mempunyai target dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna, sehingga sel bakteri akan mati, serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Sapara *et al.*, 2016).

Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri, merusak membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi bakteri dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri (Sapara *et al.*, 2016). fenol dan protein membentuk ikatan hidrogen yang mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma. Sehingga permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu akan terjadi ketidakseimbangan dalam sel yang menyebabkan sel menjadi lisis (Rijayanti *et al.*, 2014).

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah belimbing wuluh memiliki zona hambat yang sedang dibandingkan dengan kontrol negatif, Hal ini terjadi karena sediaan gel menghambat pelepasan kandungan senyawa aktif dari ekstrak untuk berdifusi kedalam media, sehingga ekstrak yang terkandung dalam sediaan tidak terlepas sempurna dalam media yang menghasilkan aktivitas antibakteri sediaan lebih rendah dibandingkan ekstrak sebagai kontrol positif (Nuralifah *et al.*, 2019). Kontrol negatif yang dipakai berupa basis gel tanpa ekstrak tidak memiliki zona hambat dikarenakan tidak mengandung zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Jihan 2021).

Berdasarkan analisis statistik menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif dibandingkan dengan sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh dan kontrol negatif mempunyai perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hasil

tersebut dapat terjadi karena antibiotik kloramfenikol 500 mg merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri dan buah belimbing wuluh (Handayani *et al.*, 2020). Kandungan zat aktif dari buah belimbing wuluh lainnya yang memiliki kemampuan mengganggu metabolisme dan permeabilitas bakteri, akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan mati (Widianingrum *et al.*, 2017).

4.12 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Uji aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram yaitu sediaan gel yang terdapat pada kertas cakram akan berdifusi ke dalam media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji yaitu *E.coli* ATCC 25922. Metode ini dipilih karena proses pengerjaan yang mudah dilakukan dan tidak memerlukan peralatan khusus. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri yaitu *S.aureus* ATCC 23235. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan adanya zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram (Rahmadani, 2015).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak buah belimbing wuluh dilakukan pada dua bakteri yaitu *E.coli* ATCC 25922 sebagai Gram negatif. Pengujian antibakteri ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *E.coli* ATCC 25922 dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram digunakan karena pada metode ini proses pengerjaan mudah untuk dilakukan serta peralatan yang digunakan sederhana dan tidak memerlukan peralatan khusus (Rahmadani, 2015). Prinsip dari metode difusi cakram yaitu sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh yang terdapat pada kertas cakram akan berdifusi kedalam media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji yaitu *E.coli*

ATCC 25922, sehingga sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh akan menghambat pertumbuhan dari bakteri *E.coli* ATCC 25922.



Gambar 4.17 Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

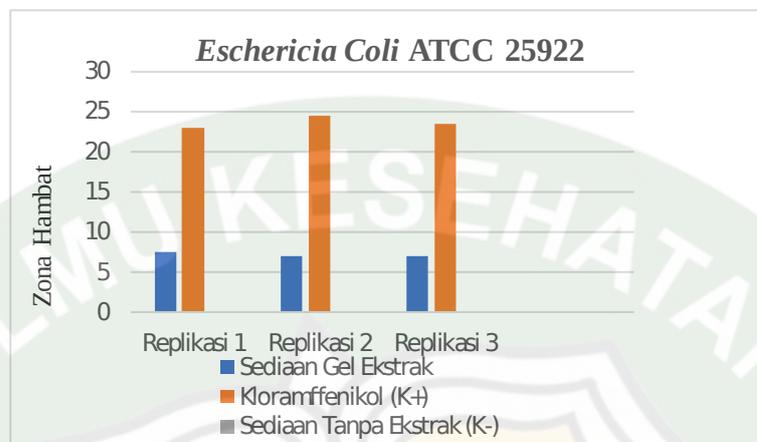
Tabel 4.18 Hasil uji aktivitas antibakteri *Escherichia coli*

Sampel	Konsentrasi	Diameter (mm)			Rata-rata	Sifat
		I	II	III		
I	10%	7,5mm	7mm	7mm	7,2±0,3	Sedang
II	1%	23mm	24,5mm	23mm	23,5±1,530	Kuat
III	-	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat

Keterangan : I : Sampel sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbing L.*)

II : Sampel kloramfenikol (K+)

III : Sampel sediaan tanpa ekstrak (K-)



Gambar 4.18 Diagram zona hambat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Tabel 4.19 Hasil Uji Tukey Subset ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

		Diameter Zona Hambat (mm)			
		Konsentrasi Ekstrak	Subset for alpha = 0.05		
		N	1	2	3
Tukey HSD ^a	K- <i>E.coli</i>	3	0,00		
	GEWB 10% <i>E.coli</i>	3		7,16	
	K+ <i>E.coli</i>	3			23,5
	Sig.		1,00	1,00	1,00

Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol karena kloramfenikol memiliki mekanisme yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam buah belimbing wuluh yaitu senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA serta merusak membran sel bakteri (Rijayanti, 2014). Kloramfenikol mampu mengubah proses denaturasi protein dan asam nukleat pada bakteri sehingga antibiotik ini dapat merusak sel bakteri (Ganiswara, 2012). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ratna *et al* (2016) yang mana dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa kontrol positif kloramfenikol dapat menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *E.coli* sebesar 16-22 mm yang termasuk dalam kategori

kuat. Sehingga bakteri *E.coli* bersifat sensitif terhadap kloramfenikol (Ratna *et al.*, 2016).

Kontrol negatif yang digunakan pada uji antibakteri sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh ini adalah sediaan gel kosong atau sediaan gel yang tidak terdapat zat aktif (ekstrak buah) dalam formulasinya. Sediaan gel kosong ini berfungsi sebagai pembanding dan untuk mengetahui basis gel yang digunakan terdapat aktifitas antibakteri terhadap *E.coli* atau tidak. Kontrol negatif digunakan untuk melihat adanya aktivitas antibakteri pada pelarut atau tidak sehingga tidak menimbulkan bias pada hasil penelitian (Sudarmi *et al.*, 2017). Berdasarkan tabel 4.18 dapat diketahui bahwa hasil zona hambat kontrol negatif pada penelitian ini memiliki rata-rata $0,00 \pm 0,000$. Berdasarkan analisis statistik menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kontrol positif dan sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh yang dibuktikan dengan signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri pada sediaan ekstrak (Maulana *et al.*, 2021). Menurut hasil penelitian dari (Dewi, 2013) menunjukkan bahwa sediaan gel kosong yang digunakan sebagai kontrol negatif merupakan sediaan yang baik yang dapat melarutkan basis gel tanpa memberikan pengaruh zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh mempunyai aktivitas antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Klasifikasi respon daya hambat antibakteri yang dilihat dari zona bening menurut (Jannata, 2014) terdiri dari 4 respon, yaitu sangat kuat (≥ 20 mm), kuat (10 – 20 mm), sedang (5 – 10 mm), lemah (≤ 5 mm). Dari hasil penelitian pengujian aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh pada konsentrasi 10% dengan rata - rata diameter zona hambat sebesar 8,4 mm termasuk dalam kategori “sedang” karena zona hambat yang dihasilkan berkisar antara 5 – 10 mm. Adanya zona hambat tersebut karena buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) mengandung zat kimia yaitu tanin dan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri.

Mekanisme kerja senyawa tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Hal ini dikarenakan pada senyawa tanin mempunyai target dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna, sehingga sel bakteri akan mati, serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Sapara *et al.*, 2016).

Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri, merusak membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi bakteri dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri (Sapara *et al.*, 2016). Fenol dan protein membentuk ikatan hidrogen yang mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma. Sehingga permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu akan terjadi ketidakseimbangan dalam sel yang menyebabkan sel menjadi lisis (Rijayanti *et al.*, 2014).

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah belimbing wuluh memiliki zona hambat yang sedang dibandingkan dengan kontrol negatif, Hal ini terjadi karena sediaan gel menghambat pelepasan kandungan senyawa aktif dari ekstrak untuk berdifusi ke dalam media, sehingga ekstrak yang terkandung dalam sediaan tidak terlepas sempurna dalam media yang menghasilkan aktivitas antibakteri sediaan lebih rendah dibandingkan ekstrak sebagai kontrol positif (Nuralifah *et al.*, 2019). Kontrol negatif yang dipakai berupa basis gel tanpa ekstrak tidak memiliki zona hambat dikarenakan tidak mengandung zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Jihan 2021).

Berdasarkan analisis statistik menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif dibandingkan dengan sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh dan kontrol negatif mempunyai perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hasil tersebut dapat terjadi karena antibiotik kloramfenikol 500 mg merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri dan buah belimbing wuluh (Handayani *et al.*, 2020). Kandungan zat aktif lainnya yang memiliki kemampuan mengganggu metabolisme dan permeabilitas

bakteri, akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan mati (Widianingrum *et al.*, 2017).



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Formulasi pada *gelling agent* yang diperoleh memiliki komposisi formula optimum dengan konsentrasi CMC-Na 5,17 dan Carbopol 940 0,83 dengan karakteristik fisik yang dihasilkan meliputi pH 6, Daya sebar 6 cm, Daya lekat 2 detik, dan Viskositas 178 dPas.
2. Sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan rata-rata zona hambat 8,4 mm dan 7,2 mm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan kombinasi formula *gelling agent* lainnya dengan metode pengujian di aplikasi *Design Expert* jenis yang lain.
2. Perlu dilakukan uji stabilitas fisik sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh dengan masa penyimpanan yang lebih lama.
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode pengujian antibakteri dan jenis bakteri yang lain.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bentuk sediaan yang berbeda untuk mengetahui keefektifan buah belimbing wuluh sebagai bahan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriana R., 2017, 'Keberadaan Bakteri *Eschericia coli* di Kawasan Wisata Pantai Tanjung Bayang dan Akkarena Kota Makassar. Skripsi.'
- Andayani, R., Chismirina, S. and Kumalasari, I., 2014. Pengaruh Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Terhadap Interaksi *Streptococcus Sanguinis* Dan *Streptococcus Mutans Secara In Vitro*. *Cakradonya Dent J*, 6(2), pp.678–744.
- Agoes, G. (2007). *Teknologi bahan alam*. Bandung: ITB.
- Azkiya, Z., Ariyani, H., & Nugaha, T.S., 2017. Evaluasi sifat fisik krim ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale Rosc. Var. Rubrum*) sebagai anti nyeri. *Journal of Current Pharmaceutica Sciences*. 1(1): 12-18.
- Aminingsi, T., Nashrianto, H. and Rohman, A. S. (2012) 'Antibacterial potential of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and identification of organic substances of bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) hexane extract', *Jurnal Fitomarfaka*, 2(1), pp. 18–26.
- Arifianti, L., Oktarina, R.D. dan Kusumawati, I. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengekstraksi terhadap kadar sinesetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus benth*. *E-Jurnal*, 2(1):3
- Bolton, S. 1997. *Pharmaeuctical tatistic : practical and clinical application*, 3rd ed, Marcel Dekker Inc. New York.
- BPOM RI. 2006. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Volume 2*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Maknanan Republik Indonesia.
- BPOM RI. 2012. *Pedoman Teknologi Formulasi Berbasis Ekstrak Volume 1*. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- BPOM RI. 2013. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- BPOM RI. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik secara In Vitro*. Jakarta : BPOM RI.

- Brieger, Gottfried. *A Laboratorium Manual for Modern Organic Chemistry*. New York : Oakland University
- Brooks, GF., Butel, JS., Morse, S. (2008) *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta.
- Cobra, L. S., Amini, H. W. and Putri, A. E. (2019). *Skirining Fitokimia Ekstrak Sokhletasi Rimpang Kunyit (Curcuma longa) dengan Pelarut Etanol 96 %*. 1(1), pp. 12–17.
- Dila T. (2012). *Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanolik Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff) Boerl.) Dengan Basis Carbomer*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Djuanda A., Mochtar H., S. A. (2002). *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Dwidjoseputro. 1982. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Djambatan
- Dwi Ratna, Yuliana Rizqi., Ardani, Utari Sita., Fathiana, Zakiah., Rahmatullah, Annie., Trisharyanti D.K., Ika. 2016. Daya Antibakteri Ekstrak dan FraksiFraksi Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Sensitif dan Multiresisten. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 14, No. 1, p : 103-110.
- Departemen Pertanian. 2007. *Prospek dan Pengembangan Tanaman Obat*. Jakarta: Departemen Pertanian
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Hal : 2-8.
- Depkes RI. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Hal. XXX
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* . Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, hal. 1-3.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 3-30.
- Depkes RI.(2007). *Pedoman Pencegahan Dan Penanggulangan Infeksi Di Rumah Sakit Dan Fasilitas Kesehatan Lainnya*. Jakarta: departemen kesehatan RI.

- Depkes RI. 2008. Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI, 2008, Farmakope Herbal Indonesia (Edisi 1), Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia (II)*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Dessi Nur F. T. (2018). *Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kemuning (murraya paniculata) Terhadap Bakteri Escherichia Coli dan Staphylococcus Aureus*. Skripsi. Universitas Negeri Gorontalo.
- Dewi, A. K. (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). <https://doi.org/10.2105/Ajph.45.9.1138>.
- Dyera Forestryana, Yuliani and Aristha Novyra Putri, 2020. OPTIMASI FORMULA SEDIAAN KRIM EKSTRAK ETANOL 95% DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Borneo Journal of Pharmascientech*, 4(1), pp.22–31.
- Ermawati, D.E., Hidayah, N.N., Romani, S., 2018. Optimization combination of suweg starch (*Amorphophallus campanulatusdecne*) and gambili starch (*Dioscorea esculenta* (lour.) Burk.) as filler of ibuprofen tablet by simplex lattice design method. IOP conference series ; materials science and engineering.
- Fachrurrozi, R., A., Syamsurizal, Maharini, I., 2020. Optimasi Formula dan uji Aktivitas Antibakteri Oral Gel Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) menggunakan Metode *Simplex Lattice Design*. 1-14.
- Fadhilah, R., 2013. Formulasi Lotion ekstrak kaya Tanin Daun belimbing Wuluh (*Averhoa bilimbi* L.) dan Uji aktivitas Antibakterinya. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Purwokerto.
- Fatmawaty, A., Michrun, N., & Radhia, R., 2015. *Teknologi Sediaan Farmasi*. Yogyakarta: Deepublish.

Febriani, Nurida Wulan, 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi-fraksi Dari Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis Jacq*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Bacillus Subtilis* Serta Profil KLTnya. , pp.1–18.

Fajriaty I. H., and Setyaningrum R., 2018, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri Burm . F.*), *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7(1), pp. 54–

67.LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Buah Belimbing Wuluh





PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/ 543/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Belimbing Wuluh

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : FEBRY IRVANDA
NIM : 1813206009
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman belimbing wuluh

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Geraniales
Suku : Oxalidaceae
Marga : Averrhoa
Jenis : *Averrhoa bilimbi* L.
Nama Daerah : Limeng, selimeng, thlimeng (Aceh); balimbieng (Minangkabau); belimbing asam (Melayu); Balimbing (Lampung); calincing, balingbing (Sunda); belimbing wuluh (Jawa); bhalingbhing bulu (Madura); blingbing buloh (Bali).

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225b-225b-227b-229b-230b-234b-235b-236b-237b-238b:Oxalidaceae-a:Averrhoa-1b:A.bilimbi.

2. Morfologi

: Habitus: Pohon, tinggi 5-10 m. Batang: Tegak, bercabang-cabang, permukaan kasar, banyak tonjolan, hijau kotor. Daun: Majemuk, menyirip, anak daun 25-45 helai, bulat telur, ujung meruncing, pangkal membulat, panjang 7-10 cm, lebar 1-3 cm, bertangkai pendek, pertulangan menyirip, hijau muda, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk malai, pada tonjolan batang dan cabang, menggantung, panjang 5-20 cm, kelopak ± 6 mm, merah, daun mahkota bergandengan, bentuk lanset, ungu. Buah: Buni, bulat, panjang 4-6 cm, hijau kekuningan. Biji: Lanset atau segi tiga, masih muda hijau setelah tua kuning kehijauan. Akar: Tunggang, coklat kehitaman.

3. Bagian yang digunakan : Buah.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

18. Van Steenis, CCGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*, Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 03 Agustus 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

(Signature)
ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 2 Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922



Surabaya, 22 April 2022

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Mita Uly Andini
 Institusi : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 04 April 2022
 Keperluan : Penelitian skripsi dengan judul, "Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L.) dan Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*."

Keterangan jenis strain

Bakteri : *Escherichia coli*
 ATCC : ATCC 25922
 Passage : #4

Hasil Uji Biokimia bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 :

NO	JENIS UJI	HASIL	
1	Pengecatan Gram	Gram negatif batang	
2	KIA	Lereng	Acid
		Dasar	Acid
		Gas	Positif
		H ₂ S	Negatif
3	Glukose	Positif, Gas Positif	
4	Laktose	Positif, Gas Positif	
5	Maltose	Positif, Gas Positif	
6	Mannose	Positif, Gas Positif	
7	Sukrose	Negatif	
8	Indol	Positif	
9	Methyl Red	Positif	
10	Voges Proskauer	Negatif	
11	Simon sitrat	Negatif	
12	Urease	Negatif	
13	Motility	Positif	
14	Lysin Decarboxilase	Positif	

Manajer Teknis


 dr. Titiek S, M.Ked Klin, Sp.MK
 NIP. 198207262010122002



Management
 System
 2021-2025
 www.kemkes.go.id



Lampiran 3 Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
 Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388
 Website : bbksurabaya.id; Surat elektronik : bbksu@yahooc.co.id



Surabaya, 24 Maret 2021

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Monica Vabbella Damayanti
 Institusi : STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 24 Februari 2021
 Keperluan : Penelitian Tugas Akhir
 Keterangan dan Hasil Uji Biokimia bakteri :

Bakteri : *Staphylococcus aureus*
 ATCC : ATCC 25923
 Passage : #3

Hasil Uji Biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

No	Jenis Uji	Hasil
1	Pengecatan Gram	Gram positif coccus bergerombol
2	Glukose	Positif (+)
3	Sukrose	Positif (+)
4	Manitol	Positif (+)
5	Katalase	Positif (+)
6	Koagulase	Positif (+)
7	DNase	Positif (+)
8	Haemolisa	β Haemolitik



Manager Teknis
 DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
 BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Dr. Titiek S. M. Ked Klin, Sp.MK
 NIP. 195207262010122002



Management System
 ISO 9001:2015



www.bina-mandiri.com
 © BINA MANDIRI

Lampiran 4. Lampiran Dokumentasi Penelitian

1. Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)



Penimbangan Serbuk Simplisia



Proses Maserasi



Penyaringan Filtrat



Ekstrak kental buah belimbing wuluh

2. Skrining Fitokimia



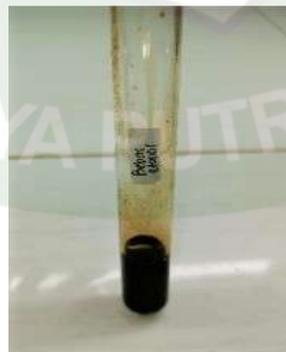
Uji Tanin

Uji Flavonoid

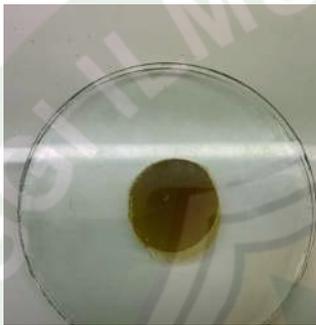
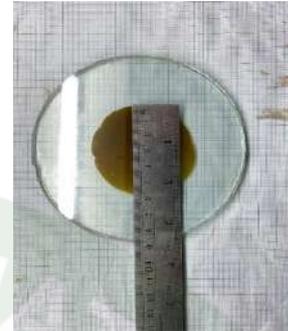
Uji Terpenoid



Uji Saponin



Bebas Etanol**3. Uji Stabilitas Gel****Formula****Basis****4. Uji Fisik Sediaan Gel Ekstrak Buah Belimbing Wuluh**



Uji Homogenitas

Uji pH

Uji Daya Sebar



Uji Daya Lekat

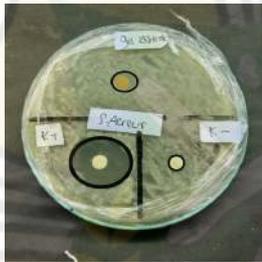


Uji Viskositas

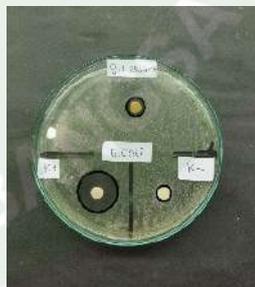
5. Peremajaan Bakteri



6. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sampel	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Kloramfenikol 1% (K+) Sediaan Gel tanpa Ekstrak K- (tanpa ekstrak)			

7. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Sampel	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Kloramfenikol 1% (K+) Sediaan Gel tanpa Ekstrak K- (tanpa ekstrak)			

Lampiran 5. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Pembuatan *Nutrient Broth* (NB)

$$\text{Gram} = \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume}$$

$$= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ mL}$$

$$= 0,08 \text{ g}$$

2. Pembuatan *Nutrient Agar* (NA)

$$\text{Gram} = \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume}$$

$$= \frac{20}{1000} \times 15 \text{ ML}$$

$$= 0,3 \text{ g}$$

Lampiran 6. Perhitungan Hasil**1. Hasil rendemen ekstrak**

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	%Hasil
Buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>)	1000 g	131 g	13,1%

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{131 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 131,1 \%$$

Lampiran 7. Formulasi dan Perhitungan Bahan Sediaan Gel**1. Penimbangan carbopol 940**

$$F1 = \frac{1,57}{100} \times 30\% = 0,471$$

$$\text{Air} = 4,71 \text{ ml}$$

$$F2 = \frac{1,78}{100} \times 30\% = 0,534$$

$$\text{Air} = 5,34 \text{ ml}$$

$$F3 = \frac{1,40}{100} \times 30\% = 0,42$$

$$\text{Air} = 4,2 \text{ ml}$$

$$F4 = \frac{0,72}{100} \times 30\% = 0,216$$

$$\text{Air} = 2,16 \text{ ml}$$

$$F5 = \frac{1,57}{100} \times 30\% = 0,471$$

$$\text{Air} = 4,71 \text{ ml}$$

$$F6 = \frac{1,57}{100} \times 30\% = 0,471$$

$$\text{Air} = 4,71 \text{ ml}$$

$$F7 = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6$$

$$\text{Air} = 6 \text{ ml}$$

$$F8 = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6$$

$$\text{Air} = 6 \text{ ml}$$

$$F9 = \frac{0,5}{100} \times 30\% = 0,15$$

$$\text{Air} = 1,5 \text{ ml}$$

$$F10 = \frac{0,92}{100} \times 30\% = 0,276$$

$$\text{Air} = 2,76 \text{ ml}$$

$$F11 = \frac{1,24}{100} \times 30\% = 0,372$$

$$\text{Air} = 3,72 \text{ ml}$$

$$F12 = \frac{1,08}{100} \times 30\% = 0,324$$

$$\text{Air} = 3,24 \text{ ml}$$

$$F13 = \frac{0,50}{100} \times 30\% = 0,15$$

$$\text{Air} = 1,5 \text{ ml}$$

$$F14 = \frac{0,92}{100} \times 30\% = 0,276$$

$$\text{Air} = 2,76 \text{ ml}$$

2. Perhitungan semua bahan sediaan gel

Formula 1

$$\text{CMC} = \frac{4,43}{100} \times 30\% = 1,329 \times 10 = 13,29 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{1,57}{100} \times 30\% = 0,471 \times 10 = 4,71 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\text{Aquadest} = 30 - (1,329 + 0,471 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 13,29)$$

$$\begin{aligned}
 &+ 4,71) \\
 &= 8,205 \text{ ml} \\
 &= 8,2 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Formula 2

$$\text{CMC} = \frac{4,22}{100} \times 30\% = 1,266 \times 10 = 12,66 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{1,78}{100} \times 30\% = 0,534 \times 10 = 5,34 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Aquadest} &= 30 - (1,266 + 0,534 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 12,66 \\
 &\quad + 5,34) \\
 &= 8,205 \text{ ml} \\
 &= 8,2 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Formulasi 3

$$\text{CMC} = \frac{4,6}{100} \times 30\% = 1,38 \times 10 = 13,8 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{1,4}{100} \times 30\% = 0,42 \times 10 = 4,2 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,38 + 0,42 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 13,8 + 4,2) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 4

$$\text{CMC} = \frac{5,28}{100} \times 30\% = 1,584 \times 10 = 15,84 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{0,72}{100} \times 30\% = 0,216 \times 10 = 2,16 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,584 + 0,216 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 15,84 \\ &\quad + 2,16) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 5

$$\text{CMC} = \frac{4,43}{100} \times 30\% = 1,329 \times 10 = 13,29 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{1,57}{100} \times 30\% = 0,471 \times 10 = 4,71 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,329 + 0,471 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 13,29 \\ &\quad + 4,71) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 6

$$\text{CMC} = \frac{4,43}{100} \times 30\% = 1,329 \times 10 = 13,29 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{1,57}{100} \times 30\% = 0,471 \times 10 = 4,71 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,329 + 0,471 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 13,29 \\ &\quad + 4,71) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 7

$$\text{CMC} = \frac{4}{100} \times 30\% = 1,2 \times 10 = 12 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \times 10 = 6 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,2 + 0,6 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 12 + 6) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 8

$$\text{CMC} = \frac{4}{100} \times 30\% = 1,2 \times 10 = 12 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \times 10 = 6 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,2 + 0,6 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 12 + 6) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 9

$$\text{CMC} = \frac{5,50}{100} \times 30\% = 1,65 \times 10 = 16,5 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{0,50}{100} \times 30\% = 0,15 \times 10 = 1,5 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (16,5 + 0,15 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 16,5 + 1,5) \\ &= 6,645 \text{ ml} \\ &= 6,7 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 10

$$\text{CMC} = \frac{5,08}{100} \times 30\% = 1,524 \times 10 = 15,24 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{0,92}{100} \times 30\% = 0,276 \times 10 = 2,76 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,524 + 0,276 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 15,24 \\ &\quad + 2,76) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 11

$$\text{CMC} = \frac{4,76}{100} \times 30\% = 1,428 \times 10 = 14,28 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{1,24}{100} \times 30\% = 0,372 \times 10 = 3,72 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,428 + 0,372 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 14,28 \\ &\quad + 3,72) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 12

$$\text{CMC} = \frac{4,92}{100} \times 30\% = 1,476 \times 10 = 14,76 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{1,08}{100} \times 30\% = 0,324 \times 10 = 3,24 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,476 + 0,324 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 14,76 \\ &\quad + 3,24) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 13

$$\text{CMC} = \frac{5,50}{100} \times 30\% = 1,65 \times 10 = 16,5 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{0,50}{100} \times 30\% = 0,15 \times 10 = 1,5 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquadest} &= 30 - (1,65 + 0,15 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 16,5 + 1,5) \\ &= 8,205 \text{ ml} \\ &= 8,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Formulasi 14

$$\text{CMC} = \frac{5,08}{100} \times 30\% = 1,524 \times 10 = 15,24 \text{ ml}$$

$$\text{Carbopol} = \frac{0,92}{100} \times 30\% = 0,276 \times 10 = 2,76 \text{ ml}$$

$$\text{TEA} = \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g}$$

$$\text{Metil} = \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g}$$

$$\text{Propilen} = \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Aquadest} &= 30 - (1,524 + 0,276 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + 15,76 \\
 &\quad + 2,76) \\
 &= 8,125 \text{ ml} \\
 &= 8,1 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

3. Perhitungan Formulasi Optimum sediaan gel dan penambahan ekstrak

$$\begin{aligned}
 \text{Estrak} &= \frac{10}{100} \times 30\% = 3 \text{ g} \\
 \text{CMC} &= \frac{5,17}{100} \times 30\% = 1,551 \times 10 = 15,51 \text{ ml} \\
 \text{Carbopol} &= \frac{0,83}{100} \times 30\% = 0,249 \times 10 = 2,49 \text{ ml} \\
 \text{TEA} &= \frac{0,6}{100} \times 30\% = 0,18 \text{ g} \\
 \text{Metil} &= \frac{0,06}{100} \times 30\% = 0,018 \text{ g} \\
 \text{Gliserin} &= \frac{3,99}{100} \times 30\% = 1,197 \text{ g} \\
 \text{Propilen} &= \frac{2}{100} \times 30\% = 0,6 \text{ g} \\
 \text{Aquadest} &= 30 - (3 + 1,551 + 0,249 + 0,18 + 0,018 + 1,197 + 0,6 + \\
 &\quad 15,76 + 2,76) \\
 &= 25,315 \text{ ml} \\
 &= 25,3 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

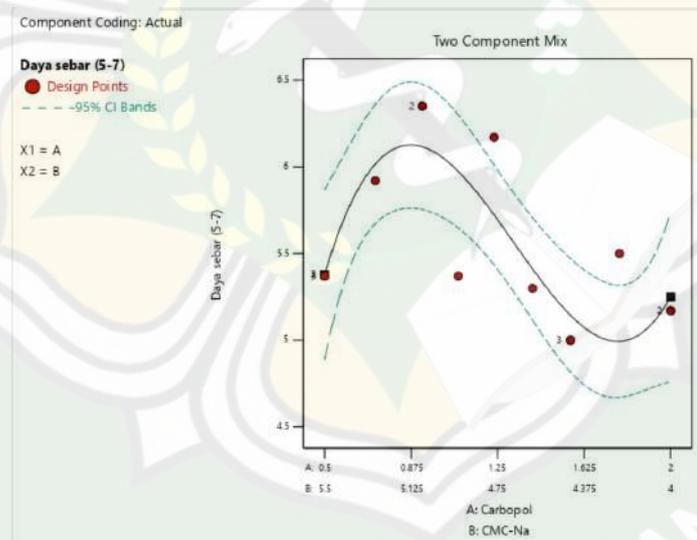
Lampirann 8. Uji optimasi menggunakan software *Design Expert*

1. Tabel input data

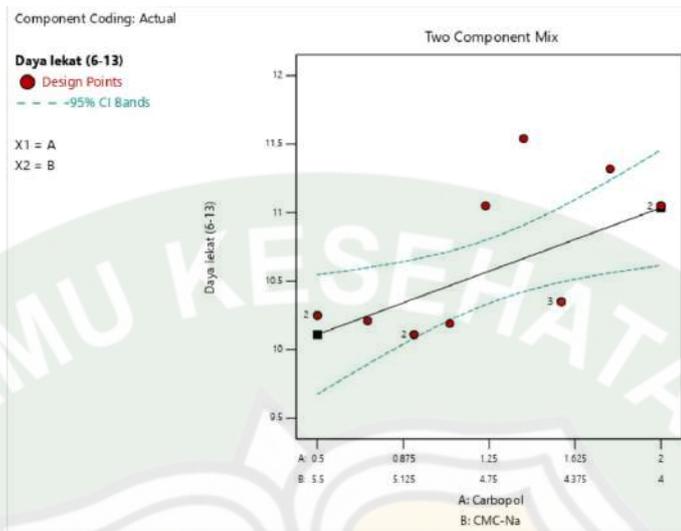
Run	Component 1 A:Carbopol	Component 2 B:CMC-Na	Response 1 Daya sebar 5-7	Response 2 Daya lekat 6-13	Response 3 Viskositas 50-1000
1	1.56628	4.43372	5	10.35	60
2	1.77801	4.22199	5.5	11.32	75
3	1.40109	4.59891	5.3	11.54	60
4	0.720338	5.27966	5.92	10.21	70
5	1.56628	4.43372	5	10.35	60
6	1.56628	4.43372	5	10.35	60
7	2	4	5.17	11.05	75
8	2	4	5.17	11.05	75
9	0.5	5.5	5.37	10.25	75
10	0.923314	5.07669	6.35	10.11	60
11	1.23501	4.76499	6.17	11.05	60
12	1.07896	4.92104	5.37	10.19	75
13	0.5	5.5	5.37	10.25	75
14	0.923314	5.07669	6.35	10.11	60

2. Grafik Response

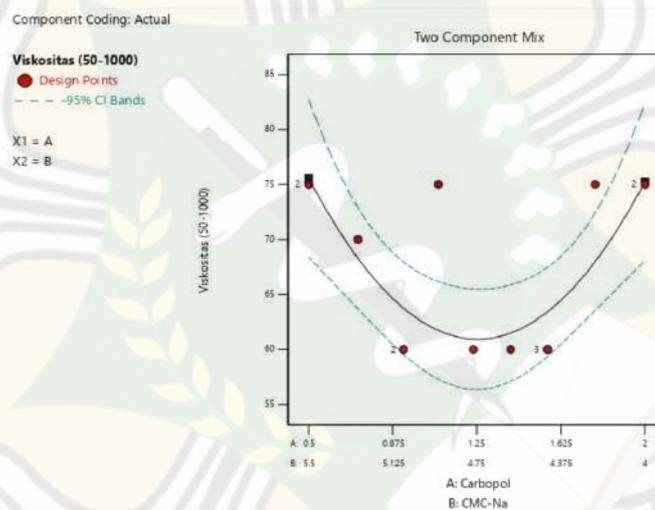
a. Daya Sebar



b. Daya Lekat



c. Viskositas



3. Tabel formula optimum

Confirmation Location #1

Carbopol	CMC-Na
0.825484	5.17452

Response data

Runs: 1

Daya sebar Daya lekat Viskositas

Confirmation

Confirmation

Two-sided Confidence = 95%

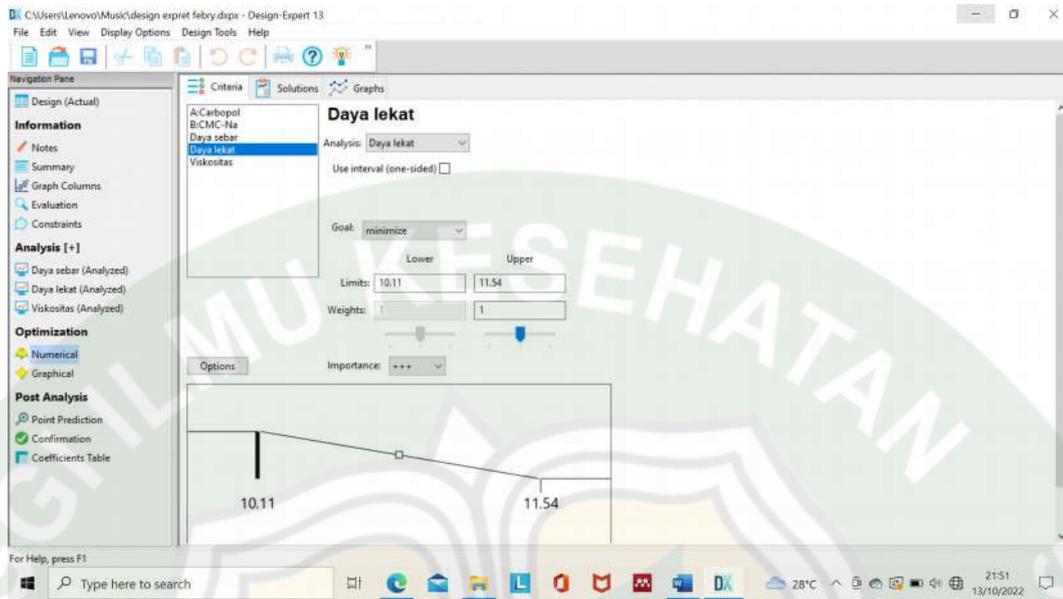
Solution 1 of 2 Response	Predicted Mean	Predicted Median	Observed	Std Dev	n	SE Pred	95% PI low	Data Mean	95% PI high
Daya sebar	6.11631	6.11631		0.320788	1	0.359544	5.3152		6.91742
Daya lekat	10.311	10.311		0.403768	1	0.429147	9.37597		11.246
Viskositas	65.675	65.675		5.18615	1	5.52822	53.5075		77.8426

4. Hasil respon kriteria dan Importance SLD

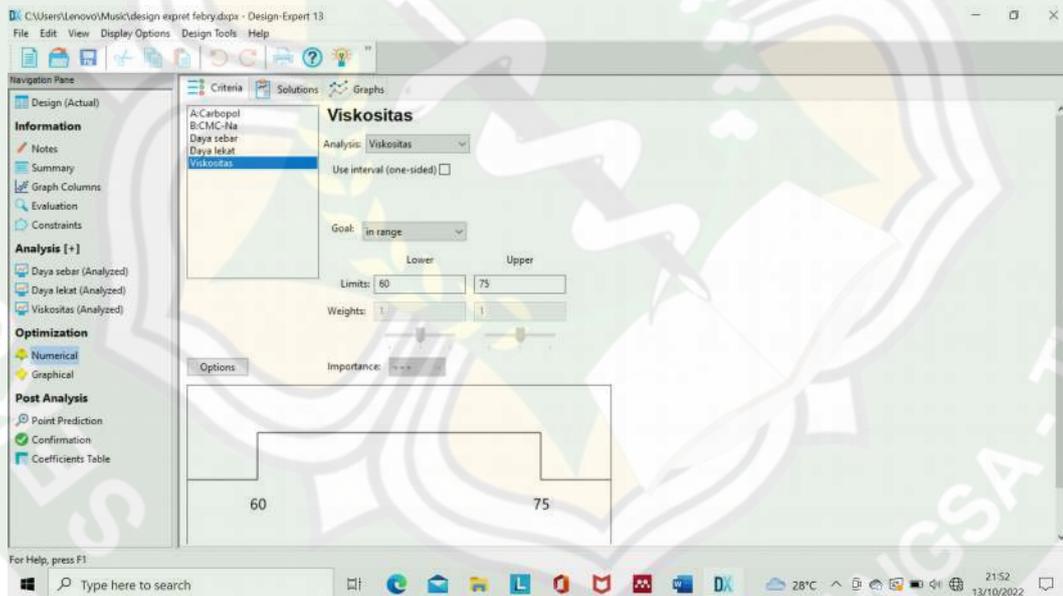
1. Daya Sebar

The screenshot shows the Design-Expert 13 interface for the 'Daya sebar' criterion. The goal is set to 'maximize'. The lower limit is 5 and the upper limit is 6.35. The importance is set to '++++'. A graph below the settings shows a line starting at 5 and ending at 6.35, with a vertical bar indicating the target range.

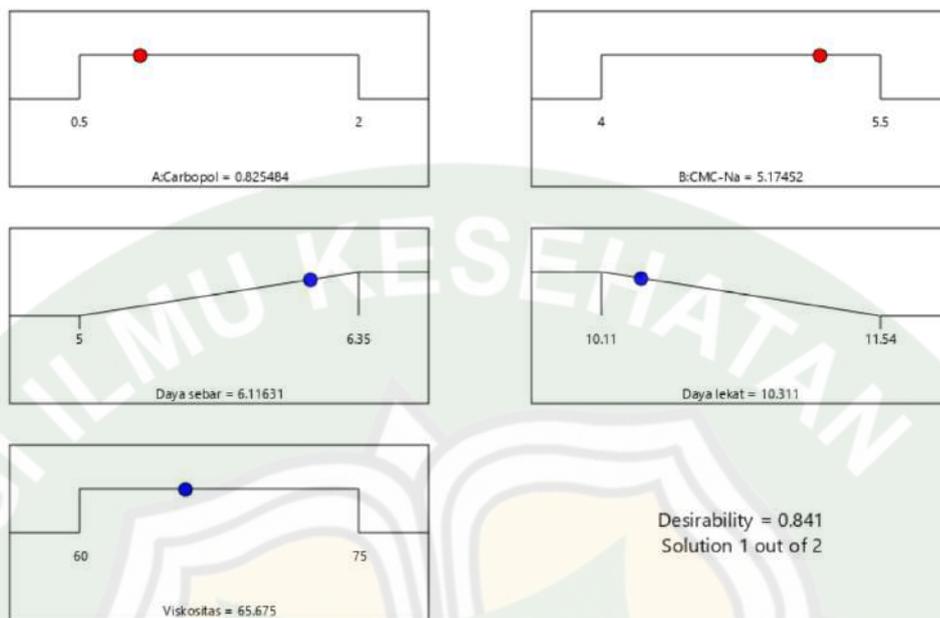
2. Daya Lekat



3. Viskositas



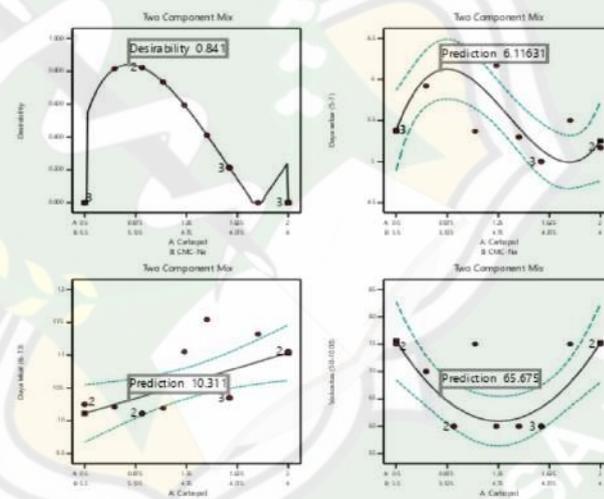
4. Hasil Nilai Desirability



Desirability = 0.841
Solution 1 out of 2

All Responses
● Design Points

X1 = A
X2 = B



Lampiran 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235

Sampel	Konsentrasi	Diameter (mm)			Rata-rata	Sifat
		I	II	III		
Sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>)	10%	7,5mm	9,5mm	8mm	8.4mm	Sedang
Kloramfenikol (K+)	1%	21mm	23,5mm	23mm	22,8mm	Kuat
Kontrol Negatif (tanpa ekstrak)	-	0	0	0	0	-

Lampiran 10. Hasil uji *man-whiney* gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235

	Uji Mann-Whitney	Sig
GEBW SA	K+ SA	0.050
	K- SA	0.037*
K+ SA	K-SA	0.037*

Lampiran 11. Hasil analisis data sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Tabel input data

	Konsentrasi Ekstrak	Diameter_Zona_Hambat
1	1	7.50
2	1	9.50
3	1	8.00
4	2	21.00
5	2	23.50
6	2	23.00
7	3	00
8	3	00
9	3	00
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		

2. Tabel Uji Normalitas

Tests of Normality^{b,c} S.aureus

	Konsentrasi Ekstrak	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statisti	df	Sig.	Statisti	df	Sig.
Diameter Zona Hambat (mm)							
	GEWB 10% S.aureus	.292	3	.	.923	3	.463
	K+ S.aureus	.328	3	.	.871	3	.298

Analisis:

- Jika p-value > 0,05: Data berdistribusi normal.
- Jika p-value < 0,05: Data berdistribusi tidak normal

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil yang memiliki signifikansi 0.29 (< 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi normal.

3. Tabel uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances S.aureus

Diameter Zona Hambat (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.079	5	12	.003

Analisis:

- Jika p-value > 0,05: Data homogen.
- Jika p-value < 0,05: Data tidak homogen

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Levena statistic* didapatkan hasil signifikansi 0,003 (< 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini tidak homogen.

4. Tabel uji *Kruskal-Wallis*

Ranks			
	Konsentrasi Ekstrak	N	Mean Rank
Diameter Zona Hambat (mm)	GEWB 10% S.aureus	3	5.00
	K+ S.aureus	3	8.00
	K- S.aureus	3	2.00
	Total	9	

Test Statistics^{a,b}

	Diameter Zona Hambat (mm)
Kruskal-Wallis H	7.448
df	2
Asymp. Sig.	.024

- Jika p-value > 0,05: Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235.
- Jika p-value < 0,05: Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235.

Kesimpulan : Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil signifikansi 0,024 (< 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa

ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 23235.

5. Tabel Uji Mann-Whitney

a. GEBW 10% SA dan K+ SA

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat (mm)	GEBW 10%	3	2.00	6.00
	SA			
	K+ SA	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a	
	Diameter Zona Hambat (mm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

b. GEBW 10% SA dan K- SA

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat (mm)	GEBW 10%	3	5.00	15.00
	SA			
	K- SA	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a	
	Diameter Zona Hambat (mm)
Mann-Whitney U	.000

Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

c. K+ dan K- SA

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat (mm)	K+ SA	3	5.00	15.00
	K- SA	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a	
	Diameter Zona Hambat (mm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

Lampiran 12. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Sampel	Konsent rasi	Diameter (mm)			Rata-rata	Sifat
		I	II	III		

Sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa Bilimbing L.</i>)	10%	7,5mm	7mm	7mm	7,2mm	Sedang
Kloramfenikol (K+)	1%	23mm	24,5mm	23mm	23,5mm	Kuat
Kontrol Negatif (tanpa ekstrak)	-	0	0	0	0	-

Lampiran 13. Hasil uji Mann-Whitney sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli*.

	Uji Mann-Whitney	Sig
	K+ EC	0,043
GEBW EC	K-	0,034*
K+ EC	K- EC	0,034*

Lampiran 14. Hasil analisis data sediaan gel ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1. Tabel input data

	Konsentrasi Ekstrak	Diameter Zona Hambat
1	1	7.50
2	1	7.00
3	1	7.00
4	2	23.00
5	2	24.50
6	2	23.00
7	3	.00
8	3	.00
9	3	.00
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		

2. Tabel Uji Normalitas

Tests of Normality^{b,c} E.coli

Konsentrasi Ekstrak	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat (mm)						
GEWB 10% S.aureus	.385	3	.	.750	3	.000
K+ S.aureus	.385	3	.	.750	3	.000

Analisis:

- Jika p-value > 0,05: Data berdistribusi normal.
- Jika p-value < 0,05: Data berdistribusi tidak normal

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil ada yang memiliki signifikansi 0,000 (< 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi tidak normal.

3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances E.coli

Diameter Zona Hambat (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
11.200	2	6	.009

Analisis:

- Jika p-value > 0,05: Data homogen.
- Jika p-value < 0,05: Data tidak homogen.

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Levena statistic* didapatkan hasil signifikansi 0,009 (< 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini tidak homogen.

4. Tabel Uji Kruskal-Wallis

Ranks			
	Konsentrasi Ekstrak	N	Mean Rank
Diameter Zona Hambat (mm)	GEWB 10% E.coli	3	5.00
	K+ E.coli	3	8.00
	K- E.coli	3	2.00
	Total	9	

Test Statistics^{a,b}	
	Diameter Zona Hambat (mm)
Chi-Square	7.579
df	2
Asymp. Sig.	.023

- Jika p-value > 0,05: Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Jika p-value < 0,05: Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kesimpulan : Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis didapatkan hasil signifikansi 0,023 (< 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa

ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

5. Tabel Uji Mann-Whitney

a. GEBW 10% EC dan K+ EC

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat (mm)	GEBW 10%			
	EC	3	2.00	6.00
	K+ EC	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a	
	Diameter Zona Hambat (mm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

b. GEBW 10% EC dan K- EC

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat (mm)	GEBW 10%			
	EC	3	5.00	15.00
	K- EC	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a	
	Diameter Zona Hambat (mm)

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

c. K+ dan K- EC

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat (mm)	K+ EC	3	5.00	15.00
	K- EC	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a	
	Diameter Zona Hambat (mm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

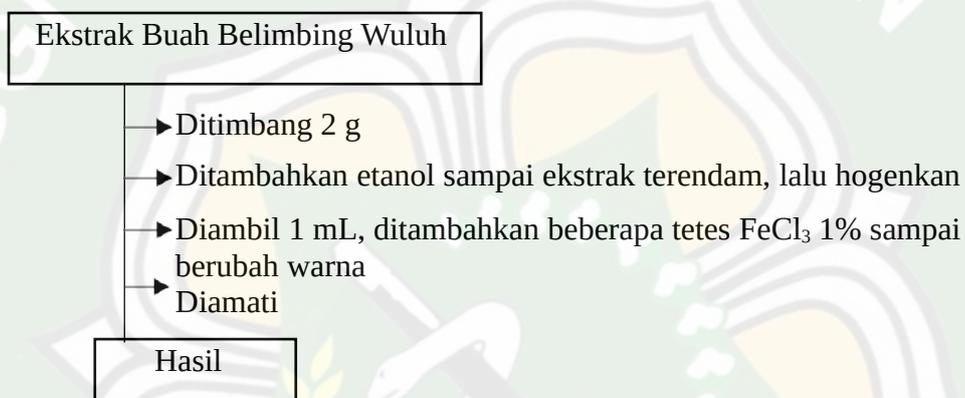
Lampiran 15. Alur kerja

1. Pembuatan Ekstrak Metode Maserasi

Diambil sebanyak 1 mL
 Ditambahkan 3 mL etanol,
 dikocok, dan dipanaskan Disaring
 Filtrat ditambahkan 0,1 g Mg dan 2 tetes HCl pekat

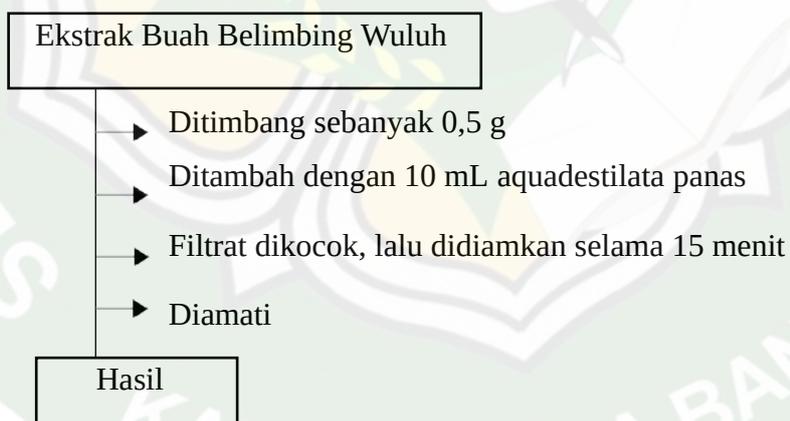
*Keterangan : positif flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi merah atau orange.

b. Tanin

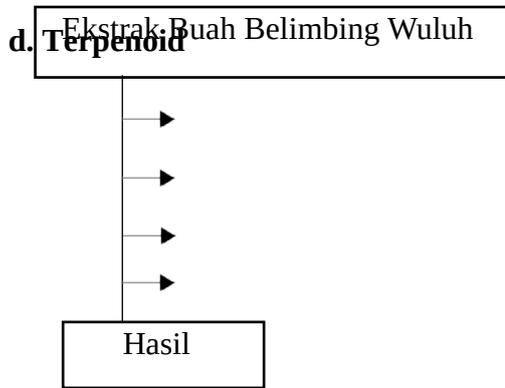


*Keterangan : positif tannin ditandai dengan perubahan warna hitam kebiruan atau hijau.

c. Saponin



*Keterangan : positif saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa stabil.



Diambil sebanyak 1 mL

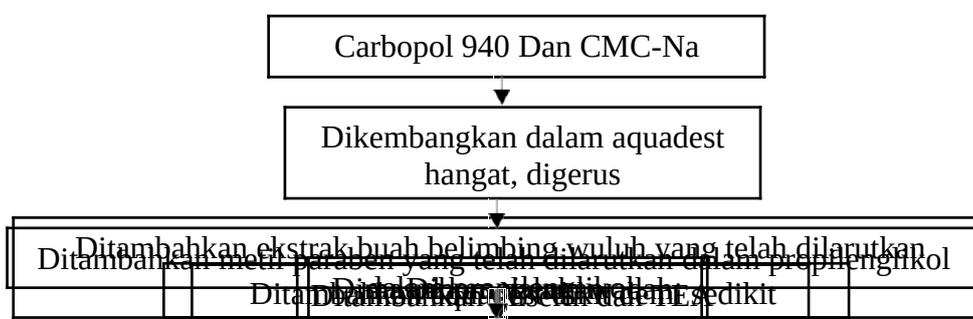
Ditambahkan 1 mL asam asetat glacial

Diambil 1 mL H₂SO₄, lalu dikocok

Diamati

*Keterangan : positif terpenoid ditandai dengan perubahan warna merah bata.

4. Pembuatan Sediaan Gel

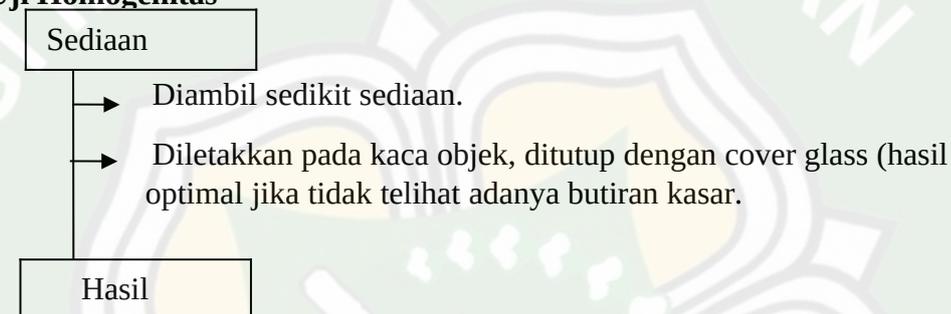


5. Uji Stabilitas Sediaan Gel

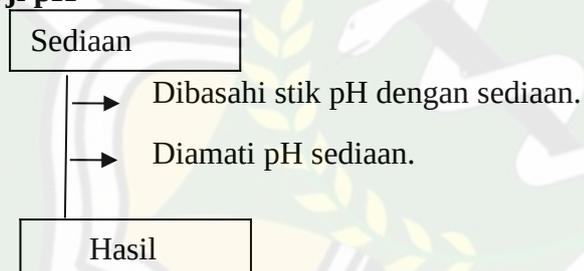
a. Uji Organoleptis



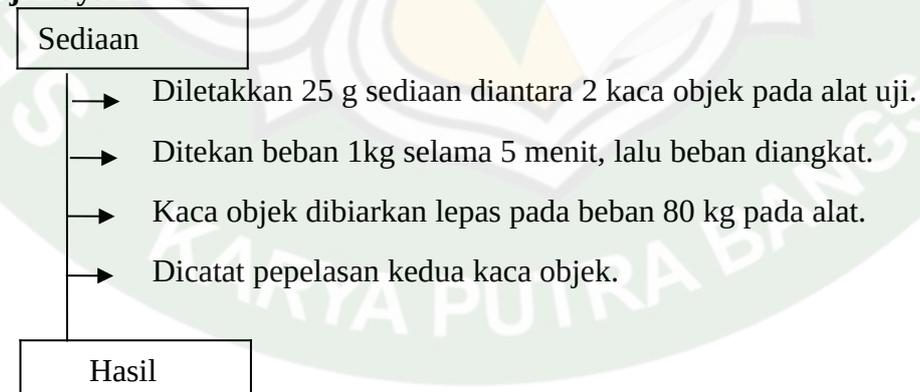
b. Uji Homogenitas



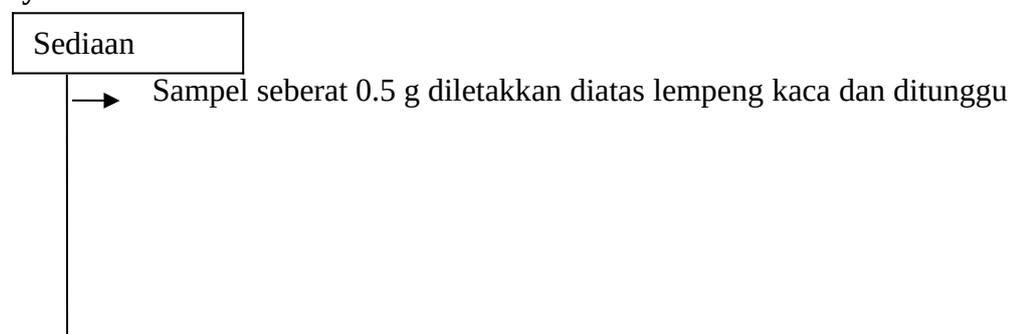
c. Uji pH



d. Uji Daya Lekat

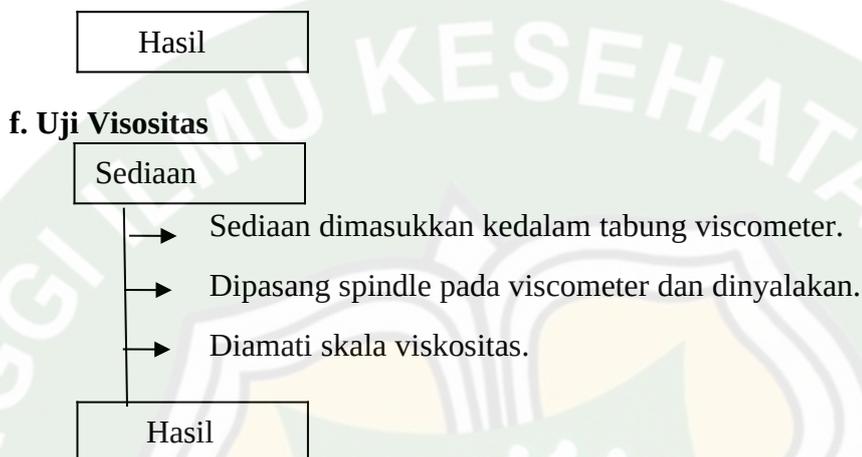


e. Daya Sebar

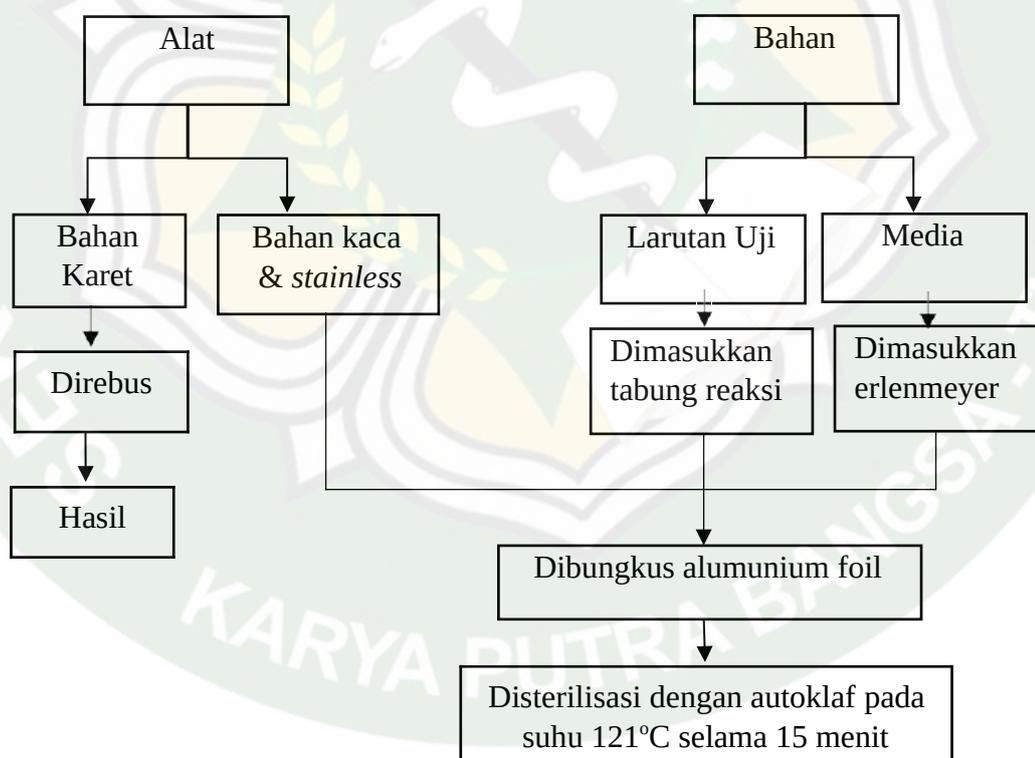


Selama 1 menit.

- Selanjutnya ditambah 150 g beban, didiamkan selama 1 menit.
- Diukur diameter penyebaran sediaan.



6. Sterilisasi Alat dan Bahan



7. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

NA

- Ditimbang sebanyak 0,2.
- Ditambahkan 10 mL aquades.
- Dipanaskan hingga larut.
- Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121^o C selama 15 menit.
- Dituangkan kedalam cawan petri.
- Dibiarkan mengeras.

Media NA

8. Pembuatan Media NB

NB

- Ditimbang sebanyak 0,08 g.
- Ditambahkan 10 mL aquades.
- Dipanaskan hingga mendidih.
- Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121^o C selama 15 menit.
- Dituangkan kedalam cawan petri.

Media NB

9. Peremajaan bakteri

S.aureus dan *e.coli*

- Digoreskan 1 Ose pada media NB secara septis.
- Diinkubasi dengan suhu 37^oC selama 24 jam.

Hasil

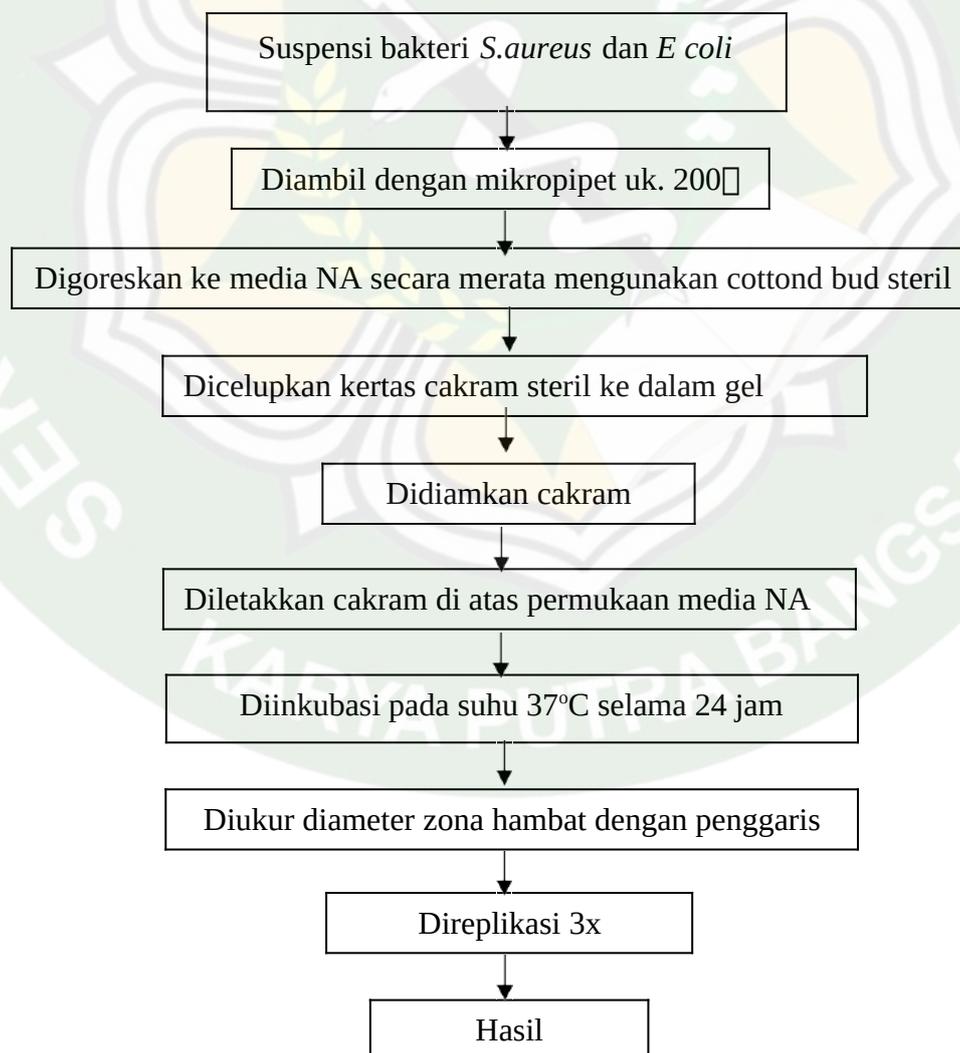
10. Pembuatan suspensi bakteri

S.aereus dan *e.coli*

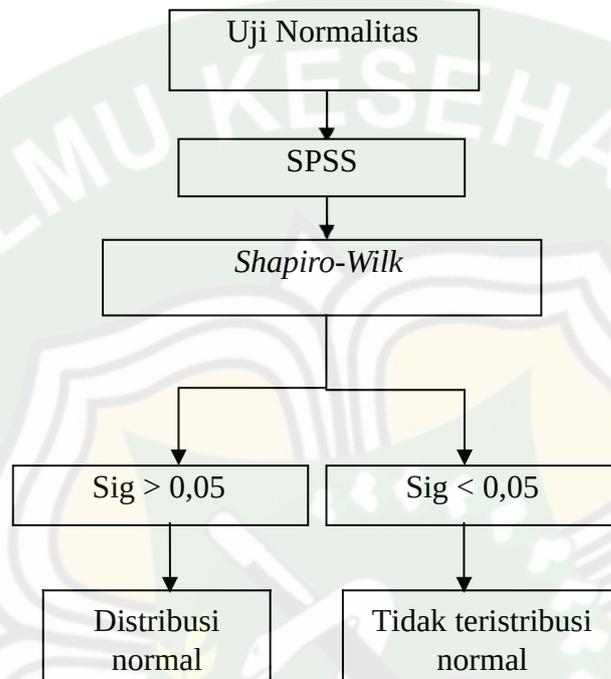
- Diambil sebanyak 1 Ose.
- Disuspensikan dalam 5 ml media NB.
- Diukur kekeruhan dengan standar 0,5 Mc. Farland.

Hasil

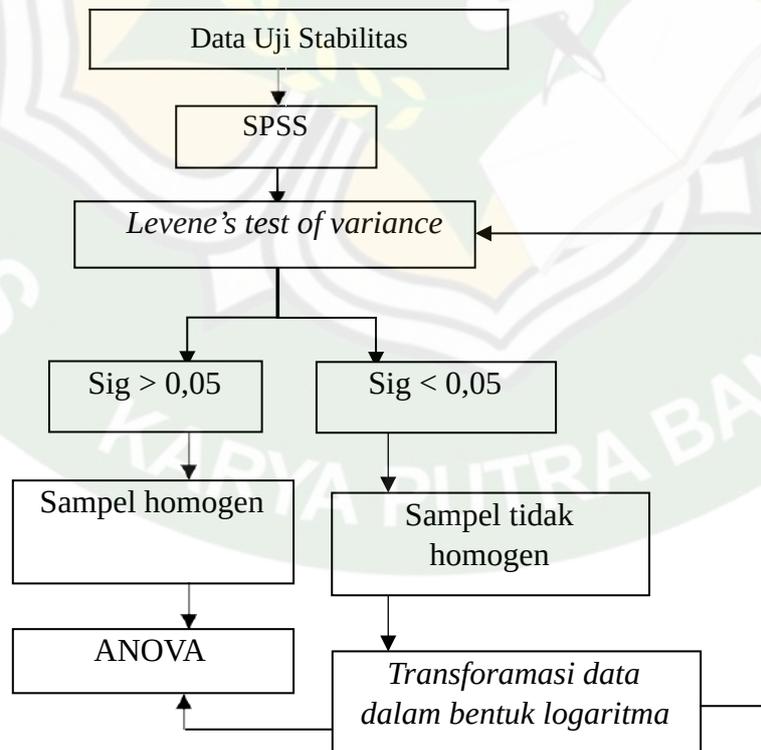
11. Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel



12. Uji Normalitas



13. Uji Homogenitas



17. Kruskal-Wallis



18. Uji Mann-Whitney



Adanya pengaruh antibakteri terhadap sediaan ekstrak buah belimbing wuluh.