

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL EKSTRAK
DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.f)
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



Oleh :

RABI'A ADHAWIYAH

1513206015

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
JULI 2019**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL EKSTRAK
DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.f)
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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



Oleh :

RABI'A ADHAWIYAH

1513206015

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

JULI 2019

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL EKSTRAK
DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.f)
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

Yang diajukan oleh :

RABI'A ADHAWIYAH

1513206015

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt.
NIDN. 0023085401

Choirul Huda, M.Farm., Apt.
NIDN.072 603 8502

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL EKSTRAK
DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica L.*)
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

Oleh :

Rabi'a Adhawiyah

1513206015

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

Tanggal :

Ketua Penguji : Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt. (.....)

Anggota Penguji : 1. Choirul Huda M. Farm., Apt (.....)

: 2. Amalia Eka Putri, M. Farm., Apt (.....)

: 3. Yunita Diyah S., M.Si. (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H.

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.

Tulungagung, Juli 2019

Penulis,

Rabi'a Adhawiyah

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Adapun judul skripsi ini adalah “Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.f) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*”. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat kelulusan dalam rangka memperoleh gelar Sarjana Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini sangat sulit terwujud sebagaimana yang diharapkan, tanpa bimbingan dan bantuan serta tersedianya fasilitas-fasilitas yang diberikan oleh beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis sampaikan terimakasih dan hormat kepada :

1. dr. Denok Sri Utami M.H selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Dara Paranidya, S.Farm., Apt selaku Kaprodi S1 Farmasi dan pembimbing akademik STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Dr.Dra. Sri Winarsih, M.Si.,Apt selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, ilmu, dan pengarahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Choirul Huda M.Farm.,Apt selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, motivasi, nasehat dan pengarahan dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.
5. Bapak/Ibu Dosen Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa yang telah memberikan banyak ilmu, nasehat dan motivasi kepada penulis.
6. Seluruh jajaran Laboran STIKes Karya Putra Bangsa yang telah bersedia meluangkan waktu dan tenaga untuk menemani penulis melakukan penelitian di Laboratorium.
7. Seluruh keluarga besar penulis, terima kasih atas do'a, dukunganserta pengertiannya sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi dan studi S1 Farmasi di STIKes Karya Putra Bangsa.

8. Teman-teman Departemen Bahan Alam Hima, Bunga, Ajie, Malik, Dian dan teman-teman yang lain atas kerja sama dan kebersamaan yang begitu hangat selama melaksanakan penelitian ini.
9. Semua pihak yang telah ikut membantu penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini (teman-teman apotek Sentral Farma Febriananda, Endah, Oppie, Mbak Evi, Mbak Amel, Ibu Lili, teman-teman SMP Bela dan Ratna, kemudian Mas Frida, Mas Adib, teman-teman S1 Farmasi Luk Luil, Yesi, Lisa, Vony, Binti, Ameylia, Galih, Sri Wahyuni, Kartika, Riska, Laila, Alief, Fitria, Ayu, Bayu).

Penulis menyadari bahwa skripsi ini belum sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan proposal ini. Semoga proposal ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Tulungagung, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Obat Tradisional	6
2.2 Tanaman Beluntas	6
2.2.1 Klasifikasi	6
2.2.2 Morfologi	7
2.2.3 Kandungan.....	7
2.2.3.1 Flavonoid	7
2.2.3.2 Tanin	8
2.2.3.3 Saponin	9
2.2.4 Khasiat	10
2.3 Simplisia	10
2.3.1 Definisi	10

2.3.2	Syarat	11
2.3.3	Penyiapan Simplisia.....	12
2.3.4	Serbuk dan Kadar air Simplisia	13
2.4	Ekstraksi	14
2.4.1	Metode Ekstraksi	15
2.4.1.1	Ekstraksi Cara Dingin.....	15
2.4.1.2	Ekstraksi Cara Panas	15
2.4.2	Pelarut	17
2.4.2.1	Akuades	18
2.4.2.2	Etanol	18
2.4.2.3	Etil Asetat	19
2.4.2.4	Kloroform	19
2.4.2.5	Petroleum eter	19
2.4.2.6	Heksana	19
2.5	Gel	20
2.5.1	Definisi	20
2.5.2	Monografi Bahan	20
2.5.3	Evaluasi	21
2.6	Bakteri	23
2.6.1	Definisi	23
2.6.2	Penggolongan Bakteri	23
2.7	<i>Staphylococcus aureus</i>	25
2.7.1	Klasifikasi	25
2.7.2	Morfologi	26
2.7.3	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	27
2.7.3.1	Pewarnaan Gram	27
2.7.3.2	<i>Mannitol Salt Agar</i>	27
2.7.3.3	Uji Katalase	27
2.7.3.4	Uji Koagulase	27
2.8	Antibakteri	28
2.9	Uji Aktivitas Antibakteri	29

2.9.1	Metode Difusi	29
2.9.1.1	Metode <i>Disc diffusion</i>	29
2.9.1.2	Metode <i>E-test</i>	30
2.9.1.3	<i>Ditch-plate technique</i>	30
2.9.1.4	<i>Cup-plate technique</i>	30
2.9.1.5	<i>Gradient-plate techniques</i>	30
2.9.2	Metode Dilusi	31
2.9.2.1	Metode dilusi cair (<i>broth dilution test</i>)	31
2.9.2.2	Metode dilusi padat (<i>solid dilution test</i>).....	31
2.10	Klindamisin	31
BAB III METODE PENELITIAN		33
3.1	Kerangka Konsep	33
3.2	Bahan	34
3.3	Alat	34
3.4	Populasi Penelitian	35
3.5	Sampel Penelitian	35
3.6	Definissi Operasional	35
3.7	Variabel Penelitian	35
3.7.1	Variabel Bebas	36
3.7.2	Variabel Terikat	36
3.8	Prosedur Penelitian.....	36
3.8.1	Determinasi Tanaman	36
3.8.2	Pembuatan Simplisia	36
3.8.3	Uji Kadar Air Simplisia.....	37
3.8.4	Pembuatan Ekstrak	37
3.8.5	Uji Bebas Etanol Ekstrak.....	37
3.8.6	Skrining Fitokimia.....	38
3.8.6.1	Flavonoid	38
3.8.6.2	Tanin.....	38
3.8.6.3	Saponin	38
3.8.7	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	38

3.8.8	Pembuatan Media	38
3.8.8.1	Pembuatan Media NB.....	38
3.8.8.2	Pembuatan Media MSA.....	39
3.8.8.3	Pembuatan Media NA.....	39
3.8.9	Uji Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	39
3.8.10	Pembuatan Suspensi Bakteri	39
3.8.11	Formulasi Gel	39
3.8.11.1	Formulasi Standar.....	39
3.8.11.2	Formulasi Gel Ekstrak Daun Beluntas	40
3.8.12	Pembuatan Gel	40
3.8.13	Evaluasi Gel	40
3.8.13.1	Uji Organoleptis.....	40
3.8.13.2	Uji pH	40
3.8.13.3	Uji Homogenitas.....	41
3.8.13.4	Uji Daya Sebar	41
3.8.13.5	Uji Daya Lekat.....	41
3.8.13.6	Uji Daya Proteksi.....	41
3.8.13.7	Uji Stabilitas Fisik	41
3.8.14	Uji Aktivitas Antibakteri Gel.....	41
3.9	Jalan Penelitian	42
3.10	Replikasi Kelompok Penelitian	43
3.11	Analisis Statistika	43
BAB IV HASIL PENELITIAN & PEMBAHASAN		
4.1	Determinasi Tanaman	46
4.2	Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	46
4.2.1	Uji Kadar Air Simplisia	47
4.2.2	Ekstrak Daun Beluntas	47
4.2.3	Uji Bebas Etanol	48
4.3	Skrining Fitokimia	48
4.3.1	Uji Flavonoid	49
4.3.2	Uji Tanin	50

4.3.3	Uji Saponin	51
4.4	Uji Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	52
4.4.1	Pewarnaan Gram Bakteri	52
4.4.2	Uji Koagulase	53
4.4.3	Uji Katalase	54
4.4.4	Identifikasi Media MSA	54
4.5	Evaluasi Sediaan Gel	55
4.5.1	Organoleptis	55
4.5.2	Uji Homogenitas	57
4.5.3	Pengujian pH	57
4.5.4	Uji Daya Sebar	58
4.5.5	Uji Daya Lekat	59
4.5.6	Uji Daya Proteksi	60
4.6	Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Beluntas	61
4.7	Analisis Statistika	65
4.7.1	Uji Normalitas Data	65
4.7.2	Uji Homogenitas Data	66
4.7.3	Uji <i>One Way Anova</i>	66
4.7.4	Uji Korelasi	68
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	69
5.2	Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70

DAFTAR TABEL

TABEL	Hal
II.1 Sifat Etanol	17
II.2 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat.....	31
III.1 Formulasi standar gel	39
III.2 Formulasi gel ekstrak daun beluntas	40
IV.1 Uji Kadar Air Simplisia Serbuk <i>Pluchea indica L.f.</i>	47
IV.2 Hasil Uji Susut Pengeringan Daun Beluntas	48
IV.3 Hasil Rendemen Ekstrak	48
IV.4 Hasil Uji Bebas Etanol Daun Beluntas	49
IV.5 Hasil Skrining Fitokimia Daun Beluntas	50
IV.6 Uji Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	53
IV.7 Uji Organoleptis	57
IV.8 Uji Homogenitas	58
IV.9 Uji Ph.....	59
IV.10 Uji Daya Sebar	60
IV.11 Uji Daya Lekat	61
IV.12 Uji Daya Proteksi	62
IV.13 Hasil zona hambat gel antibakteri ekstrak daun beluntas terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	64
IV.14 Hasil Uji Normalitas Data	66
IV.15 Hasil uji Homogenitas Data	67
IV.16 Hasil Uji <i>One Way Anova</i>	67
IV.17 Homogeneous.....	68
IV.18 Hasil Uji Korelasi.....	69

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Hal
2.1 Daun Beluntas (<i>Pluchea indica L.f</i>)	6
2.2 Struktur Flavonoid.....	8
2.3 Struktur Tanin	9
2.4 Struktur Saponin.....	10
2.5 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	33
4.1 Uji Flavonoid; Uji Tanin; Uji Saponin.....	50
4.2 Reaksi Flavonoid dengan H ₂ SO ₄	51
4.3 Reaksi Tanin dengan FeCl ₃	52
4.4 Reaksi Saponin dengan air	53
4.5 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	54
4.6 Uji koagulase.....	55
4.7 Uji Katalase	55
4.8 Sebelum; sesudah penanaman <i>Staphylococcus aureus</i> pada MSA	56
4.9 Uji Organoleptis	56
4.10 Uji Homogenitas	58
4.11 Uji pH.....	59
4.12 Uji Daya Sebar	60
4.13 Uji Daya Lekat	61
4.14 Uji Daya Proteksi	62
4.15 Uji aktivitas antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Hasil Determinasi <i>Pluchea indica</i>	80
2. Dokumentasi Penelitian.....	81
3. Kerangka Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram...	87
4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri	88
5. Perhitungan Hasil	89
6. Formulasi dan Perhitungan Bahan Sediaan Gel	90
7. Hasil Orientasi Gel Ekstrak <i>Pluchea indica</i>	91
8. Hasil Analisis Data	95
9. Alur Prosedur Kerja	99

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL EKSTRAK DAUN BELUNTAS
(*Pluchea indica* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

**RABI'A ADHAWIYAH
Prodi S1 Farmasi**

INTISARI

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang mudah ditemukan dimana-mana, bersifat patogen dan sering menyebabkan infeksi. Di Jakarta pada periode tahun 1986-1993 terjadi peningkatan angka kejadian infeksi *S. aureus* hampir empat kali lipat dari 2,5% menjadi 9,4%. *Staphylococcus aureus* menyebabkan bermacam – macam infeksi seperti pneumonia, meningitis, empiema, endokartitis, jerawat, pioderma atau impetigo. Salah satu pilihan untuk menanggulangi suatu infeksi adalah dengan menggunakan antibiotik, akan tetapi penggunaan antibiotik sudah menjadi resistensi akibat penggunaan yang tidak tepat. Oleh karena itu, diperlukan adanya terapi alternatif dari tumbuhan yang berpotensi tinggi sebagai antibakteri. Daun beluntas memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* yang merupakan bakteri penyebab infeksi pada manusia, untuk mempermudah penggunaannya sebagai obat maka perlu dibentuk menjadi sediaan farmasi yaitu gel. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi agar.

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Sampel daun beluntas diekstraksi menggunakan metode *soxhletasi* dengan etanol 70%. Kontrol positif yang digunakan adalah gel klindamisin dan kontrol negatif adalah basis gel tanpa ekstrak. Ekstrak daun beluntas dibuat menjadi sediaan gel dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Sediaan gel dilakukan evaluasi mencakup uji organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, dan daya proteksi selama dua minggu atau empat belas hari. Analisa statistik dilakukan dengan *kolmogorov-smirnov*, *levne statistic*, *One Way Anova* dan *spearman*.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas menunjukkan gel ekstrak daun beluntas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Gel ekstrak daun beluntas dengan konsentrasi 5%; 10%; dan 15% secara berurutan memiliki rata-rata zona hambat sebesar $7\pm 0,81$ mm; $9,5\pm 0,57$ mm; dan $13,5\pm 0,57$ mm. Aktivitas antibakteri diduga berasal dari aktivitas senyawa flavonoid, tanin dan saponin dalam ekstrak daun beluntas. Gel ekstrak daun beluntas memiliki daya hambat lebih kecil dibanding dengan gel klindamisin yang memiliki rata-rata zona hambat sebesar $31,25\pm 1,91$ mm. Gel ekstrak daun beluntas memenuhi syarat uji organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, dan daya proteksi serta stabil dalam masa penyimpanan.

Kata kunci : Antibakteri, gel, *Pluchea indica*, *Staphylococcus aureus*

**ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF BELUNTAS LEAF (*Pluchea indica* L.)
EXTRACT ON *Staphylococcus aureus*
IN VITRO**

RABI'A ADHAWIYAH
S1 Pharmacy Study Program

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a bacterium that is easily found everywhere. It is known as pathogenic and often causes infection. In Jakarta in the period 1986-1993, the incidence of *S. aureus* infection increased nearly fourfold from 2.5% to 9.4%. *Staphylococcus aureus* causes various infections such as pneumonia, meningitis, empyema, endocarditis, acne, pyoderma or impetigo. One option to overcome an infection is to use antibiotics, but the use of antibiotics has become a resistance due to improper use. Therefore, there is a need for alternative therapies from plants that have high potential as antibacterial. Beluntas leaves have the potential as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* which is a bacterium that causes infection in humans. Use as a drug it is necessary to form a pharmaceutical preparation, namely gel. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of beluntas leaf extract gel against *Staphylococcus aureus* using agar diffusion method.

The research method used is experimental. Beluntas leaf samples were extracted using the soxhletation method with 70% ethanol. The positive control used is clindamycin gel and negative control is the base gel without extract. Beluntas leaf extract was made into gel preparations with a concentration of 5%, 10%, and 15%. The gel preparations were evaluated including organoleptic test, pH, homogeneity, dispersion, adhesion, and protection for two weeks or fourteen days. Statistical analysis was carried out with kolmogorov-smirnov, levene statistics, One Way Anova and spearman.

The results of the antibacterial activity of the beluntas leaf extract gel showed that the beluntas leaf extract gel had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. Beluntas leaf extract gel with a concentration of 5%; 10%; and 15% in sequence have an inhibition zone average of 7 ± 0.81 mm; 9.5 ± 0.57 mm; and 13.5 ± 0.57 mm. Antibacterial activity is thought to originate from the activity of flavonoid compounds, tannins and saponins in beluntas leaf extract. Beluntas leaf extract gel has a smaller inhibition compared to Klindamycin gel which has an average inhibition zone of 31.25 ± 1.91 mm. Beluntas leaf extract gel fulfills organoleptic, homogeneous, pH, dispersion, adhesion, and protection and is stable during storage.

Keywords: Antibacterial, gel, *Pluchea indica*, *Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan hayati terbesar di dunia yang memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman tingkat tinggi. Hingga saat ini, tercatat 7000 spesies tanaman telah diketahui khasiatnya namun kurang dari 300 tanaman yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi secara regular. WHO pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk masih menggantungkan sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit (Saifuddin, *et al.*, 2011).

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Permenkes RI No. 007 Tahun 2012), bahan - bahan yang digunakan tidak mengandung bahan kimia sintetik.

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan adalah tanaman beluntas. Masyarakat Indonesia umumnya memanfaatkan tanaman beluntas sebagai lalapan dan obat tradisional. Sebagai obat tradisional, beluntas dimanfaatkan untuk menghilangkan bau badan dan mulut, mengatasi kurang nafsu makan, mengatasi gangguan pencernaan pada anak, menghilangkan nyeri pada rematik, nyeri tulang dan sakit pinggang, menurunkan demam, mengatasi keputihan dan haid yang tidak teratur, hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa fitokimia dalam daun beluntas (Nurhalimah, 2015).

Daun beluntas memiliki kandungan kimia antara lain alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, monoterpen, sterol dan kuinon. Kandungan flavonoid di dalam daun beluntas membuat daun ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif. Kandungan senyawa fenolnya berguna untuk mengganggu pertumbuhan Gram negatif (Widyawati, *et al.*, 2014). Martina (2012), mengatakan

daun beluntas dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dalam rongga mulut dengan konsentrasi 25% pada sediaan obat kumur. Penelitian lainnya membuktikan ekstrak daun beluntas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* (Manu, 2013) dan *Propionibacterium acnes* (Rahmi *et al.*, 2015).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang mudah ditemukan dimanamana dan bersifat patogen oportunistik, berkoloni pada kulit dan permukaan mukosa manusia. Sumber infeksi bakteri ini berasal dari lesi terbuka maupun barang-barang yang terkena lesi tersebut, selain itu ada beberapa tempat di rumah sakit yang beresiko tinggi dalam penyebaran bakteri ini, seperti unit perawatan intensif, perawatan neonatus, dan ruang operasi (Brooks *et al.*, 2007; WHO, 2012). *Staphylococcus aureus* juga merupakan bakteri penyebab infeksi nosokomial yang banyak terjadi di Indonesia. Di Jakarta pada periode tahun 1986-1993 terjadi peningkatan angka kejadian infeksi *Staphylococcus aureus* hampir empat kali lipat dari 2,5% menjadi 9,4% (Nasir, 2010).

Antibiotik merupakan pilihan terbaik untuk menanggulangi suatu infeksi. Antibiotik merupakan senyawa obat yang digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan mikroorganisme selain bakteri (Bahi dan Anizar, 2013). Klindamisin merupakan salah satu contoh antibiotik dengan mekanisme kerjanya sebagai bakteristatik ataupun bakterisidal, yang tergantung pada konsentrasi obat, tempat infeksi dan organisme penyebab infeksi (Mulyani, *et al.*, 2017). Klindamisin digunakan untuk mengobati infeksi serius yang disebabkan oleh bakteri anaerob atau aerob Gram positif (BPOM RI, 2015). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif (Brooks, *et al.*, 2005), sehingga klindamisin dipilih sebagai kontrol positif pada percobaan. Akan tetapi, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan terjadinya resistensi (Sholih, *et al.*, 2015). Oleh karena itu, diperlukan adanya terapi alternatif dari tumbuhan yang berpotensi tinggi sebagai antibakteri.

Daun beluntas dapat berfungsi sebagai antibakteri karena didalamnya mengandung senyawa aktif antibakteri. Untuk mengambil senyawa aktif antibakteri dalam tumbuhan dapat dilakukan dengan menggunakan metode

ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu metode yang digunakan untuk menarik satu atau lebih senyawa dari tempat asalnya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Syamsuni, 2006). Metode yang diduga efektif dalam mengekstrak senyawa adalah *soxhletasi*. Prinsip *soxhletasi* adalah penyaringan yang berulang-ulang sehingga hasil yang didapat sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Kadji, *et al.* (2013) menyatakan, ekstraksi cara *soxhlet* menghasilkan rendemen yang lebih besar jika dibandingkan dengan maserasi. Dari sini, dibuatlah ekstrak *soxhlet* daun beluntas.

Dalam penggunaannya, untuk memudahkan pengaplikasian ekstrak daun beluntas sebagai antibakteri maka dapat dibuat dalam bentuk sediaan farmasi. Salah satu sediaan farmasi yang efektif untuk mengobati infeksi akibat *Staphylococcus aureus* yaitu gel. Gel adalah sediaan semipadat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar terpenetrasi oleh suatu cairan (Ansel, 2008). Sediaan gel dipilih karena mudah mengering, membentuk lapisan film yang mudah dicuci dan memberikan rasa dingin di kulit (Panjaitan, *et al.*, 2012).

Sediaan gel merupakan salah satu sediaan semi padat yang relatif kurang stabil zat aktifnya dibandingkan sediaan padat sehingga perlu dilakukan uji stabilitas. Uji stabilitas merupakan bagian penting program uji bahan obat. Stabilitas sediaan setengah padat tergantung pada basis dan sifat kimia zat aktifnya. Komposisi dan pembuatan sediaan setengah padat juga menjadi perhatian (Cartensen dan Rhodes, 2000). Banyak faktor yang mempengaruhi stabilitas produk farmasi, seperti stabilitas dari bahan aktif, interaksi antara bahan aktif dan bahan tambahan, proses pembuatan, proses pengemasan, dan kondisi lingkungan selama pengangkutan, penyimpanan, dan penanganan, dan jangka waktu produk antara pembuatan hingga pemakaian (Vadas, 2010).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas (*Pluchea folium*) terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri penyebab infeksi di kulit.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) dalam sediaan gel menurunkan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*?
2. Apakah efektivitas gel ekstrak daun beluntas tidak berbeda dengan gel klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* ?
3. Bagaimanakah stabilitas fisik sediaan gel yang mengandung ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.f*)?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui aktivitas ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) dalam sediaan gel menurunkan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
2. Mengetahui konsentrasi gel ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) yang setara dengan gel klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
3. Mengetahui stabilitas fisik sediaan gel yang mengandung ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.f*)

1.4 Hipotesis

1. Gel ekstrak daun beluntas menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, semakin tinggi dosis semakin luas zona hambat yang terbentuk.
2. Zona hambat gel ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) tidak berbeda dengan zona hambat gel klindamisin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.5 Manfaat

1.5.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan terkait daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) bisa dimanfaatkan dalam bentuk sediaan farmasi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.5.2 Bagi Instansi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) sebagai bahan rujukan dan atau referensi penelitian selanjutnya.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Pemanfaatan daun beluntas sebagai bahan obat masih kurang dikalangan masyarakat, sehingga penelitian ini diharapkan mampu menunjukkan manfaat daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Tradisional

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Permenkes RI No. 007 Tahun 2012), bahan - bahan yang digunakan tidak mengandung bahan kimia sintetik.

2.2 Tanaman Beluntas

2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman beluntas menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermathophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Asterales
Suku	: Asteraceae
Marga	: <i>Pluchea</i>
Jenis	: <i>Pluchea indica</i> (L.)Less



Gambar 2.1 Daun beluntas (*pluchea indica* l.) (Direktorat jenderal tanaman pangan dan hortikultura, 1994)

2.2.2 Morfologi

Tanaman beluntas merupakan tanaman perdu tegak yang sering bercabang banyak dan memiliki ketinggian 0,5-2 m. Daun tanaman beluntas berambut, dan berwarna hijau muda. Helai daun beluntas berbentuk oval elips dengan pangkal daun runcing dan tepi daunnya bergerigi. Letak daun beluntas berseling dan bertangkai pendek dengan panjang daun sebesar 2,5-9 cm dan lebar 1-5,5 cm (van Steenis, 2008).

Bunga tanaman beluntas merupakan bunga majemuk dengan bentuk bongkol kecil, berkumpul dalam malai rata majemuk terminal. Bunga beluntas memiliki tabung kepala sari berwarna ungu, dan tangkai putik dengan 2 cabang ungu yang menjulang jauh (van Steenis, 2008).

Buah tanaman beluntas berbentuk gangsing, keras dan berwarna cokelat. Ukuran buah beluntas sangat kecil dengan panjang 1 mm. Buah beluntas memiliki biji kecil dan berwarna cokelat keputih-putihan (van Steenis, 2008; Pujowati, 2006).

2.2.3 Kandungan

Beluntas mengandung asam amino (leusin, isoleusin, triptofan, treonin), lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A dan C. Akar beluntas mengandung flavonoid dan tannin, tanaman beluntas juga mengandung *benzyl asetat*, *benzyl alcohol*, serta eugenol (Ningtyas, 2012).

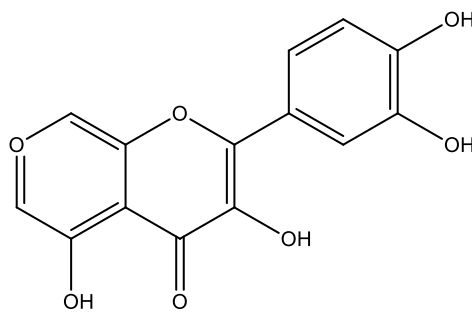
Daun beluntas memiliki kandungan kimia antara lain alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, monoterpen, sterol dan kuinon. Kandungan flavonoid di dalam daun beluntas membuat daun ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif. Kandungan senyawa fenolnya berguna untuk mengganggu pertumbuhan bakteri gram negatif (Widyawati *et al.*, 2014).

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol alam yang terbesar, terdapat dalam tumbuhan hijau. Flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik dan mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri serta merusak membran sitoplasma. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan

ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri (Prajitno, 2007).

Sebagian besar senyawa flavonoid dalam bentuk glikosida (gula dan aglikon) dan juga sebagai aglikon. Dalam bentuk glikosidanya flavonoid larut dalam air dan sedikit larut dalam pelarut organik. Struktur senyawa flavonoid secara biosintesis berasal dari penggabungan jalur sikimat C6-C3(cincin A) dan jalur asetat malonat (Hahlbrock & Grisebach, 1975 ; Wong, 1976).



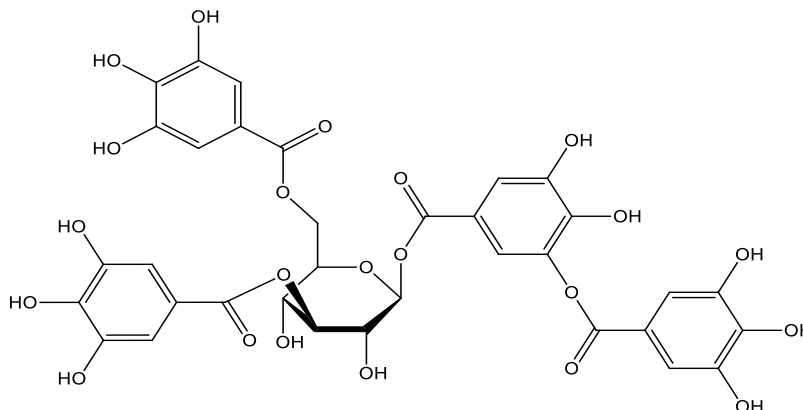
Gambar 2.2 Struktur flavonoid (Chastelyna, 2016)

Flavonoid terutama senyawa yang mudah larut dalam air dan diekstraksi dengan etanol 70% (Harborne, 1987). Untuk mengekstraksi senyawa flavonoid dari tumbuhan biasanya digunakan pelarut yang memiliki polaritas yang sesuai dengan flavonoid tersebut karena kelarutan flavonoid berbeda-beda (Robinson, 1995). Aglikon flavonoid adalah senyawa polifenol, sehingga mempunyai sifat kimia senyawa fenol yaitu agak bersifat asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid yang mempunyai gugus hidroksil tak tersubstitusi atau suatu gula merupakan senyawa polar dan umumnya cukup larut dalam pelarut seperti etanol, metanol, aseton, air, dan lain-lain (Markham, 1988).

2. Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Tanin alami larut dalam air dan memberikan warna pada air, warna larutan tanin bervariasi dari warna terang sampai warna merah gelap atau coklat, karena setiap tanin memiliki warna yang khas tergantung sumbernya (Ahadi, 2003). Semua jenis tanin dapat larut dalam air, metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Kelarutannya besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan

dalam air panas. Tanin akan terurai menjadi *pyrogallo*, *pyrocatechol* dan *phloroglucinol* bila dipanaskan sampai suhu 99-102°C (Risnasari, 2002).



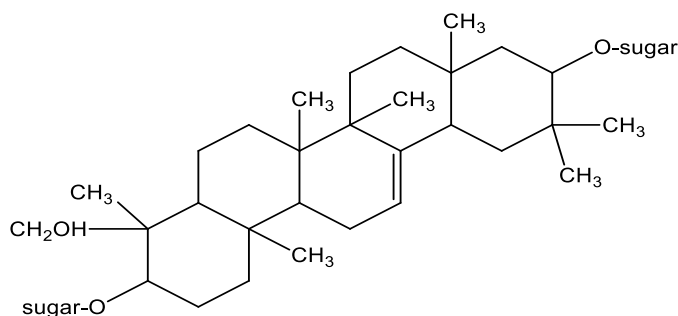
Gambar 2.3 Struktur inti tanin (Chastelyna, 2016)

Menurut Ajizah (2004), mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat.

3. Saponin

Saponin berasal dari kata latin yaitu “Sapo” yang berarti mengandung busa stabil bila dilarutkan dalam air. Kemampuan busa dari saponin disebabkan oleh kombinasi dari sapogenin yang bersifat hidrofobik (larut dalam lemak) dan bagian rantai gula yang bersifat hidrofilik (larut dalam air) (Naoumkina, *et al.*, 2010). Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter (Hartono, 2009).

Saponin dapat menyebabkan hemolisis pada sel darah merah. Hal ini disebabkan karena saponin berikatan dengan kolesterol dari membran sel sehingga dapat merusak membran (Faradisa, 2008). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga menyebabkan kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995).



Gambar 2.4 Struktur saponin (chastelyna, 2016)

2.2.4 Khasiat

Beluntas merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang cukup tersebar luas di Indonesia. Sebagian orang memanfaatkan tanaman ini sebagai pagar pekarangan. Daun beluntas berkhasiat sebagai peluruh keringat (*diaforetik*), penyegar, obat TBC kelenjar, dan nyeri pada rematik (Koireowa *et al.*, 2012). Pemanfaatan beluntas dalam kehidupan sehari-hari oleh masyarakat yaitu sebagai sayuran dan obat-obatan. Daun beluntas juga digunakan secara empiris dan dipercaya mempunyai khasiat menambah nafsu makan, membantu melancarkan pencernaan, membantu menghilangkan bau badan, bau mulut, menurunkan panas, meredakan nyeri pada tulang, meredakan sakit pinggang, dan juga mengobati keputihan (Pulio *et al.*, 2012).

Secara ilmiah ekstrak daun beluntas memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat sebesar 17,7 mm (Wulandari *et al.*, 2012). Efek analgesik ekstrak daun beluntas juga terlihat pada pemberian ekstrak daun beluntas pada menit ke-30 dan terus memberikan efek pada menit ke-60 dalam dosis 300 mg/kgBB yang merupakan dosis maksimum karena pada dosis tersebut sudah mencapai kadar terapeutik maksimum (Sibarani *et al.*, 2013).

2.3 Simplisia

2.3.1 Definisi

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM RI, 2014)

2.3.2 Syarat

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 baik 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 (irisian) bila diremas mudah dipatahkan. Ciri lain simplisia yang baik adalah tidak berjamur, dan berbau khas menyerupai bahan segarnya (Herawati *et al.*, 2012).

Dalam hal simplisia sebagai bahan baku dan produk siap konsumsi langsung dapat dipertimbangkan 3 konsep untuk menyusun parameter standar umum :

1. Simplisia sebagai bahan kefarmasian seharusnya memenuhi 3 parameter mutu umum suatu bahan (material), yaitu kebenaran jenis (identifikasi), kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia dan biologis) serta aturan penstabilan (wadah, penyimpanan dan transportasi).
2. Simplisia sebagai bahan dan produk konsumsi manusia sebagai obat tetap diupayakan memenuhi 3 paradigma produk kefarmasian, yaitu Quality-Safety-Efficacy (mutu-aman-manfaat).
3. Simplisia sebagai bahan dengan kandungan kimia yang bertanggung jawab terhadap respon biologis harus mempunyai spesifikasi kimia, yaitu informasi komposisi (jenis dan kadar) senyawa kandungan (Depkes RI, 2000).

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).

2.3.3 Penyiapan Simplisia

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

a. Sortasi basah

Dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotoran lainnya harus dibuang.

b. Pencucian

Dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur dari PAM. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin. Pencucian dilakukan tiga kali, satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba, bila pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Depkes RI, 2000).

c. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami perajangan bahan simplisia. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan maka semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga dapat menyebabkan berkurangnya/hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan.

d. 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, kelembaban 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 sampai 45°C. Terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan (menggunakan instrumen).

e. Sortasi kering

Tujuan sortasi adalah untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.

f. Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling 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).

2.3.4 Serbuk dan Kadar Air Simplisia

Serbuk simplisia nabati adalah bentuk serbuk dari simplisia nabati, dengan ukuran derajat kehalusan tertentu. Sesuai dengan derajat kehalusannya, dapat

berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus, dan sangat halus. Serbuk simplisia nabati tidak boleh mengandung fragmen jaringan dan benda asing yang bukan merupakan komponen asli dari simplisia yang bersangkutan antara lain telur nematoda, bagian dari serangga dan hama serta sisa tanah (Ditjen POM, 1995).

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

Umumnya ekstraksi akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Dengan demikian maka makin halus serbuk simplisia seharusnya makin baik ekstraksinya (Departemen Kesehatan RI, 1986).

Berdasarkan penelitian Sapri, *et al.*, (2012) diketahui bahwa pada rendemen ekstrak etanol daun sirsak yang dihasilkan pada ukuran serbuk 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh yaitu semakin besar ukuran nomor mesh yang digunakan dalam pengayakan simplisia semakin besar pula rendemen yang dihasilkan. Jadi, ukuran serbuk simplisia berpengaruh terhadap rendemen ekstrak yang diperoleh, dimana semakin kecil ukuran serbuk simplisia, maka semakin besar rendemen ekstrak.

Kadar air dari serbuk 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 dan Entang, 2013).

2.4 Ekstraksi

Menurut Departemen Kesehatan RI (2006), ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut.

2.4.1 Metode Ekstraksi

Terdapat dua cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut antara lain cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas yaitu refluks, soxhlet, digesti, infus dan dekok (Depkes RI, 2000)

2.4.1.1 Ekstraksi Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C). Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Departemen Kesehatan RI, 2006).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perkolasi cukup sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar (Departemen Kesehatan RI, 2006).

2.4.1.2 Ekstraksi Cara Panas

1. Refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam

simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Departemen Kesehatan RI, 2006).

2. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Departemen Kesehatan RI, 2006).

3. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Departemen Kesehatan RI, 2006).

4. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100°C selama 30 menit (Departemen Kesehatan RI, 2006).

5. Soxhlet

Metode ekstraksi *soxhlet* adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping *soxhlet* maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Departemen Kesehatan RI, 2006).

Ekstraksi menggunakan *soxhlet* dengan pelarut cair merupakan salah satu metode yang paling baik digunakan dalam memisahkan senyawa bioaktif dari alam. Cara ini memiliki beberapa kelebihan dibanding yang lain antara lain sampel kontak dengan pelarut yang murni secara berulang, kemampuan mengekstraksi sampel lebih tanpa tergantung jumlah pelarut yang banyak (Rais, 2014).

Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Seidel V, 2006). Berdasarkan penelitian Mukhriani (2014), rendemen yang dihasilkan pada metode *soxhletasi* lebih banyak dibanding metode ekstraksi maserasi.

Metode *soxhletasi* hanya cocok pada senyawa yang tidak mudah menguap dan tahan panas. Pelarut yang digunakan dalam proses *soxhletasi* yaitu pelarut yang mudah menguap dan melarutkan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel dengan pertimbangan sifat kepolaran pelarut tersebut (Harborne, 1987).

2.4.2 Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi, sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut (Guenther, 2006). Terdapat dua pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut, yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak berbahaya atau tidak beracun. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar, tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen ekstrak dan titik didih kedua bahan tidak boleh terlalu dekat (Guenther, 2006). Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang ditargetkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dalam proses bioassay, potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.2.1 Akuades

Akuades 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).

2.4.2.2 Etanol

Etanol biasa disebut etil alkohol, hidroksietan atau alkohol, diproduksi melalui fermentasi gula, karbohidrat dan pati, biasa digunakan sebagai pelarut, antiseptik, obat penenang, industri parfum dan obat-obatan. Etanol merupakan pelarut organik (Lewis, 1993). Sifat-sifat etanol dapat dilihat pada Tabel II.1

Tabel II.1 Sifat-sifat Etanol (Schefan dan Morris, 1983)

Nama lain	Etanol, hidroksi ethan, metil karbinol, ansol
Rumus bangun	C ₂ H ₅ OH
Sifat	Mudah menguap berbau khas, tidak beresidu
Berat molekul	46,7
Titik leleh	-117,3-112°C
Titik didih	78,4°C
Berat jenis	0,789 g/mL
Kelarutan	Dalam arm eter, kloroform, dan metil alkohol

Etanol merupakan senyawa alkohol dengan formula C₂H₅OH yang berbentuk cair, tidak berwarna, larut dalam air, eter, kloroform dan aseton. Dihasilkan dari peragian kanji, hidrolisis bromoetana dengan kalium hidroksida (Basri, 1996). Berdasarkan penelitian Fathurrachman (2014), konsentrasi etanol mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan juga hasil uji fitokimia senyawa dalam tanaman sirsak. Ekstrak etanol 70% menghasilkan % rendemen lebih tinggi dibanding ekstrak etanol 96%. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan polaritas antara pelarut etanol 96% dan 70%.

Dalam dunia kimia, farmasi dan kedokteran, etanol banyak digunakan, diantaranya sebagai pelarut. Etanol merupakan pelarut polar yang banyak digunakan untuk mengekstrak komponen polar suatu bahan alam dan dikenal sebagai pelarut universal. Komponen polar dari suatu bahan alam dalam ekstrak

etanol dapat diambil dengan teknik ekstraksi melalui proses pemisahan (Santana, *et al.*, 2009).

Etanol 60-80% berkhasiat sebagai bakterisida yang kuat dan cepat terhadap bakteri-bakteri, sebagai germisida alat-alat, sebagai obat sedatif dan depresan sistem saraf pusat yang memberikan efek tenang dan euforia (Al-Jawi, 2005; Masters, 2002; Makiyah *et al.*, 2005).

2.4.2.1 Etil Asetat

Etil asetat / etiletanoat adalah suatu zat cair tak berwarna dengan bau buah yang semerbak bertitik didih 77°C dan $d = 0,9 \text{ g/ml}$ (Arsyad, 2001). Dalam penelitian gandapura, pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat dan heksana, ternyata hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut menunjukkan bahwa rendemen ekstrak tertinggi dihasilkan ekstrak emtanol yang bersifat polar, diikuti oleh etil asetat dan heksana (Hermani, 2004).

2.4.2.2 Kloroform

Kloroform (triklorometana) merupakan salah satu senyawa haloform yang mudah menguap, sukar terbakar (tetapi uapnya mudah terbakar), tidak larut dalam air tetapi larut dalam alkohol dan eter, uapnya bersifat membius dan bila terkena udara dan cahaya dapat membentuk gas fosgen yang beracun. Kloroform digunakan untuk pembuatan senyawa fluorokarbon, sebagai pelarut (cat), dan sebagai anestetik. Kelarutan dalam air pada suhu 25°C (Ham, 2006).

2.4.2.3 Petroleum Eter

Petroleum eter merupakan campuran hidrokarbon berupa cairan jernih, mudah menguap, mudah terbakar (Ham, 2006).

2.4.2.4 Heksana

Heksana mempunyai karakteristik sangat tidak polar volatil, mempunyai bau khas yang dapat menyebabkan pingsan. Titik didih heksana pada tekanan 760 mmHg adalah $66-71^{\circ}\text{C}$. (Schefan dan Morris, 1983). N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa - senyawa bersifat nonpolar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010)

2.5 Gel

2.5.1 Definisi

Gel adalah sediaan semi solid dimana terdapat interaksi antar partikel koloid dengan suatu pembawa berupa cairan (Jones, 2008). Gel merupakan sistem semi padat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan (Dirjen POM, 1995). Polimer-polimer yang biasa digunakan untuk membuat gel-gel farmasetika meliputi gom alam tragakan, pectin, karagen, agar asam alginate, serta bahan-bahan sintesis dan semisintesis seperti metilselulosa, hidrosimetilselulosa, karboksimetilselulosa, dan carbopol (Yulianhar, 2009).

Gel dikelompokkan menjadi gel organik dan anorganik berdasarkan sifat fase koloidal. Gel organik dibagi menjadi gom alam (seperti gom arab, karagen, dan gom xantan), dan gom hasil sintesis (seperti hidroksipropil selulosa dan metil hidroksipropil selulosa). Sifat pelarut akan menentukan apakah gel merupakan hidrogel (dasar air) atau organogel (dengan pelarut bukan air). Gel padat dengan konsentrasi pelarut rendah dikenal sebagai "xero gel", sering dihasilkan dengan cara penguapan pelarut, sehingga menghasilkan kerangka gel (Amalia, 2012).

2.5.2 Monografi Bahan

a. CMC Na

Natrium karboksimetilselulosa (Na CMC) merupakan garam natrium dari asam selulosaglikol dan dengan demikian berkarakter ionik. Sediaan dengan 7-10% zat bersifat mudah disebarkan, konsistensinya plastis. Untuk membuat salap, serbuknya digerus dengan bahan penahan lembab, ke dalamnya ditambahkan air sebagian demi sebagian dan dibiarkan membengkak. Proses pembengkakannya hanya sambil diaduk kontinyu, sedikit tergantung dari suhu. Na CMC bisa larut baik di dalam air dingin maupun air panas. Larutan dalam airnya stabil terhadap suhu dan tetap stabil dalam waktu lama pada suhu 100°C, tanpa mengalami koagulasi (Voight, 1971).

Na CMC digunakan secara luas untuk formulasi sediaan farmasi oral dan topikal, terutama karena tingkat viskositas yang dimilikinya. Pada konsentrasi

yang lebih tinggi, biasanya 3-6 %, digunakan sebagai basis dalam pembuatan gel dan pasta, glikol sering kali dimasukkan untuk mencegah penguapan. Bobot molekul Na CMC adalah 90.000-700.000 (Rowe *et al.*, 2003).

b. Gliserin

Pada sediaan topikal dan kosmetik, gliserin sering digunakan terutama sebagai humektan dan emolient. Gliserin / gliserol dapat campur dengan air dan dengan etanol (95%); praktis tidak larut dalam kloroform, dalam eter, dan dalam minyak lemak (Amalia, 2012).

c. Propilen glikol

Propilen glikol banyak digunakan sebagai pelarut dan pembawa dalam pembuatan sediaan farmasi dan kosmetik, khususnya untuk zat-zat yang yang tidak stabil atau tidak dapat larut dalam air. Propilen glikol adalah cairan bening, tidak berwarna, kental, dan hampir tidak berbau. Memiliki rasa manis sedikit tajam menyerupai gliserol. Dalam kondisi biasa, propilen glikol stabil dalam wadah yang tertutup baik dan juga merupakan suatu zat kimia yang stabil bila dicampur dengan gliserin, air, atau alkohol. Propilen glikol juga digunakan sebagai penghambat pertumbuhan jamur (Lodén, 2009).

Propilen glikol telah banyak digunakan sebagai pelarut dan pengawet dalam berbagai formulasi parenteral dan nonparenteral. Propilen glikol secara umum merupakan pelarut yang lebih baik dari gliserin dan dapat melarutkan berbagai bahan, seperti kortikosteroid, fenol, obat-obatan sulfa, barbiturat, vitamin A dan D, alkaloid, dan banyak anastesi lokal (Rowe., *et al.*, 2005)

2.5.3 Evaluasi

Evaluasi sediaan salep meliputi pemeriksaan organoleptis, uji pH, uji homogenitas, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji stabilitas.

1. Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati sediaan salep dari bentuk, bau, dan warna sediaan (Hernani *et al.*, 2012).

2. Uji pH

Uji pH merupakan salah satu bagian kriteria pemeriksaan sifat fisik dalam memprediksi kestabilan salep, dimana profil pH menentukan stabilitas bahan aktif dalam suasana asam atau basa. Kriteria salep yang baik harus memenuhi kriteria pH kulit yaitu 4,5 - 6,5 (Naibaho *et al.*, 2013).

3. Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui kehomogenan salep. sediaan salep tersebar secara merata atau tidak. Hal ini berkaitan dengan kehomogenan ketersebaran bahan obat. Apabila sediaan homogen, maka menandakan bahwa dosis obat tersebar secara tepat (Hernani *et al.*, 2012).

4. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui kelunakan massa salep sehingga dapat dilihat kemudahan pengolesan sediaan salep pada kulit. Sediaan salep yang bagus dapat menyebar dengan mudah di tempat aksi tanpa menggunakan tekanan (Hernani *et al.*, 2012).

5. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan oleh salep untuk melekat dikulit (Hernani *et al.*, 2012).

6. Uji daya proteksi

Uji daya proteksi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan dalam melindungi sediaan topikal dari pengaruh luar, dalam hal ini yang digunakan sebagai parameter adalah cairan yang bersifat basa (Amatullah *et al.*, 2017).

7. Uji Stabilitas Fisik

Stabilitas obat adalah kemampuan suatu produk untuk mempertahankan sifat dan karakteristiknya agar sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat (identitas, kekuatan, kualitas, kemurnian) dalam batasan yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan (*shelf-life*) (Joshita, 2008). Tujuan pemeriksaan kestabilan obat adalah untuk menjamin bahwa setiap bahan obat yang didistribusikan tetap memenuhi persyaratan yang ditetapkan meskipun sudah cukup lama dalam penyimpanan. Pemeriksaan kestabilan digunakan

sebagai dasar penentuan batas kadaluarsa, cara-cara penyimpanan yang perlu dicantumkan dalam label (Lachman, 1994).

Ketidakstabilan fisik sediaan ditandai dengan adanya pemucatan warna atau munculnya warna, timbul bau, perubahan atau pemisahan fase, pecahnya emulsi, pengendapan suspensi (*caking*), perubahan konsistensi, pertumbuhan kristal atau perubahan bentuk kristal, terbentuknya gas dan perubahan fisik lainnya (Djajadisastra, 2004).

2.6 Bakteri

2.6.1 Definisi

Nama bakteri berasal dari bahasa Yunani “*bacterion*” yang berarti batang atau tongkat. Sekarang nama itu dipakai untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu, tubuhnya bersifat prokariotik, yaitu tubuhnya terdiri atas sel yang tidak mempunyai pembungkus inti. Bakteri berkembangbiak dengan membelah diri, karena bakteri begitu kecil maka hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Bakteri walaupun bersel satu tetapi mempunyai beberapa organel yang dapat untuk melaksanakan beberapa fungsi hidup (Waluyo, 2004).

2.6.2 Penggolongan Bakteri

Untuk memahami beberapa kelompok organisme, diperlukan klasifikasi. Tes biokimia, pewarnaan Gram, merupakan kriteria yang efektif untuk klasifikasi. Hasil pewarnaan mencerminkan perbedaan dasar dan kompleks pada sel bakteri (struktur dinding sel), sehingga dapat membagi bakteri menjadi 2 kelompok, yaitu bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif.

1. Bakteri Gram-negatif

- Bakteri Gram Negatif Berbentuk Batang (*Enterobacteriaceae*).

Bakteri Gram negatif berbentuk batang habitatnya adalah usus manusia dan binatang. Enterobacteriaceae meliputi *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*. Beberapa organisme seperti *Escherichia coli* merupakan flora normal dan dapat menyebabkan penyakit, sedangkan yang lain

seperti *salmonella* dan *shigella* merupakan patogen yang umum bagi manusia.

- *Pseudomonas*, *Acinobacter* dan Bakteri Gram Negatif Lain.
Pseudomonas aeruginosa bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh dan merupakan patogen nosokomial yang penting
- *Vibrio* *Campylobacter*, *Helicobacter*, dan Bakteri lain yang berhubungan.

Mikroorganisme ini merupakan spesies berbentuk batang Gram-negatif yang tersebar luas di alam. *Vibrio* ditemukan didaerah perairan dan permukaan air. *Aeromonas* banyak ditemukan di air segar dan terkadang pada hewan berdarah dingin.

- *Haemophilus* , *Bordetella*, dan *Brucella*
 Gram negatif *Hemophilis influenza* tipe b merupakan patogen bagi manusia yang penting.
- *Yersinia*, *Franscisella* dan *Pasteurella*.
 Berbentuk batang pendek Gram-negatif yang pleomorfik. Organisme ini bersifat katalase positif, oksidase positif, dan merupakan bakteri anaerob fakultatif (Jawetz, 2004).

2. Bakteri Gram-positif

- Bakteri Gram positif pembentuk spora : Spesies *Bacillus* dan *Clostridium*.
 Kedua spesies ini terdapat dimana-mana, membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Spesies *Basillus* bersifat aerob, sedangkan *Clostridium* bersifat anaerob obligat.
- Bakteri Gram-positif Tidak Membentuk Spora :
 Spesies *Corynebacterium*, *Listeria*, *Propionibacterium*, *Actinomycetes*. Beberapa anggota genus *Corynebacterium* dan kelompok *Propionibacterium* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lender manusia.

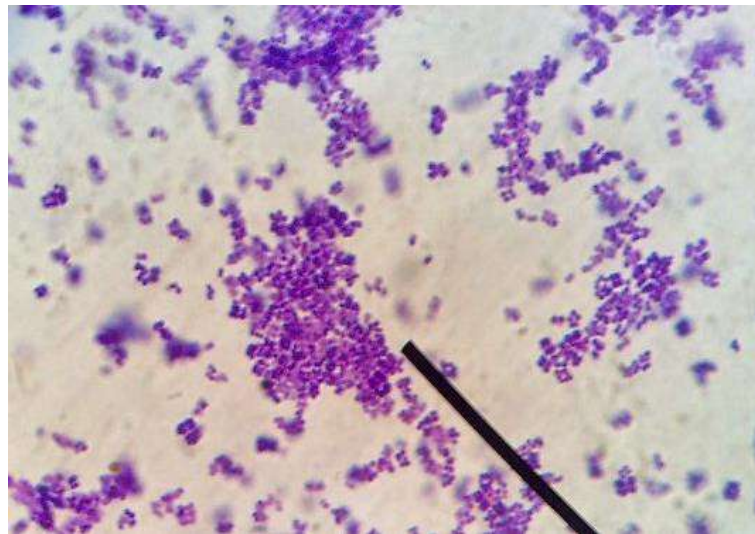
- *Staphylococcus*
Berbentuk bulat, biasanya tersusun bergerombol yang tidak teratur seperti anggur. Beberapa spesies merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lendir, yang lain menyebabkan supurasi dan bahkan septikemia fatal. *Staphylococcus* yang patogen sering menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler. Tipe *Staphylococcus* yang berkaitan dengan medis adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*.
- *Streptococcus*
Merupakan bakteri gram-positif berbentuk bulat yang mempunyai pasangan atau rantai pada pertumbuhannya. Beberapa *streptococcus* merupakan flora normal manusia tetapi lainnya bisa bersifat patogen pada manusia. Ada 20 spesies diantaranya ; *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, dan jenis *Enterococcus* (Jawetz, 2004).

2.7 *Staphylococcus aureus*

2.7.1 Klasifikasi

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* yaitu (Agus Herdiana, 2015):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Cocci
Ordo	: Bacillales
Keluarga	: Staphylococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2.5 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2008)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu dari bakteri Gram positif berbentuk bulat. Hidup didalam saluran – saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan seperti hidung, mulut, dan tenggorokan dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. *Staphylococcus 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).

2.7.2 Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri patogen utama pada manusia. Termasuk dalam family Staphylococcacea, berukuran 0,5-1,5 μ m dan membentuk pigmen kuning keemasan. Bentuk sel kokus tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair. Bakteri fakultatif anaerob dan tidak termasuk spora (Agus Herdiana, 2015).

2.7.3 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

2.7.3.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel staphylococcus dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Pengecatan Gram merupakan salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan, yang dikembangkan oleh Christian Gram (Ferdiaz, 1993). Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah.

2.7.3.2 *Mannitol salt agar*

Mannitol salt agar (MSA) merupakan media selektif dan media diferensial (Sharp, 2006). Penanaman dilakukan dengan cara satu ose biakan diambil dari media pepton, dan diusapkan pada media MSA, kemudian diinkubasi pada 37 C selama 24 jam (Lay, 1994). Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media MSA akan berwarna kuning karena memfermentasi manitol.

2.7.3.3 Uji Katalase

Katalase merupakan salah satu uji cepat yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* karena bakteri ini menghasilkan enzim katalase. Uji ini dapat membedakan koloni *Staphylococcus* yang berwarna putih sampai abu-abu dengan koloni *Streptococcus* (Goldman dan Lorrence, 2009). Uji katalase dilakukan dengan mereaksikan hidrogen peroksida (H₂O₂) dengan suspensi bakteri, hasil positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara (Hadioetomo, 1990).

2.7.3.4 Uji Koagulase

Uji koagulase dilakukan dengan 2 metode, yaitu uji slide dan uji tabung. Uji slide atau *clumping factor* digunakan untuk mengetahui adanya enzim koagulase yang terikat sel bakteri. Uji slide dikerjakan dengan cara setetes aquadest atau NaCl fisiologis steril diletakkan pada kaca benda, kemudian satu ose bakteri yang diuji dan disuspensikan. Setetes plasma diletakkan di dekat suspensi biakan tersebut, keduanya dicampur dengan menggunakan ose dan kemudian digoyangkan. Reaksi positif terjadi apabila dalam waktu 2-3 menit terbentuk *presipitat granuler* (Bruckler *et al.*, 1994).

Uji tabung digunakan untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 µl plasma dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak 3-4 koloni biakan *Staphylococcus sp.* yang diuji ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur hati-hati. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 4 jam pertama, dan sesudah 18-24 jam. Reaksi positif akan terjadi apabila terbentuk clot atau *jelly* dan ketika tabung dimiringkan *jelly* tetap berada di dasar tabung (Lay, 1994).

2.8 Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Menurut Jawetz dan Adelbergs, (2005) antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu :

a. Menghambat pembentukan dinding sel

Mekanisme penghambatan dinding sel oleh antibakteri ditujukan untuk dinding sel bakteri yang terdiri dari peptidoglikan yang merupakan suatu senyawa kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Penyerangan tersebut menyebabkan tekanan osmotik di dalam sel lebih tinggi daripada di luar sel sehingga mengakibatkan terjadinya lisis atau kebocoran sel, misalnya penggunaan penicillin.

b. Mengubah permeabilitas membran sel

Membran sel berperan penting dalam mengatur keluar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar. Mekanisme kerja antibakteri dalam mengubah permeabilitas membran sel bakteri yaitu dengan cara merusak membran sel sehingga fungsi permeabilitas membran mengalami kerusakan yang mengakibatkan kematian sel. Contoh antibakteri yang dapat melakukan hal ini adalah polimiksin, kolistin, nistatin dan sebagainya.

c. Menghambat sintesis protein

Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama yaitu transkripsi dan translasi. Antibakteri yang dapat mengganggu proses

transkripsi ataupun translasi sehingga menghambat sintesis protein adalah streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol dan sebagainya.

d. Menghambat sintesis asam nukleat

Antibakteri ini bekerja dengan cara membentuk kompleks dengan DNA yang menyebabkan terhambatnya proses replikasi DNA, misalnya asam nalidiksat.

Resistensi adalah ketidakmampuan antibiotik untuk membunuh bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan pemberian pada kadar maksimum yang dapat ditolerir oleh inang. Resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik dapat terjadi dengan beberapa cara, yaitu dengan merusak antibiotik dengan enzim yang diproduksi bakteri, mengubah reseptor titik tangkap antibiotik, mengubah fisiko kimiawi target sasaran antibiotik pada sel bakteri, antibiotik tidak dapat menembus dinding sel akibat perubahan sifat dinding sel bakteri dan antibiotik masuk ke dalam sel bakteri, namun segera dikeluarkan dari dalam sel melalui mekanisme transpor aktif ke luar sel (Drlica dan Perlin, 2011). Beberapa strain bakteri mungkin saja resisten terhadap lebih dari satu antibiotik (Clark *et al.*, 2012).

2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri secara *in vitro*. Pengujian ini dapat dilakukan dengan dua metode yakni metode penyebaran (*Diffusion method*) dengan menggunakan cakram kertas dan metode pengenceran (*Dillution method*) (Kristanti, 2008).

2.9.1 Metode Difusi

2.9.1.1 Metode *disc diffusion*

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Lempengan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah disebari 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).

2.9.1.2 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)

2.9.1.3 Ditch-plate technique

Sampel uji pada metode ini berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media Agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji maksimum 6 macam digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri (Pratiwi, 2012).

2.9.1.4 Cup-Plate technique

Metode ini hampir sama dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media Agar yang telah ditanami dengan bakteri dan pada sumur diberikan agen antibakteri yang akan diujikan (Pratiwi, 2012).

2.9.1.5 Gradient-plate techniques

Konsentrasi agen antibakteri pada metode ini yang terdapat pada media Agar secara teoritis bervariasi dari 0 sampai maksimal. Media Agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri lalu diletakkan dalam posisi miring. Selanjutnya nutrisi kedua dituang di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antibakteri berdifusi. Bakteri uji maksimal 6 macam digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil dihitung sebagai panjang total pertumbuhan bakteri maksimum

yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan (Pratiwi, 2012).

Tabel II. 2 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Repi *et al.*, 2016)

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

2.9.2 Metode Dilusi

2.9.2.1 Metode dilusi cair / *broth dilution test (serial diution)*

Prinsip metode dilusi (pengenceran) adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, Dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) (Pratiwi, 2009). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9 % pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Forbes *et al.*, 2007).

2.9.2.2 Metode dilusi padat (*solid dilution test*)

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

2.10 Klindamisin

Klindamisin digunakan karena mempunyai mekanisme kerja yang sama seperti senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun beluntas.

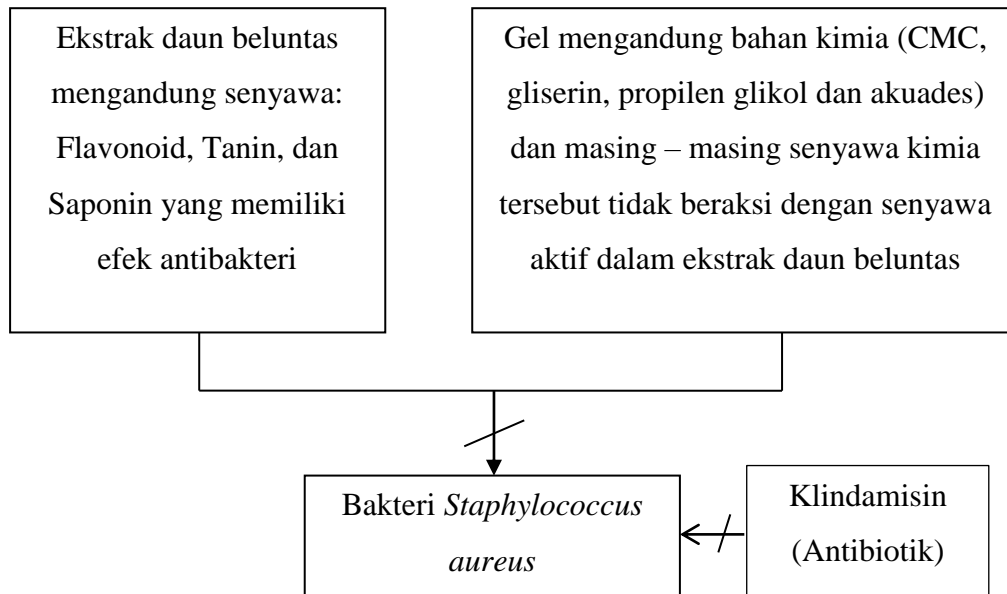
Klindamisin menghambat sebagian besar kokus Gram-positif dan sebagian besar bakteri Gram-negatif aerob seperti *Haemophilus*, *Mycoplasma* dan *Chlamydia* (Kemenkes, 2011). Klindamisin merupakan antibiotik yang digunakan untuk jenis bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (Gaballah dan Ghazal, 2018). Mekanisme kerja klindamisin sama dengan eritromisin. Klindamisin sebagai antibakterial bekerja dengan menghambat pertumbuhan atau reproduksi dari bakteri yaitu menghambat sintesa protein. Mekanisme kerja klindamisin meliputi memotong elongasi rantai peptida, memblok *site A* pada ribosom, kesalahan membaca pada kode genetik atau mencegah penempelan rantai oligosakarida pada glikoprotein. Klindamisin digunakan untuk mengobati infeksi serius yang disebabkan oleh bakteri anaerob atau aerob Gram positif (BPOM RI, 2015).

Karakteristik klindamisin menurut FI Edisi IV adalah sebagai berikut (DepKes RI, 1995) :

Nama obat	:	Klindamisin hidroklorida
Nama lain	:	Clindamycini hydrochloridum
Nama kimia	:	Metil 7-kloro-6,7,8-trideoksi-6-(metil-trans-4-propil-L-2-pirolidinakarboxamido)-1tio-L-treo- α -D-galaktoktopiranosida [21462-39-5]
RM	:	$C_{18}H_{33}ClN_2O_3S.HCl$
BM	:	461,44 g/mol
Kemurnian	:	Klindamisin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 800 μ g per mg
Pemerian	:	Mudah larut dalam air, dalam dimetilformamida dan dalam metanol. Larut dalam etanol, praktis tidak larut dalam aseton
pH	:	3,0-5,5
Penyimpanan	:	Dalam wadah tertutup rapat
Kegunaan	:	Antibakteri Pembanding

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

Daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) memiliki banyak manfaat untuk pengobatan, salah satunya digunakan sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Manu (2013) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, karena mengandung senyawa aktif flavonoid, tanin, dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Agoes, 2010). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen utama bagi manusia (Jawetz, 2007; Nasution, 2014).

Dalam penggunaan obat infeksi secara topikal, akan lebih mudah diaplikasikan apabila dalam bentuk sediaan gel. Formulasi gel terdiri dari bahan kimia meliputi CMC, gliserin, propilen glikol dan akuades. Masing – masing senyawa kimia tersebut tidak akan bereaksi dengan senyawa aktif dalam ekstrak

daun beluntas. Namun demikian, masih harus diteliti tentang kemampuan antibakteri ekstrak daun beluntas apabila dalam bentuk sediaan gel. Salah satu metode untuk membuktikan efek antibakteri adalah dengan menggunakan metode difusi, yakni dengan melihat kemampuan gel dalam berdifusi dan menimbulkan zona hamabatan. Sebagai perbandingan efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* digunakan gel klindamisin yang memiliki mekanisme kerja sama dengan senyawa dalam ekstrak daun beluntas.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun beluntas segar sebanyak 5 kg digunakan untuk pembuatan simplisia, serbuk daun beluntas 500 gram dan etanol 70% 5.000 ml untuk pembuatan ekstrak. Ekstrak daun beluntas, asam asetat glasial dan asam sulfat pekat untuk uji kadar etanol ekstrak, ekstrak daun beluntas, magnesium (Mg), asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄) pekat, asam asetat anhidrat, dan larutan ferri klorida (FeCl₃) 1% untuk skrining fitokimia. Ekstrak daun beluntas 5%, 10%, 15%, CMC, gliserin, propilen glikol, akuades untuk pembuatan gel. Kalium hidroksida, parafin cair, akuades, fenoltalein untuk uji evaluasi salep. *Nutrien agar*, akuades, *Nutrient broth*, *manitol salt agar* (MSA), *Staphylococcus aureus*, hidrogen peroksida, NaCl fisiologis, Mc Farland, gel ekstrak daun beluntas dan gel klindamisin untuk uji aktivitas antibakteri.

3.3 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, blender, ayakan mesh 80, neraca analitik dan wadah simplisia untuk pembuatan simplisia. Alat soxhletasi, kondensor, labu alas bulat 250 mL, selang penghubung, asbes, kaki tiga, spirtus, oven, statif dan klem, sendok tanduk, kertas saring, tali, batang pengaduk, gelas beker 250 ml, gelas beker 1000 ml, termometer, untuk pembuatan ekstrak. Kaca arloji, sendok tanduk, oven, botol timbang, dan neraca analitik untuk uji kadar air serta uji susut pengeringan. Tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur 1 mL, cawan porselen dan kapas untuk uji kadar etanol ekstrak. Tabung

reaksi, pipet ukur 5 mL, gelas beker 100 mL, pipet tetes, *stop watch* untuk skrining fitokimia. Neraca analitik, sendok tanduk, mortir stamper, sudip, pipet tetes untuk pembuatan gel. Gelas beker, pH universal, sudip, gelas objek, lempeng kaca, anak timbangan, neraca analitik, penggaris, *stop watch*, alat uji daya lekat, kertas saring dan pipet tetes untuk uji evaluasi gel. Autoklaf (GEA YX2808), cawan petri, kertas cakram, erlenmeyer, tabung reaksi, aluminium foil, mikropipet, rak tabung reaksi, spiritus, *Laminar Air Flow* (ESCO EMC 600), ose, bunsen, kapas, jangka sorong dan inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*) untuk uji aktivitas antibakteri.

3.4 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun beluntas (*Pluchea indica*) yang terdapat di kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.5 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah gel ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.)

3.6 Definisi Operasional

1. Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.f) adalah daun dari tumbuhan beluntas (*Pluchea indica* L.) yang diambil dari Desa Panjerejo, Kecamatan Rejotangan, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.
2. Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FKUB dan merupakan isolat dari pasien.
3. Stabil adalah sediaan tidak mengalami perubahan berdasarkan parameter kestabilan sediaan selama waktu 14 hari atau 2 minggu.

3.7 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari

sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas dan variabel terikat.

3.7.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica*) yang dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

3.7.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat sediaan gel ekstrak daun beluntas (*Pluche indica*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Determinasi Tanaman

Sampel tanaman daun beluntas diidentifikasi di UPT Materia Medica Batu Malang, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman (Insaru *et al.*, 2011).

3.8.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun beluntas dilakukan dengan mengumpulkan daun beluntas yang masih segar dan hijau dengan cara dipetik, disortasi basah yang bertujuan untuk membersihkan daun dari kotoran dan benda asing. Pencucian dilakukan dengan air bersih yang berasal dari sumur untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan tiga kali, satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba, bila pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal. Proses pengeringan simplisia dilakukan dengan cara diangin – anginkan sampai kering atau tidak terkena cahaya matahari langsung pada suhu kamar. Simplisia kering dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-

bahan asing lainnya (Depkes RI, 1985). Daun beluntas yang sudah kering dan disortasi selanjutnya akan dilakukan proses penghalusan dengan cara diblender sampai didapatkan serbuk halus kemudian diayak dengan ayakan 80 *mesh*, hal ini dikarenakan serbuk yang lebih halus akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Serbuk halus kemudian di uji kadar airnya. Simplisia yang sudah jadi disimpan dalam wadah (Depkes RI, 1985)

3.8.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g simplisia dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105° C selama 5 jam dan ditimbang. Dilanjutkan pengeringan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut – turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

3.8.4 Pembuatan Ekstrak

Simplisia serbuk daun beluntas ditimbang sebanyak 50 g dimasukkan dalam kertas saring, diletakkan pada timbel. Labu alas bulat diisi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 350 mL. Dilakukan ekstraksi kontinyu hingga ekstraksi tercapai dengan ditandai dengan cairan pelarut yang menetes di atas timbel menjadi jernih (Handa *et al.*, 2008)

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

3.8.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan sejumlah ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL asam asetat glasial, dan 1 mL asam sulfat pekat. Campuran dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian tabung ditutup dengan kapas, hasil positif bebas etanol jika tidak tercium bau ester (Depkes RI, 1995).

3.8.6 Skrining Fitokimia

3.8.6.1 Flavonoid

Sampel sebanyak kurang lebih 1 mL dicampur dengan 3 mL etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol (Harborne, 2006).

3.8.6.2 Tanin

Sampel sebanyak 2 g ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 mL larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006).

3.8.6.3 Saponin

Sampel diambil sebanyak kurang lebih 1 mL dididihkan dengan 10 mL akuades dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin (Harborne, 2006).

3.8.7 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.8.8 Pembuatan Media

3.8.8.1 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 mL akuades, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

3.8.8.2 Pembuatan Media *Manitol Salt Agar* (MSA)

Serbuk MSA sebanyak 1,08 g dilarutkan dalam 10 mL akuades, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (Atlas, 2010).

3.8.8.3 Pembuatan Median *Nutrient Agar* (NA)

Serbuk NA sebanyak 4,2 g dilarutkan dalam 210 mL akuades, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (Atlas, 2010).

3.8.9 Uji identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan media diferensial MSA

Suspensi *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada permukaan media MSA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Radji, 2013). Koloni *Staphylococcus aureus* memiliki ciri – ciri bundar, halus, menonjol dan berkilau serta berwarna abu – abu sampai kuning emas tua (Dewi, 2013).

3.8.10 Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standart 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. Farland mempunyai populasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Forbes *et al.*,2007).

3.8.11 Formulasi Gel

3.8.11.1 Formulasi Standart

Tabel III.1 Formula standar Gel (Aponno *et al.*,2014)

Komponen	% b/v
CMC	5 gram
Gliserin	10 mL
Propilenglikol	5 mL
Air ad	100

3.8.11.2 Formulasi Gel Ekstrak Daun Beluntas

Tabel III.2 Formulasi Gel yang Dimodifikasi

Bahan	Konsentrasi Gel		
	F.I (% b/v)	F.II (% b/v)	F.III (%b/v)
Ekstrak Daun Beluntas	5 gram	10 gram	15 gram
CMC	5 gram	5 gram	5 gram
Gliserin	10 mL	10 mL	10 mL
Propilen glikol	5 mL	5 mL	5 mL
Air ad	100 mL	100 mL	100 mL

3.8.12 Pembuatan Gel

Cara pembuatan formulasi gel ialah disiapkan semua bahan yang akan digunakan yaitu CMC, gliserin dan propilen glikol. Bahan ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan formulasi. Ekstrak dengan konsentrasi 5% dilarutkan dalam sebagian air yang telah dipanaskan pada suhu 50° C. Ditambahkan CMC dan diaduk sampai homogen. Ditambahkan gliserin, propilenglikol dan air dengan pengadukan secara kontinyu hingga terbentuk gel. Gel yang telah terbentuk kemudian disimpan pada suhu ruangan. Prosedur yang sama juga dilakukan pada ekstrak dengan konsentrasi 10% dan 15% (Aponno, *et al.*, 2014)

3.8.13 Evaluasi Gel

3.8.13.1 Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan secara visual dan dilihat secara langsung bentuk, warna, dan bau dari sediaan gel. Gel biasanya jernih dengan konsistensi setengah padat (Ansel, 2005).

3.8.13.2 Uji pH

Sediaan gel ditimbang sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam 100 mL akuades dalam gelas beker. Larutan diukur pH-nya menggunakan pH indikator universal sebanyak tiga kali replikasi dan dihitung nilai rata-rata pH (Kaur & Guleri, 2013).

3.8.13.3 Uji Homogenitas

Diambil sediaan gel secukupnya, dioleskan pada gelas objek kemudian diraba dan digosok. Diamati susunan sediaan pada gelas objek. Massa gel homogen ditunjukkan dengan tidak adanya bahan padat atau butiran pada kaca (Dewantari & Sugihartini, 2015).

3.8.13.4 Uji Daya Sebar

Sediaan gel ditimbang sebanyak 500 mg, diletakkan ditengah kaca bulat berskala dan diletakkan kaca bulat lainnya yang telah ditimbang di atas gel selama 1 menit. Diukur diameter gel yang menyebar, kemudian ditambahkan beban 50 g didiamkan selama 1 menit. Dicatat diameter gel yang menyebar dan setelah penambah beban 100 g, 150 g, dan 200 g (Fujiastuti & Sugihartini, 2015).

3.8.13.5 Uji Daya Lekat

Sampel gel sebanyak 0,25 gram diletakkan diantara 2 objek glass pada alat uji daya lekat, ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit, kemudian beban diangkat dan pada alat uji dilepaskan beban 80 gram serta dicatat waktu pelepasan gel (Dewantari & Sugihartini, 2015).

3.8.13.6 Uji Daya Proteksi

Sediaan gel dioleskan pada kertas saring yang sebelumnya telah ditetesi fenolftalein. Kertas tersebut ditempelkan pada kertas saring lain dan kemudian ditetesi larutan KOH 0,1 N. Diamati munculnya warna merah pada waktu detik ke 15, 30, 45, 60 serta menit ke 3 dan 5 (Widyantoro & Sugihartini, 2015).

3.8.13.7 Uji Stabilitas Fisik

Sediaan gel diamati perubahan bau, bentuk, warna, homogenitas, pH, daya sebar dan viskositas selama penyimpanan pada suhu 40°C. Diamati perubahannya setiap 2 minggu sekali selama 8 minggu (Sayuti, 2015).

3.8.14 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Beluntas

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram (*paper disc*), yaitu biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan secara merata dengan cara mencelupkan ujung *cotton bud* steril dalam medium nutrient cair, dan mengoleskannya pada permukaan medium lempeng NA sampai rata. Kemudian kertas cakram steril diresapi dengan ekstrak daun beluntas dari berbagai seri

konsentrasi (5%, 10%, dan 15%) dibiarkan selama 25 menit. Selanjutnya meletakkan kertas cakram yang mengandung gel ekstrak daun beluntas tersebut pada permukaan medium yang telah diinokulasikan dengan *Staphylococcus aureus* secara aseptik (dengan menggunakan pinset steril). Medium perlakuan ini diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Setelah 24 jam akan terbentuk zona bening di sekitar cakram yang menunjukkan kemampuan dari senyawa uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Setyowati dan Nugrahaningsih, 2015). Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik klindamisin.

3.9 Jalan penelitian

Kelompok I : kontrol negatif, yaitu gel tanpa ekstrak

Kelompok II : kontrol positif, yaitu gel klindamisin 1%

Kelompok III : kelompok uji, yaitu gel ekstrak daun beluntas 5%

Kelompok IV : kelompok uji, yaitu gel ekstrak daun beluntas 10%.

Kelompok V : kelompok uji, yaitu gelekstrak daun beluntas 15%.

Penelitian ini dimulai dengan determinasi tanaman beluntas yang dilakukan di Materia Medica Batu Malang dan selanjutnya dilakukan pembuatan serbuk simplisia dari 5 kg daun beluntas segar. Serbuk simplisia tersebut dilakukan uji kadar air dan susut pengeringan. Tahapan selanjutnya dilakukan ekstraksi, yaitu serbuk simplisia sebanyak 500 gram diekstraksi menggunakan metode *soxhletasi* dengan pelarut etanol 70% sebanyak 5000 mL yang kemudian diperoleh ekstrak daun beluntas. Ekstrak daun beluntas kemudian dilakukan uji bebas etanol dan skrining fitokimia (flavonoid, saponin, dan tanin). Ekstrak daun beluntas selanjutnya dibuat dalam formulasi gel dengan variasi konsentrasi, yaitu 5%, 10%, dan 15%. Gel tersebut kemudian dilakukan evaluasi sediaan meliputi uji organoleptik, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, daya proteksi, dan stabilitas. Uji aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan menggunakan metode difusi cakram dan diperoleh daya hambat.

3.10 Replikasi Kelompok Penelitian

Jumlah replikasi perlakuan untuk tiap kelompok pada penelitian ini dapat dihitung menggunakan rumus : $p(n - 1) \geq 15$ dengan deskripsi p adalah jumlah perlakuan dosis dan n adalah jumlah pengulangan (replikasi) tiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 5 jumlah perlakuan dosis (p). Berikut adalah perhitungan replikasi yang diperlukan dalam penelitian :

$$5(n - 1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 20/5$$

$$\mathbf{n \geq 4}$$

hasil dari perhitungan replikasi, didapat n sebesar 4, sehingga replikasi yang dilakukan adalah sebanyak 4 kali untuk tiap kelompok perlakuan dalam penelitian.

3.11 Analisis Statistika

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas pada *Staphylococcus aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 16 untuk melihat apakah ekstrak gel daun beluntas mampu menghambat *Staphylococcus aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan sebagai berikut :

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 *Kolmogorov-smirnov* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

H_0 : data berdistribusi normal

H_1 : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel – sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

H_1 : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3. Uji One Way Anova

Uji One Way Anova bertujuan untuk membedakan rata – rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan gel dengan variasi konsentrasi ekstrak berbeda dengan kontrol (gel tanpa ekstrak) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun beluntas dalam gel terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

H_1 : Ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun beluntas dalam gel terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

4. Uji Korelasi

Uji korelasi ini digunakan untuk membuktikan hubungan yang signifikan antara variasi konsentrasi ekstrak daun beluntas dalam sediaan gel terhadap efek antibakteri yang dihasilkan. Pengujian korelasi ini menggunakan metode statistik *Spearman*

Perumusan hipotesis :

H_0 : Tidak terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara dosis ekstrak daun beluntas dalam sediaan gel terhadap efek antibakteri yang dihasilkan

H_1 : Terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara dosis ekstrak daun beluntas dalam sediaan gel terhadap efek antibakteri yang dihasilkan

Pengambilan keputusan :

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

BAB IV

HASIL PENELITIAN & PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman beluntas dilakukan di Materia Medika, Batu. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.f) dengan kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16b-286b-288b-289b-1a-2b-3b-4b-5a-6b-8b-9b-10a. Morfologi tanaman beluntas yaitu perdu kecil, tumbuh tegak, daun bulat telur, hijau muda, panjang 2-9 cm, ujung lancip, letak berseling, berbau khas. Dalam tanaman beluntas mengandung senyawa alkaloid, minyak atsiri saponin, flavonoid, dan polifenol.

4.2 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

4.2.1 Uji Kadar Air Simplisia

Tabel IV.1 Uji kadar air simplisia serbuk *pluchea indica* L.f

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.f)	10,012 g	9,1877 g	8,24%

$$\text{Rumus \% Kadar Air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\% \text{ (Depkes, 2000)}$$

Keterangan : bobot awal = bobot simplisia sebelum dioven

Bobot akhir = bobot simplisia sesudah dioven

Uji kadar air digunakan untuk menetapkan jumlah semua jenis bahan yang mudah menguap selama kondisi tertentu atau selama proses pemanasan (Depkes RI, 1995). Uji kadar air dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk melihat kualitas simplisia daun beluntas yang digunakan. Menurut Menkes RI (2009), kadar air yang dipersyaratkan yaitu tidak melebihi 10%. Jika kadar air sesuai dengan yang dipersyaratkan maka dapat meminimalisir kandungan air dalam simplisia yang dapat mencegah pertumbuhan dan aktivitas enzim

mikroorganisme pada simplisia sehingga simplisia daun beluntas tahan lama serta kandungan zat aktif didalamnya tidak berubah.

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan lebih kurang 10 g simplisia dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Hasil uji kadar air dapat dilihat pada Tabel IV.1. Pada uji kadar air diperoleh hasil sebesar 8,24%. Hasil yang diperoleh ini menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan.

4.2.2 Ekstrak Daun Beluntas

Tabel IV.2 Hasil uji susut pengeringan daun beluntas

Sampel	Bobot Basah	Bobot Kering	Hasil
Daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L. f)	5 kg	1,05 kg	21%

Uji susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui seberapa besar senyawa yang hilang akibat dari proses pengeringan (DepKes, 2000). Berdasarkan tabel IV.2 diketahui susut pengeringan daun beluntas sebesar 21%.

Proses ekstraksi serbuk simplisia daun beluntas dilakukan menggunakan metode *soxhletasi*. Metode *soxhletasi* dipilih karena proses yang mudah, menggunakan pelarut yang relatif sedikit dan dihasilkan ekstrak yang lebih sempurna akibat penyarian yang berulang-ulang. Pada *soxhletasi* ini digunakan serbuk simplisia daun beluntas (*Pluchea indica* L. f) sebanyak 500 gram yang dibagi menjadi 10 bagian dan selanjutnya dilakukan proses *soxhletasi* dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol 70% dipilih karena merupakan pelarut semi polar yang dapat menarik senyawa polar dan non polar yang terkandung dalam simplisia. Setiap satu bagian simplisia di *soxhletasi* sampai 3 x sirkulasi. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dan diperoleh ekstrak kering.

Tabel IV.3 Hasil rendemen ekstrak

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Hasil
Daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L. f)	500 g	8,890 g	1,778 %

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir ekstrak yang digunakan dengan berat awal ekstrak yang digunakan dikalikan 100%. Hasil rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa kimia yang dapat tersari dalam ekstrak juga cukup besar. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak daun beluntas sebesar 1,778%. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut (Maslukhah *et al.*, 2016).

Dalam penelitian ini, ada beberapa kendala yang dialami oleh peneliti yaitu terbatasnya waktu dan alat yang tersedia di dalam laboratorium sehingga pada proses ekstraksi menjadi lebih lama dari sebagaimana mestinya.

4.2.3 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol ekstrak daun beluntas bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan bebas dari etanol karena pelarut tersebut dapat membunuh bakteri sehingga dikhawatirkan mempengaruhi aktivitas antibakteri (Sumiati, 2014). Hasil uji bebas etanol ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif bebas etanol yang ditandai dengan tidak terciumnya bau ester pada ekstrak seperti yang ditunjukkan pada tabel IV.4

Tabel IV.4 Hasil uji bebas etanol daun beluntas

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L. f)	Asam asetat, asam sulfat, dipanaskan	+	Bebas etanol

Keterangan: (+) Tidak tercium bau ester dan (-) Tercium bau ester

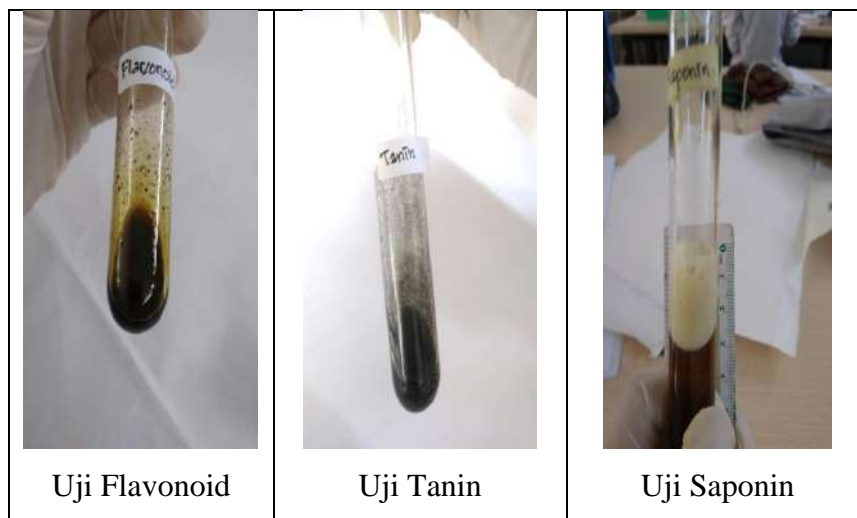
4.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun beluntas bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Menurut Widyawati *et al.* (2014), daun beluntas memiliki kandungan kimia antara lain alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, monoterpen, sterol dan kuinon.

Tabel IV.5 Hasil skrining fitokimia daun beluntas

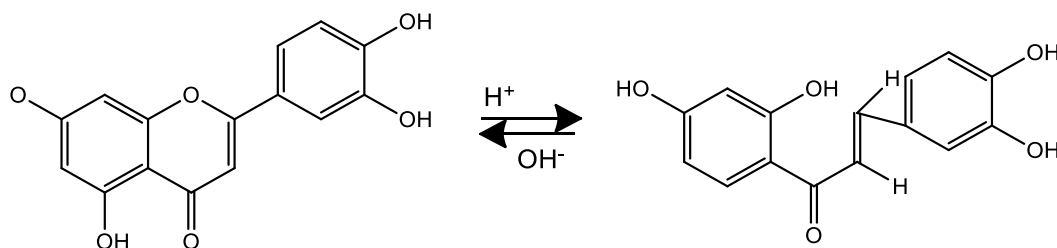
Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	Asam sulfat pekat	Jingga orange	+
Tanin	Etanol 70% + FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Saponin	Ekstrak + aquadest	Terbentuk busa	+

Keterangan: (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa

**Gambar 4.1.** (a) Uji Flavonoid; (b) Uji Tanin; (c) Uji Saponin

4.3.1 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid di dalam ekstrak daun beluntas. Uji flavonoid ini dilakukan dengan mengambil sampel ekstrak kering daun beluntas sebanyak kurang lebih 1 mg dicampur dengan 3 mL etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Pemanasan dilakukan karena sebagian besar golongan flavonoid dapat larut dalam air panas (Ergina *et al.*, 2014). Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 2 tetes H₂SO₄ pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol (Harborne, 2006). Hasil uji flavonoid ekstrak daun beluntas adalah positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga orange. Berikut adalah reaksi yang terjadi

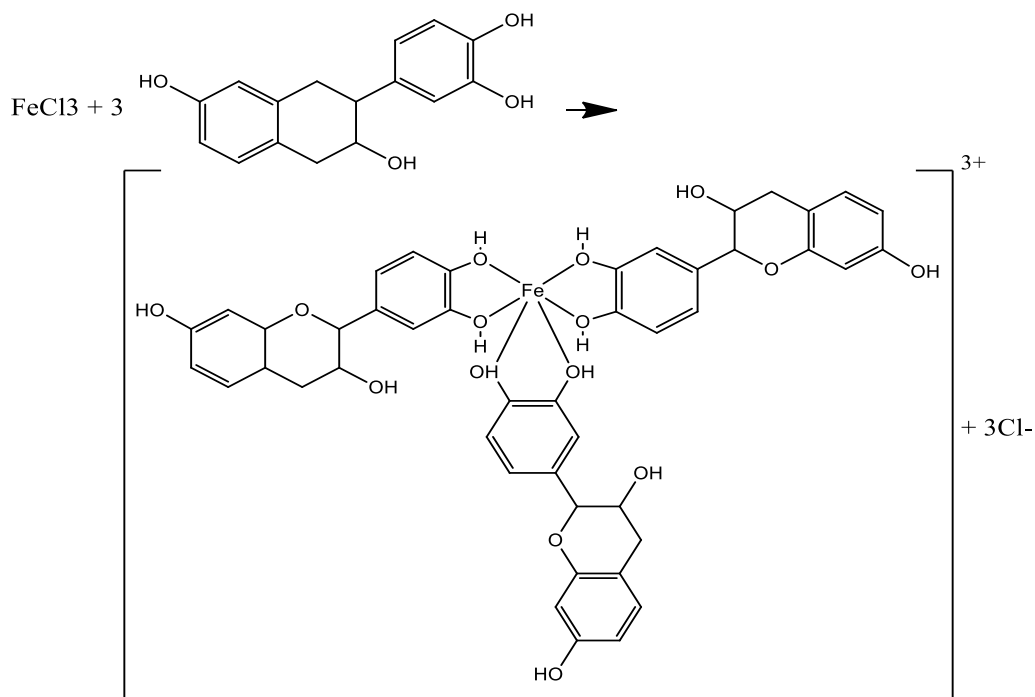


Gambar 4.2 Reaksi flavonoid dengan H_2SO_4 (Kusnadi dan Devi, 2017)

4.3.2 Uji Tanin

Pengujian tanin bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa tanin di dalam ekstrak daun beluntas. Langkah awal dalam pengujian senyawa tanin pada ekstrak daun beluntas yaitu dengan mengambil sampel sebanyak 2 g ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 mL larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006). Pada pengujian ini, diperoleh hasil positif dimana hasil yang didapatkan pada ekstrak daun beluntas terbentuk warna hitam kebiruan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat (Ergina *et al.*, 2014).

Uji skrining fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah sampel 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 terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina *et al.*, 2014). Penambahan ekstrak dengan larutan FeCl_3 1% dalam air menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} , seperti yang terlihat pada reaksi berikut

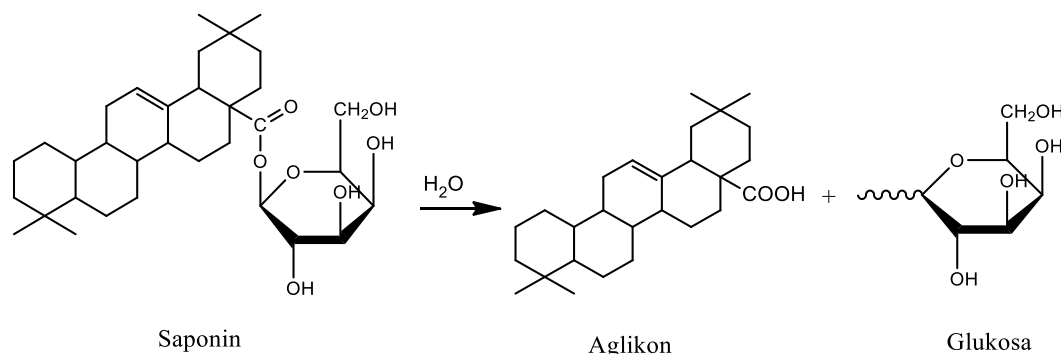


Gambar 4.3 Reaksi tanin dengan FeCl_3 (Ergina *et al.*, 2014)

4.3.3 Uji Saponin

Pengujian saponin dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa saponin di dalam ekstrak daun beluntas. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Saponin termasuk golongan triterpenoid yang mempunyai kerangka karbon berdasarkan isoprena (Bambang, *et al.*, 2016)

Pertama-tama sampel diambil sebanyak kurang lebih 1 ml dididihkan dengan 10 ml aquadestilata dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin (Harborne, 2006). Diperoleh hasil positif dengan terbentuknya busa. Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Ningsih *et al.*, 2016). Adapun reaksi kimia yang terjadi adalah sebagai berikut :



Gambar 4.4 Reaksi saponin dengan air (Illing *et al.*, 2017)

4.4 Uji Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengujian bakteri ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*. Sampel bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi FKUB, Malang.

Tabel IV.6 Hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Perlakuan	Hasil	Kesimpulan
1	Pewarnaan bakteri	Kokus ungu	+
2	Uji koagulase	Terbentuk koagulasi	+
3	Uji katalase	Warna putih	+
4	Identifikasi media MSA	Berwarna kuning keemasan	+

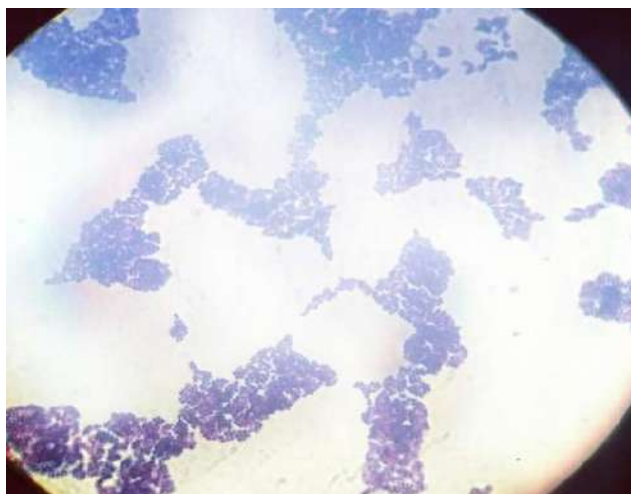
Keterangan: (+)= teridentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus*

4.4.1 Pewarnaan Gram Bakteri

Identifikasi awal yang perlu dilakukan adalah pewarnaan Gram bakteri. Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengaiti morfologi sel *Staphylococcus*. Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah. Bakteri *Staphylococcus* biasanya berbentuk bulat, bergerombol yang tidak teratur seperti anggur (Jawetz, 2004).

Langkah awal pewarnaan ini dengan mengambil satu ose bakteri yang kemudian diletakkan di atas gelas objek yang telah ditetesi dengan NaCl fisiologis kemudian dibuat apus setipis mungkin, dikeringkan dan difiksasi di atas lampu spiritus. Preparat apus ditetesi pewarna pertama dengan karbol gentian violet

selamat 1 menit, warna dibuang, ditetesi lugol selama 1 menit, kemudian preparat apus dilunturkan dengan alkohol 95% selama 1 menit. Selanjutnya alkohol dibuang, preparat dicuci dengan akuades dan diberi larutan *fuschine* selama 2 menit. Warna kemudian dibuang dan dibersihkan dengan akuades, dikeringkan dan diamati morfologi sel serta warnanya dibaawah mikroskop. Pada pewarnaan ini diperoleh hasil berupa bakteri dengan bentuk *coccus* berwarna ungu seperti terlihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Hasil pewarnaan Gram Bakteri *Staphylococcus aureus* perbesaran 100x

4.4.2 Uji Koagulase

Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Reaksi koagulase positif sangat penting untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan spesies *staphylococcus* lain. Uji koagulase dilakukan dengan 2 metode, yaitu uji slide dan uji tabung. Pada uji ini dilakukan uji slide yang dikerjakan dengan cara setetes akuades atau NaCl fisiologis steril diletakkan pada kaca benda, kemudian satu usa biakan yang diuji, disuspensikan. Setetes plasma diletakkan di dekat suspensi biakan tersebut, keduanya dicampur dengan menggunakan ose dan kemudian digoyangkan. Reaksi positif terjadi apabila dalam waktu 2-3 menit terbentuk *presipitat granuler* (Bruckler *et al.*, 1994). Diperoleh hasil berupa gumpalan putih pada uji slide koagulase ini seperti yang terlihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hasil uji koagulase

4.4.3 Uji katalase

Uji katalase berfungsi untuk membedakan antara *Staphylococcus* atau *Streptococcus*, dimana kelompok *Staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2O_2 dan O_2 . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktivkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Amalia, 2013)



Gambar 4.7 Hasil uji katalase

4.4.4 Identifikasi Media MSA

Identifikasi *Staphylococcus aureus* dalam media MSA menunjukkan hasil positif dengan berubahnya warna media MSA dari warna merah menjadi kuning seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.8. Perubahan ini terjadi karena fermentasi manitol menjadi asam. Produk yang dihasilkan bakteri ini adalah asam organik yang mengubah indikator pH di MSA, merubah warna merah menjadi kuning cerah (Tambayong, 2009)



Gambar 4.8 Hasil pada MSA (a) Sebelum; (b) sesudah

4.5 Evaluasi Sediaan Gel

Evaluasi sediaan bertujuan untuk melihat kualitas suatu sediaan dan untuk menjamin bahwa sediaan tersebut memiliki karakteristik sesuai dengan karakteristik yang telah ditentukan. Evaluasi sediaan dilakukan pada hari ke-0 atau setelah sediaan jadi, hari ke-7 dan hari ke-14.

4.5.1 Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk melihat tampilan fisik suatu sediaan yang dibuat. Dalam uji organoleptis diamati secara langsung bentuk, warna dan bau dari sediaan gel tanpa menggunakan alat bantu.



Gambar 4.9 Hasil uji organoleptis

Tabel IV.7 Hasil uji organoleptis

Sampel	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Gel Ekstrak 5%				
- Bau	Khas	Khas	Khas	
- Bentuk	Semi Solid	Semi Solid	Semi Solid	
- Warna	Coklat	Coklat	Coklat	
Gel Ekstrak 10%				
- Bau	Khas	Khas	Khas	
- Bentuk	Semi Solid	Semi Solid	Semi Solid	Bau : khas (Stiani <i>et al.</i> , 2016)
- Warna	Hitam	Hitam	Hitam	
Gel Ekstrak 15%				
- Bau	Khas	Khas	Khas	Bentuk : semi solid (Astuti, 2015)
- Bentuk	Semi Solid	Semi Solid	Semi Solid	
- Warna	Hitam	Hitam	Hitam	
Gel tanpa ekstrak				
- Bau	Khas	Khas	Khas	
- Bentuk	Semi Solid	Semi Solid	Semi Solid	
- Warna	Bening	Bening	Bening	

Berdasarkan Tabel IV.7 ketiga formulasi gel mempunyai bau yang sama, yaitu khas daun beluntas. Dimana semakin tinggi tingkat konsentrasi aroma dari sediaan gel yang dibuat semakin meningkat. Warna dan bentuk yang dihasilkan dari ketiga formulasi yaitu berbentuk semi solid berupa gel dengan warna coklat dan hitam sedikit kehijauan, dimana semakin tinggi ekstrak yang digunakan diperoleh warna yang semakin pekat dan bentuk yang semakin memadat. Menurut Ansel (2005), gel biasanya jernih dengan konsistensi setengah padat, namun berdasarkan hasil pengamatan gel memiliki warna coklat dan hitam sedikit kehijauan yang merupakan pengaruh dari ekstrak yang digunakan. Berdasarkan hasil penguian dari hari ke-0 sampai hari ke-14 dapat disimpulkan bahwa gel

ekstrak daun beluntas tersebut stabil berdasarkan pengujian bentuk, bau dan warna.

4.5.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan secara visual dengan mengoleskan sediaan gel ekstrak daun beluntas pada gelas obyek secara merata. Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui tidak adanya butiran kasar pada sediaan (Sayuti, 2015).



Gambar 4.10 Hasil uji homogenitas

Tabel IV. 8 Uji Homogenitas

	Formulasi I			Formulasi II			Formulasi III		
	Ekstrak 5%			Ekstrak 10%			Ekstrak 15%		
	0	7	14	0	7	14	0	7	14
Homogenitas	√	√	√	√	√	√	√	√	√

Berdasarkan tabel IV.8 diketahui bahwa sediaan gel yang dibuat sudah homogen semua dan tetap stabil selama masa penyimpanan.

4.5.3 Pengujian pH

Uji pH bertujuan untuk mengetahui pH pada sediaan yang harus disesuaikan dengan pH kulit (Naibaho *et al.*, 2013). Uji pH dilakukan dengan mengoleskan sediaan ke dalam kertas pH universal kemudian diamati perubahan

warnanya sesuai dengan indikator ph yang digunakan. Hasil dari pengujian pH dapat dilihat pada Tabel IV.9

Tabel IV.9 Hasil uji pH

Sampel	Hari ke-			Rata - rata	Standart
	0	7	14		
Gel Ekstrak 5%	5	5	5	5	4,5 – 6,5 (Naibaho <i>et al.</i> , 2013)
Gel Ekstrak 10%	5	5	5	5	
Gel Ekstrak 15%	5	5	5	5	
Gel tanpa ekstrak	5	5	5	5	



Gambar 4.11 Hasil Uji pH

Berdasarkan hasil uji pH yang diperoleh, ketiga formulasi gel mempunyai nilai pH yang sama selama 2 minggu pengujian yaitu pH 5. Hal ini berarti pH sudah memenuhi kriteria pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Mappa *et al.*, 2013). Dapat disimpulkan bahwa ketiga formulasi gel stabil selama dalam masa penyimpanan.

4.5.4 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan penyebaran gel. Pengujian daya sebar merupakan salah satu syarat dari suatu sediaan semisolid, apabila sediaan semisolid memiliki daya sebar yang tinggi maka akan memberikan daerah penyebaran yang luas pada kulit sehingga zat aktif yang

terkandung dalam sediaan semisolid akan tersebar secara merata. Pengujian dilakukan dengan mengambil sampel gel sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan ditengah kaca bulat berkala. Diatas gel kemudian diletakkan kaca bulat lain dan pemberat hingga 200 gram.

Tabel IV.10 Uji Daya Sebar

Sampel	Hari ke-			Rata – rata (cm)	Standart
	0 (cm)	7 (cm)	14 (cm)		
Gel Ekstrak 5%	4,8	4,7	4,7	4,73	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Gel Ekstrak 10%	4,3	4,3	4,2	4,27	
Gel Ekstrak 15%	3,8	3,5	3,4	3,56	
Gel tanpa ekstrak	5,8	5,3	5,2	5,43	



Gambar 4.12 Uji daya sebar

Hasil uji daya sebar yang baik yaitu antara 3-5 cm (Prastianto, 2016). Berdasarkan Tabel IV.8, pengujian daya sebar gel ekstrak daun beluntas dari hari ke-0 sampai ke-14 memperlihatkan hasil yang sama dilihat dari penurunan dan peningkatan luas yang tidak jauh berbeda, sehingga dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak daun beluntas memiliki daya sebar yang stabil selama penyimpanan.

4.5.5 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan gel melekat ketika dioleskan pada kulit. Semakin besar nilai daya lekat suatu sediaan maka kemampuan melekat pada kulit semakin kuat dan absorpsi dikulit semakin lama. Daya lekat suatu sediaan dipengaruhi oleh viskositas suatu sediaan tersebut.

Semakin tinggi viskositas suatu sediaan maka daya lekat yang dihasilkan akan semakin tinggi dan semakin rendah viskositas suatu sediaan maka daya lekat yang dihasilkan akan semakin rendah. (Rahmawati *et al.*, 2010). Pengujian daya lekat dilakukan dengan menggunakan alat uji daya lekat dan stopwatch untuk mengukur waktu. Daya lekat gel yang baik yaitu lebih dari 4 detik (Sugihartini, 2015).

Tabel IV.11 Hasil uji daya lekat

Sampel	Hari ke-			Rata – rata (detik)	Standart
	0 (detik)	7 (detik)	14 (detik)		
Gel Ekstrak 5%	98,88	110,12	118,08	107,02	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Gel Ekstrak 10%	149,25	164,87	177,88	164	
Gel Ekstrak 15%	186,07	198,65	208,54	197,75	
Gel tanpa ekstrak	14,42	42,4	45,6	34,14	



Gambar 4.13 Hasil uji daya lekat

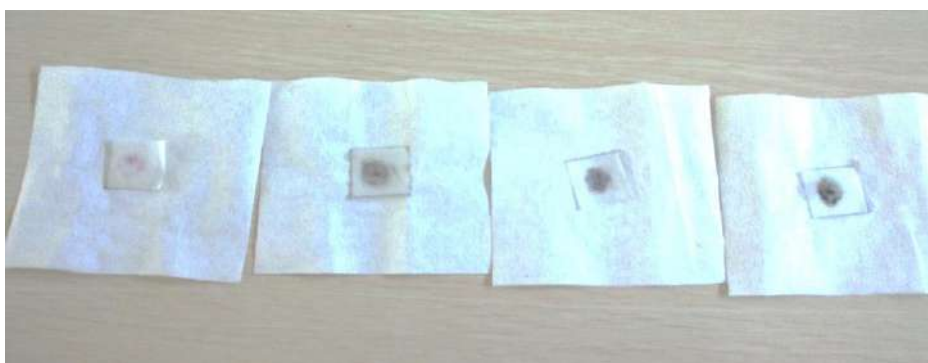
4.5.6 Uji Daya Proteksi

Uji daya proteksi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan gel dalam memproteksi atau memberikan perlindungan kulit terhadap pengaruh asing dari luar. Pengujian ini dilakukan dengan penambahan KOH. Sediaan gel dapat memberikan proteksi bila tidak timbul noda merah pada bekas tetesan KOH pada kertas saring. Munculnya noda merah pada kertas saring disebabkan karena adanya suatu interaksi antara indikator PP dan KOH (Rahmawati *et al.*, 2010).

Tabel IV.12 Hasil uji daya proteksi

	Formulasi I			Formulasi II			Formulasi III		
	Ekstrak 5%			Ekstrak 10%			Ekstrak 15%		
	0	7	14	0	7	14	0	7	14
Daya proteksi	√	√	√	√	√	√	√	√	√

Keterangan : √ = tidak timbul noda merah

**Gambar 4.14** Hasil uji daya proteksi

Berdasarkan Tabel IV.10, dapat diketahui bahwa gel ekstrak daun beluntas memberikan daya proteksi yang stabil selama masa penyimpanan 2 minggu.

4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri gel ekstrak daun beluntas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat dengan adanya diameter zona hambat pada kertas cakram. Pengukuran zona hambat dapat dilihat dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram (Kurniawati, 2015).

Uji aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas terhadap *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram. Metode ini dipilih karena proses pengerjaan yang mudah dilakukan dan tidak memerlukan peralatan khusus (Rahmadani, 2015). Dimana prinsip metode difusi yaitu gel ekstrak daun beluntas akan berdifusi kedalam media yang telah diinokulasi bakteri

uji sehingga gel ekstrak daun beluntas akan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kontrol negatif yang digunakan adalah gel kosong tanpa ekstrak untuk melihat apakah basis gel yang digunakan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri yang nantinya dapat menyebabkan bias pada hasil penelitian, sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah gel klindamisin yang memiliki mekanisme kerja menghambat pertumbuhan bakteri sama dengan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun beluntas. Pada penelitian ini dibuat gel ekstrak daun beluntas ke dalam beberapa konsentrasi, antara lain gel dengan ekstrak daun beluntas 5%, 10% dan 15%.

Pembuatan gel ekstrak daun beluntas menggunakan basis Na-CMC yang berfungsi sebagai *gelling agent* pada sediaan. Selain itu juga untuk memperoleh gel yang jernih, bersifat netral dan memiliki daya pengikat zat aktif yang kuat. Pada pembuatan gel juga ditambahkan gliserin dan propilenglikol. Gliserin dan propilenglikol berfungsi sebagai humektan atau penahan lembab yang meningkatkan kelembutan dan daya sebar sediaan serta menghindari terjadinya kekeringan pada sediaan (Aponno *et al.*, 2014).

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa formula gel memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang ditandai dengan timbulnya zona bening terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat pada Gambar 4.15.

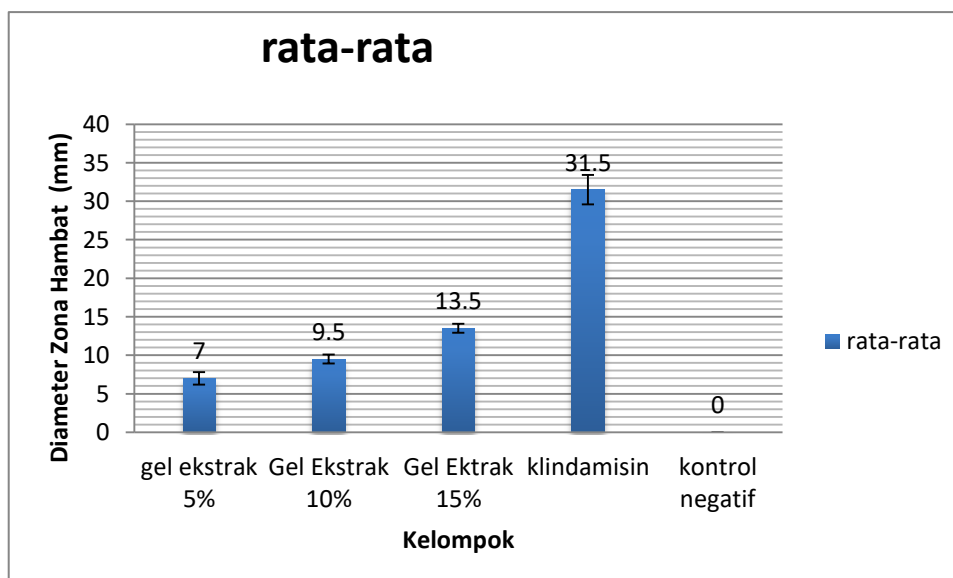


Gambar 4.15 Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Tabel IV.13 Hasil zona hambat gel antibakteri ekstrak daun beluntas terhadap *Staphylococcus aureus*

No.	Sampel	Diameter zona hambat (mm)				Rata-rata (mm)	Standar Deviasi
		I	II	III	IV		
1	Gel ekstrak daun beluntas 5%	6	7	7	8	7	0,81
2	Gel ekstrak daun beluntas 10%	9	10	9	10	9,5	0,57
3	Gel ekstrak daun beluntas 15%	14	13	13	14	13,5	0,57
4	Kontrol positif	32	34	30	30	31,25	1,91
5	Kontrol negatif	-	-	-	-	-	

Keterangan : (-) = tidak ada zona hambat



Gambar 4.16 Grafik diameter zona hambat

Berdasarkan tabel IV.13 dapat dilihat bahwa hasil zona hambat kontrol negatif adalah 0 mm. Hal ini menunjukkan bahwa basis gel yang digunakan tidak memiliki aktivitas antibakteri dan tidak memengaruhi hasil uji antibakteri dari gel yang mengandung ekstrak daun beluntas. Aktivitas antibakteri sendiri dibagi menjadi beberapa golongan berdasarkan diameter zona hambat yang ditimbulkan, yaitu golongan lemah (<5 mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm), sangat kuat (>21 mm) (Rachmawaty, 2016).

Kontrol positif yang digunakan adalah gel klindamisin. Klindamisin merupakan antibiotik yang digunakan untuk jenis bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (Gaballah & Ghazal, 2018). Gel klindamisin memiliki rata-rata zona hambat $31,25 \pm 1,91$ mm yang artinya berada dalam rentang kategori zona hambat sangat kuat.

Hasil diameter zona hambat gel ekstrak daun beluntas 5% memiliki rata-rata sebesar $7 \pm 0,81$ mm yang termasuk dalam kategori rentang sedang. Hasil diameter zona hambat gel ekstrak daun beluntas 10% memiliki rata-rata sebesar $9,5 \pm 0,57$ mm (sedang). Dan diameter zona hambat rata-rata gel ekstrak daun beluntas 15% sebesar $13,5 \pm 0,57$ mm (kuat). Peningkatan hasil diameter zona hambat ini dikarenakan semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin besar.

Kontrol positif gel klindamisin memiliki zona hambat rata-rata yang lebih besar dari pada diameter zona hambat rata-rata gel ekstrak dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15%. Hal ini dikarenakan antibiotik klindamisin merupakan senyawa murni sedangkan pada gel ekstrak daun beluntas masih terkandung senyawa-senyawa lain yang masih belum diketahui khasiatnya. Sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan belum dapat semaksimal gel klindamisin namun gel ekstrak daun beluntas masih memiliki aktivitas daun beluntas terhadap *Staphylococcus aureus*.

Aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas terhadap *Staphylococcus aureus* dimungkinkan karena adanya kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin dan saponin yang terkandung dalam ekstrak daun beluntas. Flavonoid bekerja dengan merusak permeabilitas dinding sel bakteri dan menghambat motilitas bakteri (Darsana, 2012). Tanin bekerja dengan menyerang polipeptida dinding sel sehingga menyebabkan kerusakan dinding sel pada bakteri (Ji Ys, 2012). Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan hancurnya bakteri (Ji Ys, 2012).

Hasil tersebut juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Manu (2013) yang menyatakan bahwa ekstrak daun beluntas efektif untuk menghambat

pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Selain itu, menurut Harbone (2006), senyawa flavonoid, tanin dan saponin merupakan senyawa yang bersifat polar yang menyebabkan senyawa polar tersebut dapat menembus barrier membran sel bakteri dengan mudah. Sehingga dapat dikatakan bahwa gel ekstrak daun beluntas memiliki kemampuan daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

4.7 Analisis Statistika

Data hasil uji aktivitas antibakteri dari beberapa konsentrasi ekstrak daun beluntas dalam gel selanjutnya dilakukan analisis data statistik menggunakan program SPSS 16 dengan metode *One Way Anova* dan *Spearman*. Analisa data menggunakan *One Way Anova* dapat dilakukan setelah data melalui uji normalitas dan homogenitas, analisa ini digunakan untuk mengetahui bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan atau tidak antar kelompok perlakuan. Sedangkan Uji *Spearman* dilakukan untuk mengetahui kekuatan hubungan antar perlakuan terhadap daya antibakteri.

Tabel IV.14 Analisis hasil uji aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas

Analisa Data	Metode	Sig
Uji Normalitas	<i>Kolmogorov-smirnov</i>	0,208
Uji Homogenitas	<i>Levene statistic</i>	0,648
Analisa Hasil	<i>One-Way ANOVA</i>	0,000
Uji Korelasi	<i>Spearman</i>	0,974

4.7.1 Uji Normalitas Data

Dari hasil pengujian normalitas data daya hambat antibakteri dengan menggunakan Uji *Kolmogorov-smirnov* didapatkan hasil nilai $p = 0,208$ ($p > 0,05$). Data berdistribusi normal bila nilai $p > 0,05$. Sehingga dapat dikatakan bahwa data tersebut berdistribusi normal.

Tabel IV.15 Hasil uji normalitas data

		One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	
		Daya_hambat	Seri_konsentrasi
N		20	20
Normal Parameters ^a	Mean	12.30	3.00
	Std. Deviation	10.868	1.451
Most Extreme Differences	Absolute	.238	.155
	Positive	.238	.155
	Negative	-.148	-.155
Kolmogorov-Smirnov Z		1.064	.692
Asymp. Sig. (2-tailed)		.208	.725

4.7.2 Uji Homogenitas Data

Dari hasil pengujian homogenitas data daya hambat antibakteri dengan menggunakan Uji *Levene-statistic* didapatkan hasil nilai $p < 0,05$. Data memiliki varian yang homogen bila nilai $p > 0,05$. Sehingga dapat dikatakan bahwa data tersebut memiliki varian yang tidak homogen. Variasi sampel yang tidak homogen memerlukan transformasi jenis data dependen variabel ke bentuk logaritmik agar analisis parametrik dapat dilanjutkan (Sujarweni, 2012). Data daya hambat yang telah ditransformasi menghasilkan nilai $p = 0,648 (> 0,05)$ yang berarti data memiliki varian yang homogen.

Tabel IV.15 Hasil uji homogenitas data

Test of Homogeneity of Variances			
translog_daya			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.566	3	12	.648

4.7.3 Uji *One Way Anova*

Dari penilaian distribusi data untuk daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil bahwa data bersifat normal dan homogen. Sehingga pengujian uji beda untuk data daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan uji *one way anova*. Hasil

pengujian statistik dengan menggunakan *One Way Anova*, didapatkan nilai $p = 0,000$. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Tabel IV.16 Hasil uji *one Way Anova*

translog_daya					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.959	3	.320	295.101	.000
Within Groups	.013	12	.001		
Total	.972	15			

Tabel IV.17 Homogeneous

translog_daya					
Tukey HSD					
Subset for alpha = 0.05					
Seri_konsentrasi	N	1	2	3	4
gel ekstrak 5%	4	.8429			
gel ekstrak 10%	4		.9771		
gel ekstrak 15%	4			1.1300	
klindamisin	4				1.4977
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Tabel Post Hoc (Homogeneous) dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan oleh gel ekstrak daun beluntas dari berbagai konsentrasi sudah setara (tidak berbeda) atau belum (berbeda) dengan gel antibiotik pembanding yaitu klindamisin. Dari Tabel IV.17 menunjukkan bahwa semua gel ekstrak daun beluntas yang diujikan, sampai dengan dosis 15% belum setara dengan zona hambat gel klindamisin 1%, ditunjukkan dari tidak adanya satupun perlakuan yang ada dalam satu kolom yang bersama klindamisin. Hal ini dapat terjadi karena, untuk menyetarakan zona hambat dengan gel klindamisin dibutuhkan konsentrasi ekstrak daun beluntas dalam gel yang lebih

tinggi. Klindamisin merupakan senyawa sintetis yang dengan konsentrasi sedikit sudah dapat menghasilkan zona hambat yang besar dan gel ekstrak daun beluntas masih mengandung beberapa senyawa lain yang dapat mempengaruhi kemampuan agen antibakterinya.

Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun beluntas dalam sediaan gel yang memiliki zona hambat setara (tidak berbeda) dengan kontrol positif (Klindamisin), maka dapat dilakukan uji statistik regresi linear dengan rumus regresi sebagai berikut $Y = a + bX$, dimana Y = diameter zona hambat klindamisin dan X = konsentrasi gel ekstrak daun beluntas, sedangkan a dan b dapat diperoleh dari nilai hasil uji regresi linier (Sentana, 2010).

4.7.4 Uji Korelasi

Untuk kelompok data yang terdistribusi normal dilakukan analisis korelasi menggunakan *Spearman*. Hasil analisis uji *Spearman* yaitu nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara dosis ekstrak daun beluntas dalam sediaan gel terhadap efek antibakteri yang dihasilkan. Sedangkan nilai korelasi *Spearman* yang dihasilkan yaitu sebesar 0,974 yang berarti dosis ekstrak daun beluntas dalam gel berhubungan sangat kuat secara positif dengan daya antibakteri yang dihasilkan, dapat dikatakan jika semakin besar dosis ekstrak daun beluntas dalam gel maka semakin besar pula daya antibakteri yang dihasilkan.

Tabel IV.17 Hasil uji korelasi

Correlations				
		Seri_konsentrasi	translog_daya	
Spearman's rho	Seri_konsentrasi	Correlation Coefficient	1.000	.974**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	20	16
	translog_daya	Correlation Coefficient	.974**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	16	16

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

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

1. Gel ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* yang ditandai dengan adanya diameter zona hambat pada media, dimana semakin tinggi dosis semakin luas zona hambat.
2. Gel ekstrak daun beluntas memiliki daya hambat yang lebih kecil (berbeda) dibandingkan dengan gel klindamisin 1% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*
3. Gel ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.f*) memiliki stabilitas sediaan yang baik selama masa penyimpanan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas yang memiliki konsentrasi setara (tidak berbeda) dengan klindamisin.
2. Perlu dilakukan pengujian stabilitas gel ekstrak daun beluntas dengan masa penyimpanan yang lebih lama.
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode pengujian antibakteri yang lain.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bentuk sediaan yang berbeda untuk mengetahui keefektifan daun beluntas sebagai bahan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : ITB. Hal : 21, 26-27.
- Ahadi, M. R. 2003. Kandungan Tanin Terkondensasi dan Laju Dekomposisi pada Serasah Daun *Rhizospora mucronata* lamk pada Ekosistem Tambak Tumpangsari, Purwakarta, Jawa Barat. Skripsi. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L., *Bioscientiae*, Vol.1, 31-38.
- Amalia, F. 2012. Formulasi Gel Kurkuminoid Sebagai Anti Jerawat dan Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Purwokerto : Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Amatullah, L., Cahyaningrum, T.N., Fidyarningsih, A.N. 2017. Efektifitas Antioksi pada Formulasi Skin Lotion Ekstrak Mesocarp Buah Lontar (*Borassus Flabellifer*) terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Secara *In-Situ*. Akademi Farmasi Nasional Surakarta : *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. Vol.02, 25 – 34.
- Andriyanto, Bambang E., Puji Ardiningsih, dan Nora Idiawati. 2016. Jurnal : Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.). Pontianak : Universitas Tanjungpura.
- Ansel HC. 2008. Pengantar bentuk sediaan farmasi. Edisi Keempat. Jakarta : UI Press.
- Aponno, J. V., Yamlean, P. V. Y., Supriati, H. S. 2014. Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) Terhadap Penyembuhan Luka yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Kelinci (*Orytolagus cuniculus*). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*. Vol. 3, 279-286.
- Arsyad, M., Natsir. 2001. Kamus Kimia Arti dan Penjelasan Istilah. Jakarta : Gramedia.
- Atlas, R. M. 2010. *Handbook of Microbiological Media* 4th ed. Washington, D. C : CRC Press.
- Basri, S. 1996. Kamus Kimia. Jakarta : Rineka Cipta.
- BPOM RI. 2015. Klindamisin. Tersedia online di <http://pionas.pom.go.id/monografi/klindamisin> [diakses 29 Desember 2018].

- BPOM. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Jakarta : BPOM RI.
- Brooks G.F., J.S. Butel dan S.A. Morse. 2005. Medical Microbiology. New York : Mc Graw Hill.
- Brooks, G. F., J.S. Butel, Ornston, L.N. 2008, Jawetz, Melnick, Adelberg., Mikrobiologi Kedokteran (terjemahan). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen A.M. 2007. Jawetz, Melnick and Adelbergs, Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23, Alih Bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. pp. 163, 170, 225-31, 253.
- Brucler, J., Schwarz, S. and F. Untermann, F. 1994. *Staphylokken-infectionenund-enterotoxine*, band. II/1, In : Blobel, H. Und Schlier Marshal, M.S (1951) Laboratory guide in elementary microbiology. McGraw-Hill Book Company, Inc. Pp 86. er
- Cartensen, Jens T. dan Christopher Rhodes. 2000. Drug Stability Principles andPractices Third Edition. United State : CRC Press
- Chastelyna, A.J. 2016. Uji Aktivitas Sabun Cair Ekstrak Daun Jati (*Tectona grandis* L.f) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Semarang : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K., Mahatmi, H. 2012. Potensi binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escheria coli* secara *in vitro*. *Indonesia Medicus Vaterinus*, Vol. 1, 337-351.
- Departemen Kesehatan RI. 1986. Sediaan Galenik, 2 & 10. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2006. Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Vol.2, 124. Jakarta : Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.

- Dewi, Amalia K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderit Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. Yogyakarta : UGM. ISSN : 0126-0421
- Dirjen POM. 1995. Farmakope Indonesia jilid IV. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Djajadisastra, J. 2004. Seminar Setengah Hari HIKI: Cosmetic Stability. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Djauhariya, E dan Hermani. 2004. Tanaman Herba Berkhasiat Obat. Di dalam: Silaban, L. W., Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteria dari Kulit buah Sentul (*Sandoricum Koetjapa* (burn. f.) Merr) Terhadap beberapa bakteri secara invitro. Skripsi, Medan : Universitas Sumatra Utara.
- Ergina, Nuryanti, S. dan Puspitasari, I.D. 2014. Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*, Vol. 3, 165-72.
- Faradisa, Maria. 2008. Uji Efektivitas Anti Mikroba Senyawa Saponin dari Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Skripsi. Malang : UIN Malang.
- Fathurrachman, D.N. 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH (Skripsi). Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. 2007. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* (12th ed.). Mosby : St Louis.
- Gaballah, A. & Ghazal, A. 2018. Clindamycin Resistance among *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates in Alexandria. *International Journal of Advance Microbiology and Health Research*, Vol. 2, 24-35
- Ghazali, I. 2011. Aplikasi Analisa Multivariate dengan Program SPSS 19. Semarang : BP Universitas Diponegoro.
- Goldman E and LH Green. 2009. Practical Handbook of Microbiology Second Edition. Amerika Serikat : Penerbit CRC
- Guenther, E. 2006. Minyak Atsiri Jilid I. Diterjemahkan oleh S. ketaren. UI Press. Hahlbrock, K. dan Grisebach, H. 1975. Dalam '*The Flavonoids*' (J. B. Harbone, T. J. Mabry dan H. Mabry, pny.). London : Chapman and Hall.

- Hahlbrock, K. dan Grisebach, H. 1975. Dalam 'The Flavonoids' (J. B. Harbone, T. J. Mabry dan H. Mabry, pny.). London : Chapman and Hall.
- HAM Mulyono. 2006. Kamus Kimia. Jakarta : Bumi Aksara.
- Handa, Khanuja, Longo & rakesh. 2008. *Extraction Technologies for Medical and Aromatic Plants*. Italy: International Centre for Science and High Technology. Vol. 22, 81-93.
- Harborne, J.B. 2006. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi ke-2. Bandung : ITB.
- Hartono, Teguh. 2009. Saponin. <http://www.farmasi.asa/saponin>
- Herawati, D, Nuraida, L. , Sumarto. 2012. Cara Produksi Simplisia yang Baik, 10-11. Bogor : Seafast Center IPB.
- Hernani, Y. M., Mufrod., Sugiyono. 2012. Formulasi Salep Ekstrak Air Tokek (Gekko gekko L.) Untuk Penyembuhan Luka, Majalah Farmasetik, 8 (1), 120-126.
- Illing, I., Safitri, W., Erfiana. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika hal 66-84. P-ISSN: 2087-889. E-ISSN: 2503-4863.*
- Insanu, M., Ruslan, K., Fidrianny, I. & Wijaya, S. 2011. Isolasi Flavonoid dari Daun Durian (Durio Zibethinus Murr., Bombacaceae). *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol.34, 6-10.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2007. *Mikrobiologi Kedokteran. Jawetz, Melnick, & Adelberg. Ed.23. Translation of Jawetz, Melnick, & Adelberg's. Medical Microbiology. 23th Ed.* Alih Bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta : EGC.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta : Salemba Medika. Hal: 233, 235.
- Ji YS., Lestari, N.D., Rinanda, T. 2012. Uji Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, Vol.12, 31-36
- Jones, D. 2008. *Pharmaceutics Dosage Form and Design*. London: Pharmaceutical Press.
- Joshita. 2008. Obat-obat Untuk Paramedis. Jakarta:UI Press.

- Kadji, M.H., M.R.J. Runtuwene., dan G. Citraningtyas. 2013. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa*DC). Manado: FMIPAUNSRAT.
- Kaur, L.P. and Guleri, T.K. 2013. Topical Gel: A Recent Approach for Novel Drug delivery, *J.Biopharm.* Vol. 3, 1-5.
- Kristanti, A. N., N S. Aminah., M. Tanjung B. Kurniadi. 2008. Buku ajar fitokimia jurusan kimia laboratorium kimia organik. Surabaya : FMIPA Universitas Airlangga.
- Kurniawati M. 2015. Kajian Ekstrak Tanaman Johar (*Cassia siamea L*) sebagai Bioindikator Asam Basa.(*Skripsi*). Palu : Jurusan Kimia FMIPA UNTAD.
- Lachman, L., Lieberman H. A., Kanig, J. L. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*, diterjemahkan oleh Siti Suyatmi, edisi III, 1091-1096. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta : PT Raja Grafindo Persada.
- Loden, Marie. 2009. Handbook of Cosmetics Science and Technology, 355-356, New York : Marcel Dekker Inc.
- Makiyah, S., Soedjono A., Marsetyawan. 2005. Intensitas Fluoresensi Neuron-Neuron Dopaminergik di Area Ventralis Tegmenti Setelah Pemberian Alkohol Secara Kronis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*). Mutiara Medikavolume 5 nomor 1. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Manu, R. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas(*Pluchea indica*.) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, Dan *Pseudomonas aeruginosa*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. Vol.2,1-10.
- Mappa, T., edy, HJ. & Kojong, N. 2013. Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucida* (L) H.B.K) Dan Uji Aefektifitasnya Teradap Luka Bakar pada Kelinci. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 2, 499-55.
- Markham KR. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Bandung : Penerbit ITB. Hal 58-60.

- Martina, Maria, N. 2012. Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica*.L.) Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* [Tesis]. Denpasar: Program Pascasarjana, Universitas UDAYANA.
- Masters, S. 2002. Etanol. dalam Katzung. Farmakologi Dasar dan Klinik edisi 9. Jakarta: Salemba Medika.
- Maulida, D. dan Zulkarnaen, N. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran n-Heksana, Aseton dan Etanol, Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro
- Mohammad, Nasir. 2010. Metode Penelitian. Jakarta: Erlangga.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, Vol.7, 361-367.
- Mulyani, Y. W. T., Dadan H., Isbiyantoro, dan Yeny F. 2017. Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*(L) Merr) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Lampung : *Jurnal Farmasi*. Vol.6,46-54.
- Naibaho, H. Olivia., Yamlean, Y. V. Paulina., dan Wiyono, W. 2013. Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Pada Kulit Punggung Kelinci Yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol.2, 27-33.
- Naoumkina, M., Modolo, L.V., Huhman, D.V., Urbanzyk, W.E., Tang, Y. 2010. Genomic and coexpression analyses predict multiple gene involved triterpene saponin biosynthesis. *Medicago truncatula Plant Cell*, 22:3:850-66.
- Ningsih. D.R., Zufahair, Dwi Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri, *Molekul*. Vol.11,101-111
- Ningtyas, T. E. 2012. Inhibisi Ekstrak Daun Beluntas *Pluchea indica* (L.) Less Terhadap Indeks Adhesi *Streptococcus mutans* Pada Neutrofil. Skripsi (Fakultas Kedokteran Gigi). Jember : Universitas Jember.
- Nurhalimah N. 2015. Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas pada Mencit *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3, 1083-1094.
- Panjaitan EN, A. Saragih, dan D. Purba. 2012. Formulasi gel dari ekstrak rimpang jahe merah (*Zingiberofficinale*Roscoe). *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*. Vol.1: 9-20.


- Permenkes R.I. No. 007/Menkes/VII/2012. Tentang Registrasi Obat Tradisional. Jakarta: Depkes RI.
- Prajitno A. 2007. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Protein* Vol.2
- Prasetyo dan Entang. 2013. Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat – Obatan (Bahan Simplisia). Bengkulu : Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Prastianto, B.A. 2016. Optimasi Gelling Agent Carbopol 940 dan Humektan Sorbitol dalam Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Yogyakarta: Erlangga.
- Pratiwi, Sylvia. T. 2009. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta. Penerbit Erlangga,
- Pujowati, P. 2006. Pengenalan ragam tanaman lanskap *asteraceae* (*Compositae*). Laporan Praktikum tanaman dan Sistem Ruang terbuka Hijau. Bandung : Sekolah Pasca Sarjana Departemen Arsitektir Lanskap Fakultas Pertanian IPB.
- Pulio K.A.B., Christi M., dan Wowor P.M. 2012. Uji Efek Antipiretik Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan. Manado: Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi.
- Rahmadani F. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. Jakarta: Jurusan Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah
- Rahmawati, D., Sukmawati, A., dan Indrayudha, P. 2010. Formulasi Krim Minyak Atsiri Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* val & zijp): Uji Sifat Fisik dan Daya Antijamur terhadap *Candida albicans* secara *In Vitro*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Majalah Obat Tradisional*, 15(2), 56 – 63.
- Rahmi, A.H. et al. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) Terhadap Propionibacterium Acnes Penyebab Jerawat [Skripsi], Bandung, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati.

- Rais, R.I., 2014. Ekstraksi Andrografolid Dari *Andrographis paniculata* (Burm.f) Ness Menggunakan Ekstraktor Soxhlet. Jurnal Pharmacia Universitas Ahmad Dahlan, Vol 4
- Risnasari, I. 2002. Tanin. Digital Library Universitas Sumatera Utara.[terhubung berkala]. <http://library.usu.ac.id/download/fp/Hutan-Iwan6.pdf> [2 Okt 2012].
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi keempat. Bandung : Penerbit ITB.
- Rowe, Raymond C. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients* Sixth Edition. London : Pharmaceutical Press.
- Sa'adah, I. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). (Skripsi). Malang: Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Saifudin A, Rahayu V, Teruna HY. 2011. Standardisasi bahan obat bahan alam. Yogyakarta: Graha Ilmu
- Santana, C.M., Z.S. Ferrera, M.E.T. Padron, and J.J.S. Rodriquez. 2009. Methodologies for The Extraction of Phenolic Compounds from Enviromental Samples : New Approaches. *Molecules*. Vol. 14. Hal. 298-320.
- Sapri, Fitriani, A., Narulita, R. 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Maserasi. *Akademi Farmasi Samarinda. Prosiding Seminar Nasional Kimia 2014 HKI-Kaltim ISBN: 978-602-19421-0-9*
- Schefflan, L., dan morris, B. J. 1983. *The handbook of Solvents*. D. Van Nostrand Comp. Inc. New York.
- Seidel V. 2006. Initial and ulkextraction. In: Sarker SD, Latif Z & Gray Al, editors. *Natural product Isolation*, 2nd ed. Totowa Ney Jersey. Humana Press Inc.
- Sentana, O.M, Haryati, S., Mariyah, Y. 2011. Efek Anthelmintik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocinum americanum*) terhadap kematian *Ascaris suum* secara *in vitro*. *Biofarmasi*. Vol. 9, No. 1, Hal. 1-6. ISSN: 1693-2242
- Sharp, S. E. and Cidy, S. (2006) Comparison of mannitol salt Agar and blood agar plates for identification and susceptibility testing of *Staphylococcus aureus* in specimens from cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol.* 44(12):4545-4546

- Sholih, M. G., Ahmad M., dan Siti S. 2015. Rasionalitas Penggunaan Antibiotik di Salah Satu Rumah Sakit Umum di Bandung Tahun 2010. Bandung : Jurnal Farmasi Klinik Indonesia. Vol. 4, 63-70.
- Sibarani, Venty R., Pensi M. W., dan Henoch A. 2013 Uji Efek Analgesik Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.) Pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, **Vol. 1(1)**.
- Sugihartini, N., Fujiastuti, T., 2015. Sifat Fisik dan Daya Iritasi Gel Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* L) dengan Variasi Jenis Gelling Agent. *Pharmacy*. 12. Hal, 11-20.
- Sugiyono. 2013. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D. Bandung: Alfabeta. Hal: 60-64.
- Syamsuhidayat dan Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia(I). Jakarta: Departemen Kesehatan Indonesia.
- Syamsuni, H.A. 2006. Ilmu Resep. Penerbit Buku Kedokteran EGC. pp. 249-50.
- Tambayong, J. 2009. Mikrobiologi untuk Keperawatan. Jakarta : Widya Medika.
- Tiwari, P. 2011. *Phytochemical Screening dan Extraction; A Review. Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), pp. 98-106
- Vadas, E.B. 2010. Stability of Pharmaceutical Products. *The Science and Practice of Pharmacy* Vol.1 : 988-989
- van Steenis, C. G. G. J. 2008. Flora Untuk Sekolah di Indonesia. Jakarta: PT Pradnya Paramita.
- Voight, R., 1971. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Edisi V, 558-564, 570. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Waluyo, L. 2004. Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi. Malang: UMM Press, Hal : 130-131.
- Widyawati, P.S, Budianta T.D, Kusuma F.A dan Wijaya. 2014. Difference of Solvent Polarity To Phytochemical Content and Antioxidant Activity of *Pluchea indica* Less Leaves Extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research (IJJPR)*. Vol 6(4): 850-855.
- Winarno, F. G. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: Gramedia.

- Wong, E. 1976. *Chemistry and Biochemistry of Plants Pigments* (T. W. Goodwin, pny.) halaman 464. Academic Press, London.
- World Health Organization (WHO). 2012. *Angka Kematian Bayi*. Amerika: WHO.
- Wulandari V., Dirayah R.H., Sartini, dan Nur H., 2012, Pengujian Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Daun Beluntas *Pluchea indica* Less. Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Yenrina dan Sayuti. 2015. Antioksidan, Alami dan Sintetik. Padang: Andalas University Press. Hal 7-15.
- Yulianhar, P. G. 2009. Formulasi Gel Obat Jerawat Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, S.) dan Uji Daya Antibakteri (*Propianibacterium acne*) Secacra In Vitro. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Lampiran 1. Hasil Determinasi *Pluchea indica*

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/368A/102.7/2018
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Beluntas

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : RABI'A ADHAWIYAH
NIM : 1513206015
Fakultas : S-1 FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman beluntas

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermayophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Asterales
Suku	: Asteraceae
Marga	: Pluchea
Jenis	: <i>Pluchea indica</i> (L.) Less
Sinonim	: <i>Baccharis indica</i> L.
Nama Daerah	: Beluntas (Indonesia), luntas (Jawa), baluntas (Madura), baluntas, baruntas (Sunda), lamutasa (Makasar), beluntas (Sumatra), lenaboui (Timor), luan yi (China).
Kunci Determinasi	: 1b -2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16b-286b-288b-289b-1a-2b-3b-4b-5a-6b-8b-9b-10a

2. Morfologi : Perdu kecil, tumbuh tegak, tinggi bisa mencapai 2 m. Batang berambut halus. Daun bulat telur, hijau muda, panjang 2-9 cm, ujung lancip, letak berseling, berbau khas. Bunga majemuk, bentuk malai, keluar dari ketiak daun, bercabang-cabang, warna putih kekuningan. Buah kecil, keras, warna coklat. Biji coklat keputih-putihan. Perbanyak dengan biji atau stek.

3. Nama Simplisia : *Pluchea indicae* Folium/ Daun Beluntas.


4. Kandungan : Alkaloid, minyak atsiri, saponin, flavanoid, dan polifenol.


5. Penggunaan : Penelitian

6. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

November 2018
Kepala UPT MATERIA MEDICA BATU

Dr. Husni Kurni, Drs., Apt., M.Kes.
DINAS KESEHATAN 102 199103 1 003



Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

1. *Pluchea indica*



Daun *Pluchea indica* L.



Tumbuhan *Pluchea indica* L.

2. Pembuatan Simplisia



Pengambilan *Pluchea folium*



Pengeringan



Sortasi Kering



Pengcilan ukuran partikel



Simplisia *Pluchea folium*



Pengayakan serbuk simplisia







Soxhletasi *Pluchea folium*





Ekstrak kering *Pluchea folium*

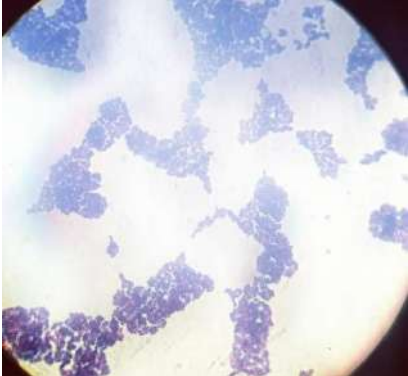



3. Skrining Fitokimia

	
<p>Uji Bebas Etanol</p>	<p>Uji Flavonoid</p>
	
<p>Uji Tanin</p>	<p>Uji Saponin</p>



4. Pembuatan Suspensi Bakteri

	
<p>0,5 Mc Farland</p>	<p>Spektrofotometri suspensi <i>Staphylococcus aureus</i></p>

5. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

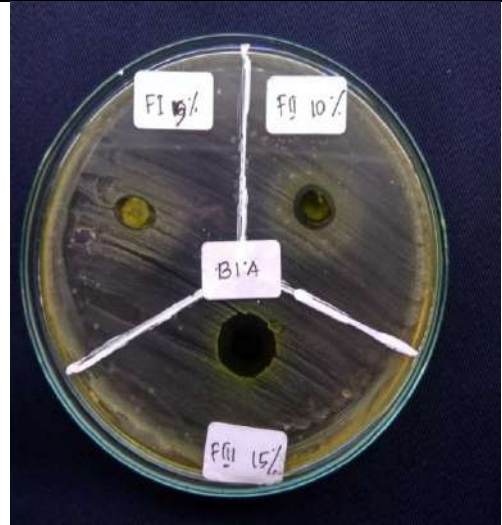
	
<p>Pewarnaan Bakteri</p>	<p>Uji Koagulase</p>
	
<p>Uji Katalase</p>	<p>Media MSA</p>

6. Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica*) terhadap *Staphylococcus aureus*

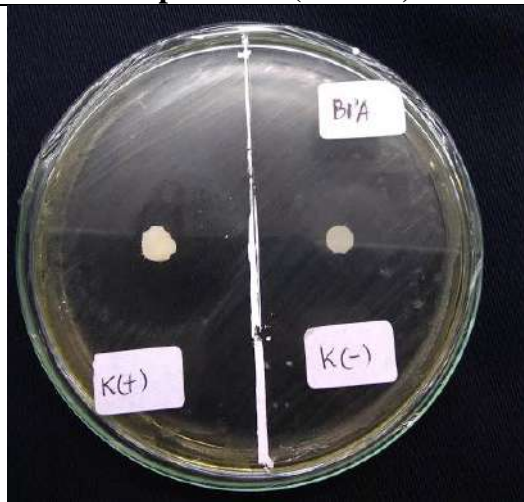
	
<p>Replikasi I (kontrol)</p>	<p>Replikasi I (Gel Ekstrak)</p>



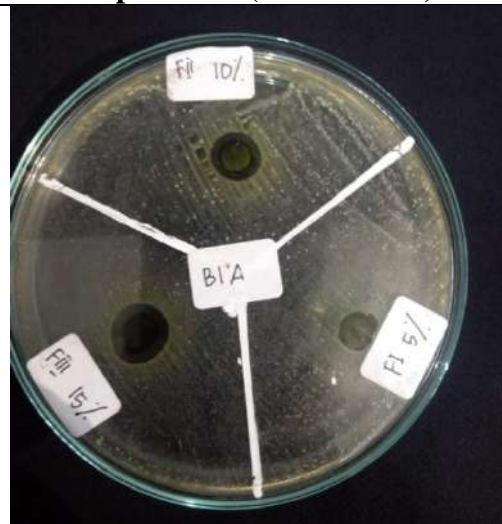
Replikasi II (kontrol)



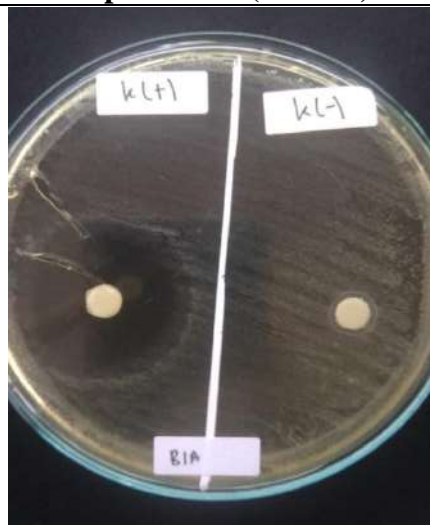
Replikasi II (Gel Ekstrak)



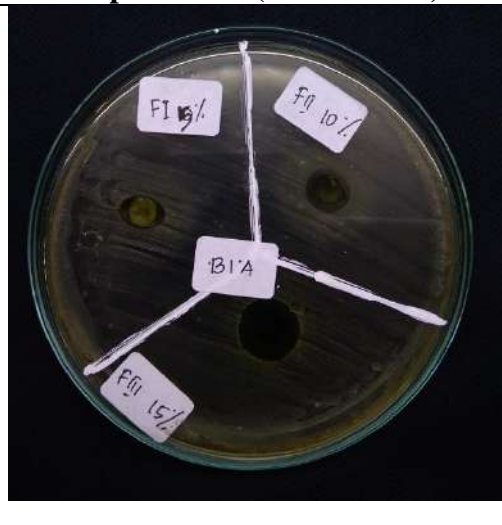
Replikasi III (kontrol)



Replikasi III (Gel Ekstrak)






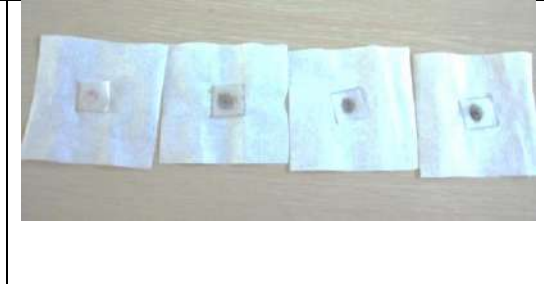


Replikasi IV (kontrol)

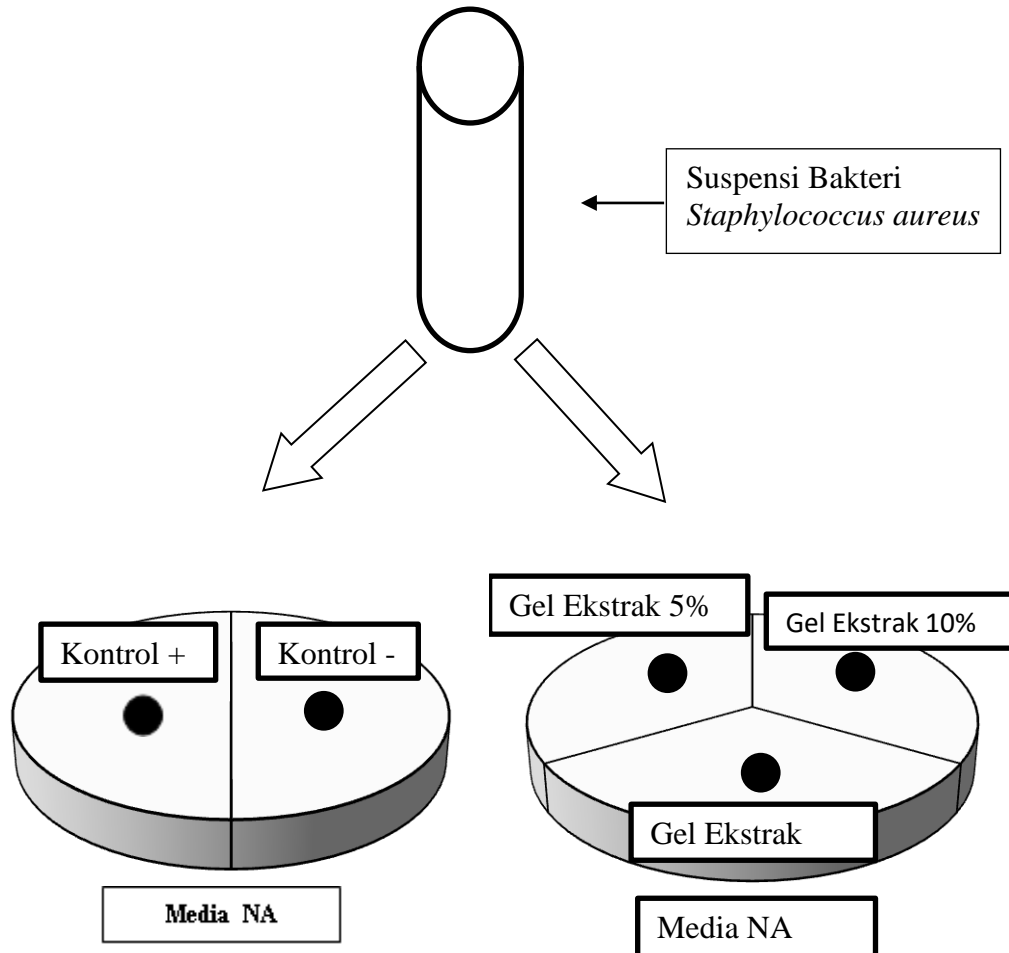


Replikasi IV (Gel Ekstrak)

7. Evaluasi Gel Ekstrak *Pluchea indica*

	
<p>Uji Organoleptis</p>	<p>Uji Homogenitas</p>
	
<p>Uji pH</p>	<p>Uji Daya Lekat</p>
	
<p>Uji Daya Sebar</p>	<p>Uji Daya Proteksi</p>

Lampiran 3. Kerangka Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram



Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,08 \text{ g}\end{aligned}$$

2. Pembuatan Media *Manitol Salt Agar* (MSA)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{108}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1,08 \text{ g}\end{aligned}$$

3. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Hasil

1. Penetapan Kadar Air Simplisia Daun *Pluchea indica* L.f

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.f)	10,012 g	9,1877 g	8,24%

$$\text{Rumus \% Kadar Air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air (\%)} &= \frac{10,012 \text{ g} - 9,1877 \text{ g}}{10,012 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 8,24 \% \end{aligned}$$

2. Susut Pengeringan Daun *Pluchea indica* L.f

Sampel	Bobot Basah	Bobot Kering	Hasil
Daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.f)	5 kg	1,05 kg	21%

$$\text{Rumus \% Susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Susut pengeringan (\%)} &= \frac{1,05 \text{ kg}}{5 \text{ kg}} \times 100\% \\ &= 21\% \end{aligned}$$

3. Rendemen Daun *Pluchea indica* L.f.

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Hasil
Daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.f)	500 g	8,890 g	1,778 %

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

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{8,890 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 1,778 \% \end{aligned}$$

Lampiran 6. Formulasi dan Perhitungan Bahan Sediaan Gel

1. Gel Ekstrak Daun Beluntas 5%

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak 5\%} &= \frac{5}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 1,25 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{CMC Na} &= \frac{5}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 1,25 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Gliserin} &= \frac{10}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 2,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Propilenglikol} &= \frac{5}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 1,25 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Aquadestilata} &= 25 - (1,25+1,25+5+1,25) \\ &= 18,75 \text{ mL}\end{aligned}$$

2. Gel Ekstrak Daun Beluntas 10%

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak 10\%} &= \frac{10}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 2,5 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{CMC Na} &= \frac{5}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 1,25 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Gliserin} &= \frac{10}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 2,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Propilenglikol} &= \frac{5}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 1,25 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Aquadestilata} &= 25 - (2,5+1,25+5+1,25) \\ &= 17,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

3. Gel Ekstrak Daun Beluntas 15%

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak 15\%} &= \frac{15}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 3,75 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{CMC Na} &= \frac{5}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 1,25 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Gliserin} &= \frac{10}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 2,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Propilenglikol} &= \frac{5}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 1,25 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Aquadestilata} &= 25 - (3,75 + 1,25 + 2,5 + 1,25) \\ &= 16,25 \text{ mL}\end{aligned}$$

Lampiran 7. Hasil Orientasi Gel Ekstrak *Pluchea indica*

1. Hasil Uji Antibakteri Gel Ekstrak *Pluchea indica* terhadap *Staphylococcus aureus*

No.	Sampel	Diameter zona hambat (mm)				Rata-rata
		I	II	III	IV	
1	Gel ekstrak daun beluntas 5%	6	7	7	8	7
2	Gel ekstrak daun beluntas 10%	9	10	9	10	9,5
3	Gel ekstrak daun beluntas 15%	14	13	13	14	13,5
4	Kontrol positif	32	34	30	30	31,25
5	Kontrol negatif	-	-	-	-	-

2. Evaluasi Gel Ekstrak *Pluchea indica*

a. Ekstrak 5%

Parameter	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Organoleptik				
Bau	Khas luntas	Khas luntas	Khas luntas	Khas (Stiani <i>et al</i> , 2016)
Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid (Astuti, 2015)
Warna	Coklat kehijauan	Coklat kehijauan	Coklat kehijauan	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen (Hernani dkk., 2012)
pH	5	5	5	4,5 – 6,5 (Naibaho dkk., 2013)
Daya sebar	4,8 cm	4,7 cm	4,7 cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Daya lekat	98,88	110,12	118,08	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Daya proteksi	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak terbentuk noda merah (Erawati <i>et al</i> , 2016)

b. Ekstrak 10%

Parameter	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Organoleptik				
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas (Stiani <i>et al</i> , 2016)
Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid (Astuti, 2015)
Warna	Hitam kehijauan	Hitam kehijauan	Hitam kehijauan	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen (Hernani dkk., 2012)
pH	5	5	5	4,5 – 6,5 (Naibaho dkk., 2013)
Daya sebar	4,3cm	4,3 cm	4,2 cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Daya lekat	149,25	164,87	177,88	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Daya proteksi	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak terbentuk noda merah (Erawati <i>et al</i> , 2016)

c. Ekstrak 15%

Parameter	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Organoleptik				
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas (Stiani <i>et al</i> , 2016)
Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid (Astuti, 2015)
Warna	Hitam kehijauan	Hitam kehijauan	Hitam kehijauan	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen (Hernani dkk., 2012)
pH	5	5	5	4,5 – 6,5 (Naibaho dkk., 2013)
Daya sebar	3,8 cm	3,5 cm	3,4 cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Daya lekat	186,07	198,65	208,54	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Daya proteksi	Tidak noda merah	Noda merah	Tidak noda merah	Tidak terbentuk noda merah (Erawati <i>et al</i> , 2016)

d. Gel tanpa ekstrak

Parameter	Hari ke-			Standart
	1	14	28	
Organoleptik				
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas (Stiani <i>et al</i> , 2016)
Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid (Astuti, 2015)
Warna	Bening	Bening	Bening putih	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen (Hernani dkk., 2012)
pH	5	5	5	4,5 – 6,5 (Naibaho dkk., 2013)
Daya sebar	5,8 cm	5,3 cm	5,2 cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Daya lekat	14,42 detik	42,4 detik	45,6 detik	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Daya proteksi	Tidak terbentuk noda merah	Tidak terbentuk noda merah	Tidak noda merah	Tidak terbentuk noda merah (Erawati <i>et al</i> , 2016)

Lampiran 8. Hasil Analisis Data

1. Tabel Input Data Uji Aktivitas Antibakteri

	Seri_konsentrasi	Daya_hambat	translog_daya	var	var	var
1	1	6	0.78			
2	1	7	0.85			
3	1	7	0.85			
4	1	8	0.90			
5	2	9	0.95			
6	2	10	1.00			
7	2	9	0.95			
8	2	10	1.00			
9	3	14	1.15			
10	3	13	1.11			
11	3	13	1.11			
12	3	14	1.15			
13	4	32	1.51			
14	4	34	1.53			
15	4	30	1.48			
16	4	30	1.48			
17	5	0	.			
18	5	0	.			
19	5	0	.			
20	5	0	.			
21						
22						
23						
24						

2. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Daya_hambat	Seri_konsentrasi
N	20	20
Normal Parameters ^a	Mean	12.30
	Std. Deviation	10.868
Most Extreme Differences	Absolute	.238
	Positive	.238
	Negative	-.148
Kolmogorov-Smirnov Z	1.064	.692
Asymp. Sig. (2-tailed)	.208	.725
a. Test distribution is Normal.		

3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

translog_daya

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.566	3	12	.648

4. One Way Anova

ANOVA

translog_daya	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.959	3	.320	295.101	.000
Within Groups	.013	12	.001		
Total	.972	15			

Multiple Comparisons

translog_daya

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Seri_konsentrasi 5%	Seri_konsentrasi 10%	-.13426*	.02327	.000	-.2034	-.0652
	Seri_konsentrasi 15%	-.28718*	.02327	.000	-.3563	-.2181
	klindamisin	-.65486*	.02327	.000	-.7240	-.5858
Seri_konsentrasi 10%	Seri_konsentrasi 5%	.13426*	.02327	.000	.0652	.2034
	Seri_konsentrasi 15%	-.15291*	.02327	.000	-.2220	-.0838

	klindamisin		-.52060*	.02327	.000	-.5897	-.4515
gel ekstrak 15%	gel ekstrak 5%		.28718*	.02327	.000	.2181	.3563
	gel ekstrak 10%		.15291*	.02327	.000	.0838	.2220
	klindamisin		-.36768*	.02327	.000	-.4368	-.2986
klindamisin	gel ekstrak 5%		.65486*	.02327	.000	.5858	.7240
	gel ekstrak 10%		.52060*	.02327	.000	.4515	.5897
	gel ekstrak 15%		.36768*	.02327	.000	.2986	.4368

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

translog_daya

Tukey HSD

Seri_konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
gel ekstrak 5%	4	.8429			
gel ekstrak 10%	4		.9771		
gel ekstrak 15%	4			1.1300	
klindamisin	4				1.4977
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					

5. Uji Korelasi

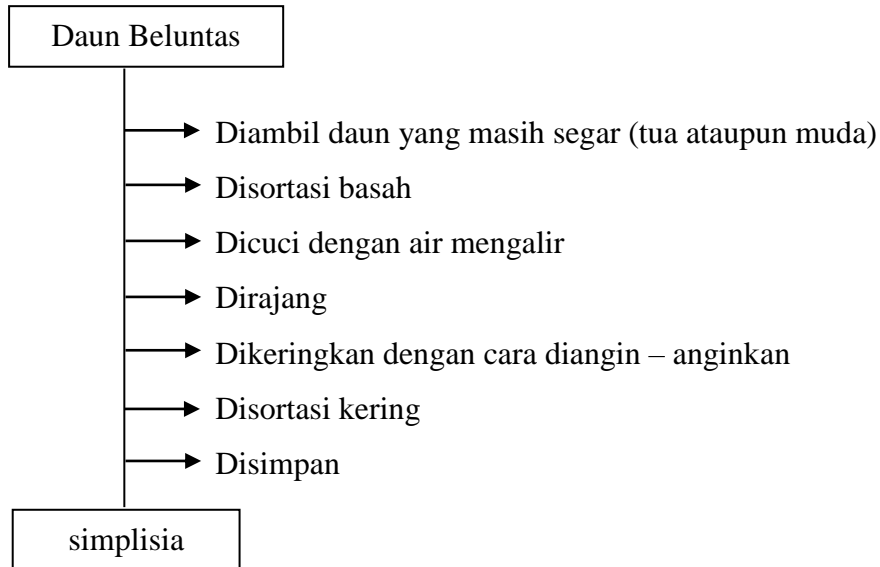
Correlations

			Seri_konsent rasi	translog_day a
Spearman's rho	Seri_konsentras i	Correlation Coefficient	1.000	.974**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	20	16
	translog_daya	Correlation Coefficient	.974**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	16	16

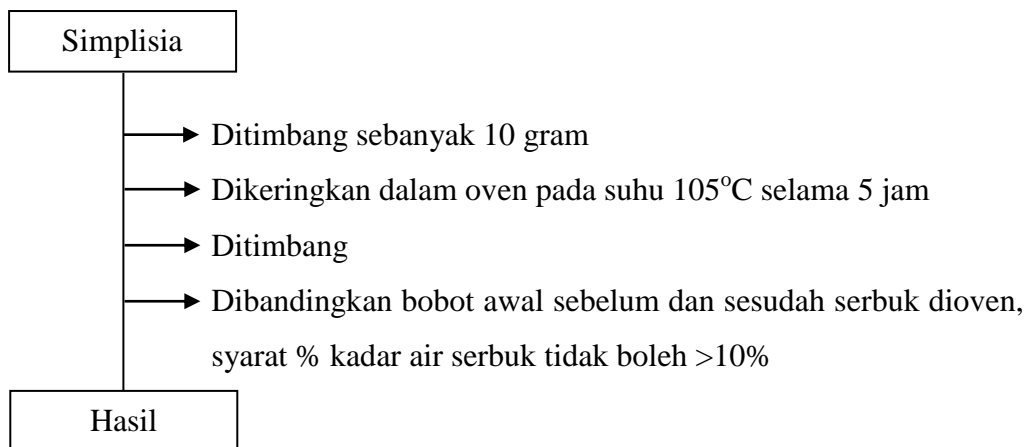
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 9. Alur Prosedur Kerja

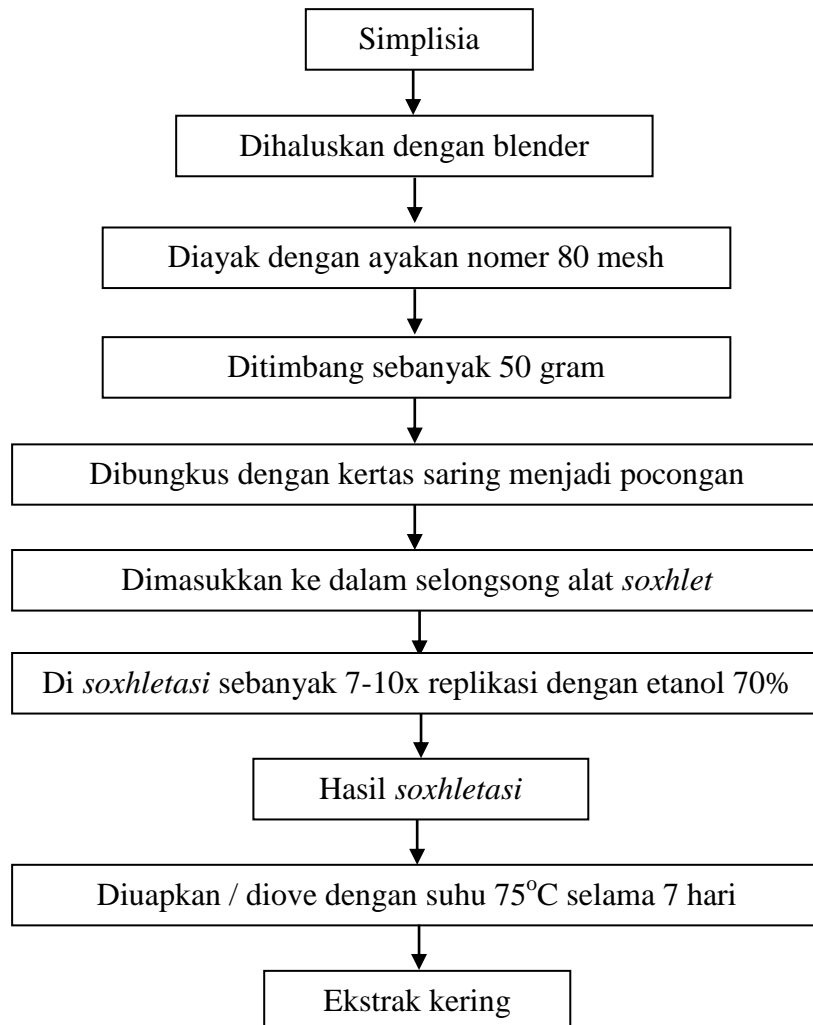
1. Pembuatan Simplisia



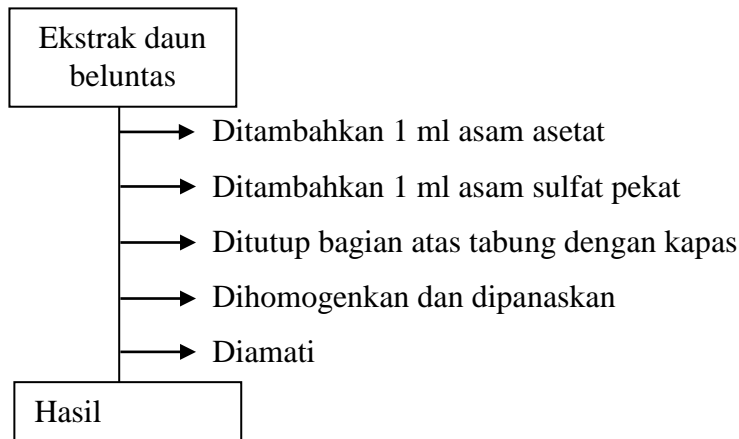
2. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia



3. Pembuatan Ekstrak dengan *soxhletasi*



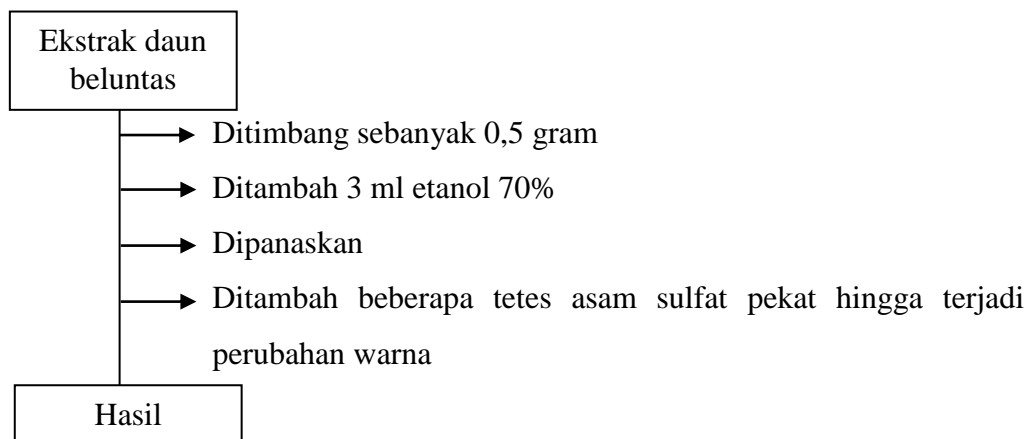
4. Uji Kadar Etanol Ekstrak



Keterangan: jika tidak tercium bau ester maka positif bebas etanol

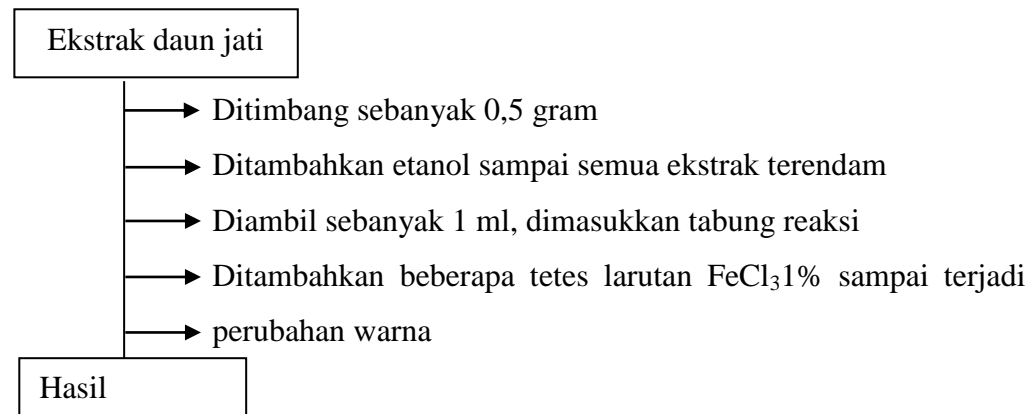
5. Skrining Fitokimia

a. Flavonoid



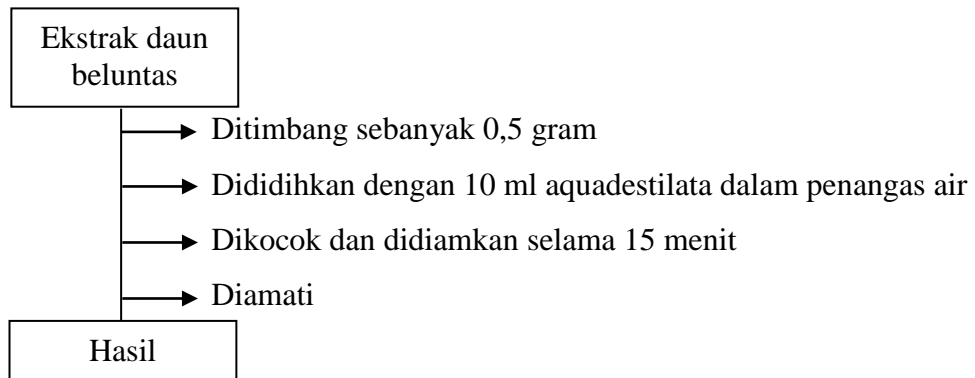
Ket: adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga.

b. Tanin



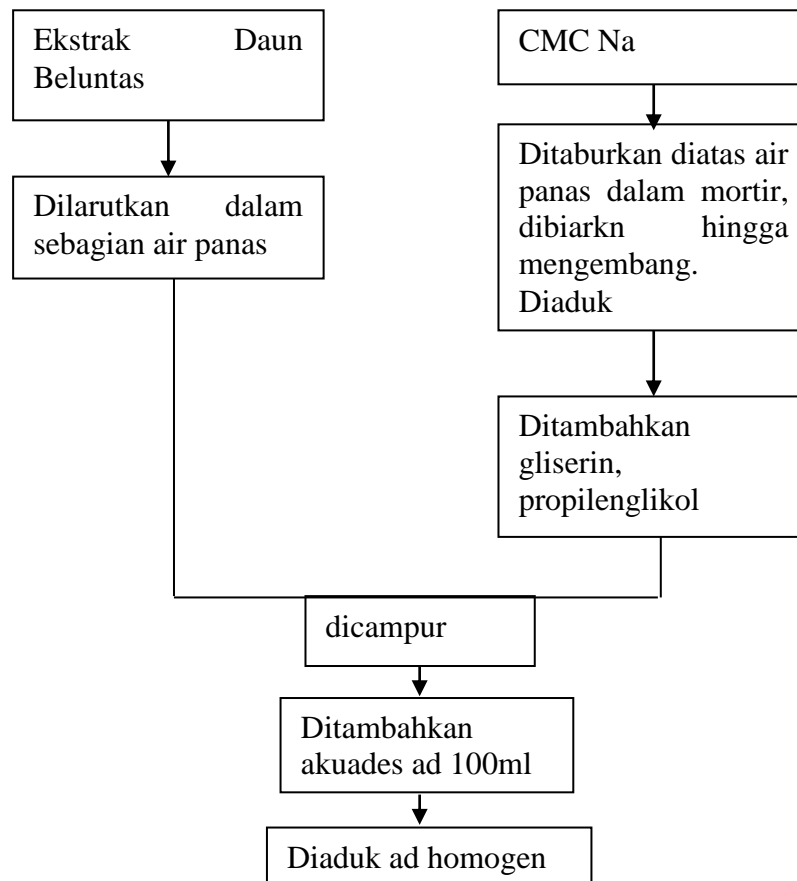
Ket: adanya tanin ditunjukkan terbentuknya warna hitam kebiruan / hijau.

c. Saponin

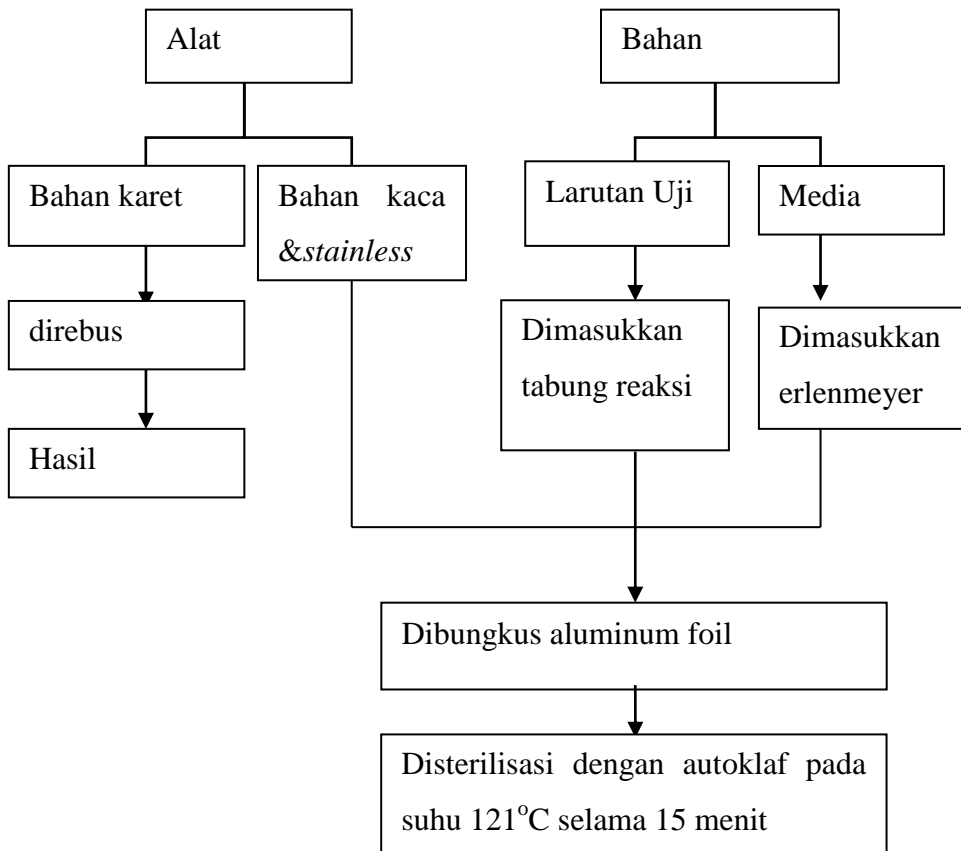


Ket: adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil

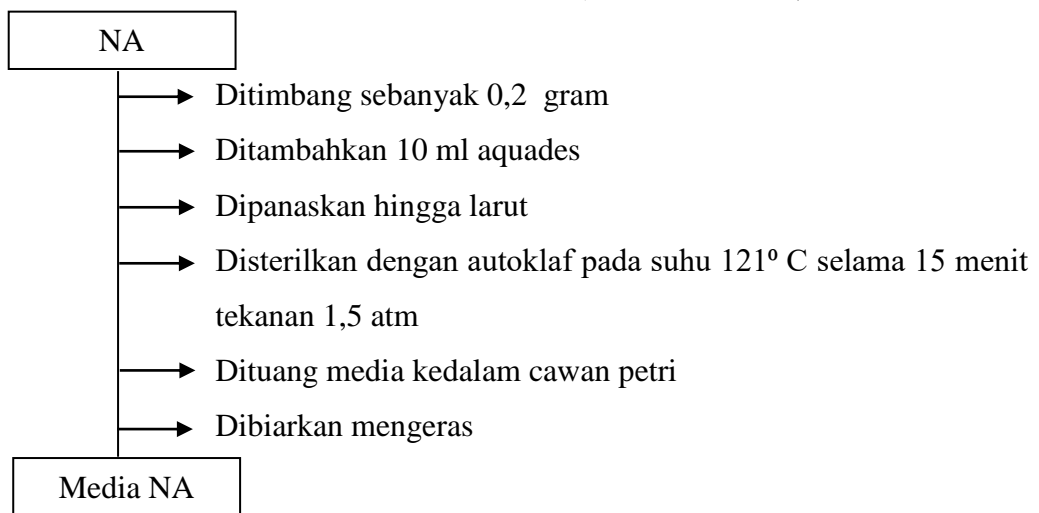
6. Pembuatan Gel



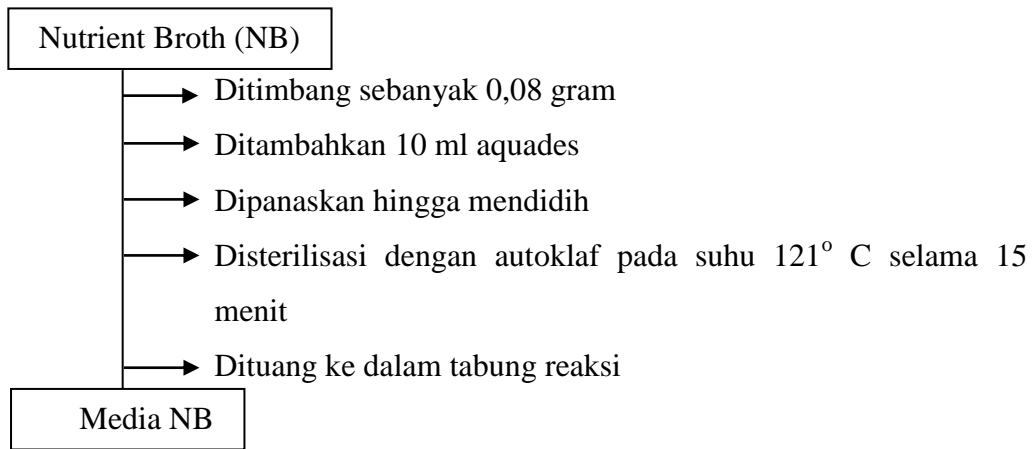
7. Sterilisasi Alat dan Bahan (Maradona, 2013)



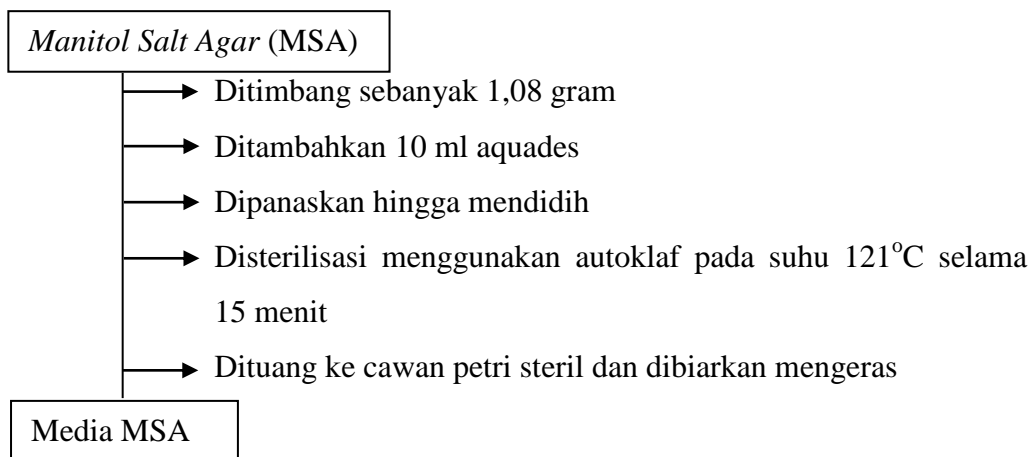
8. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri (Maradona, 2013)



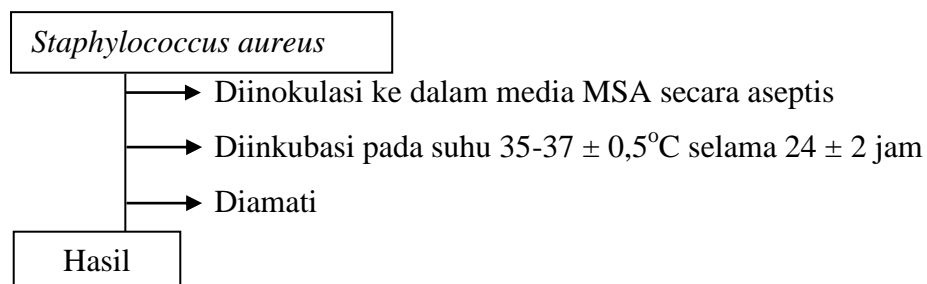
9. Pembuatan Media NB



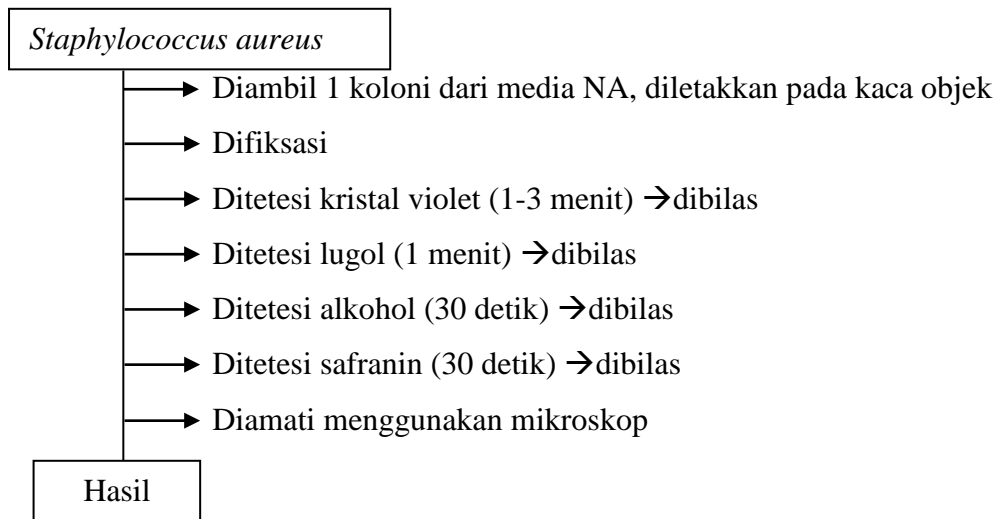
10. Pembuatan Media Identifikasi *Staphylococcus aureus*



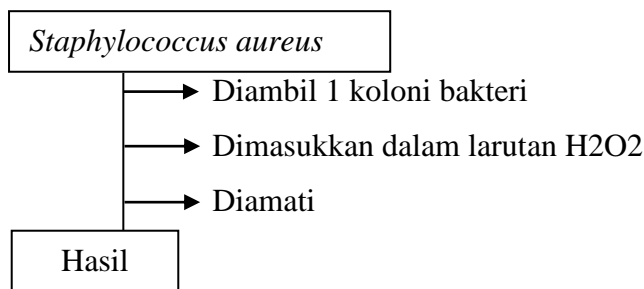
11. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus* (Media MSA)



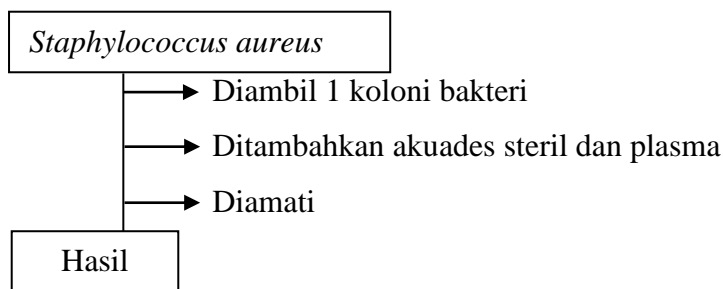
12. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus* (Pewarnaan Bakteri)



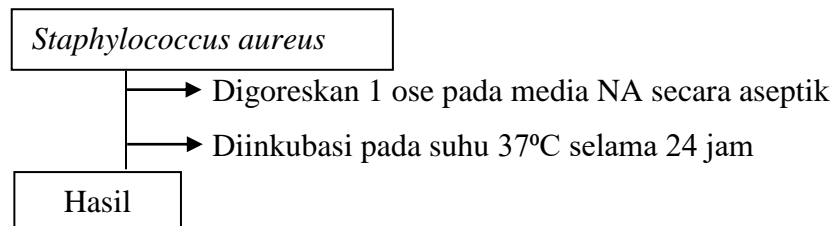
13. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus* (Uji Koagulase)



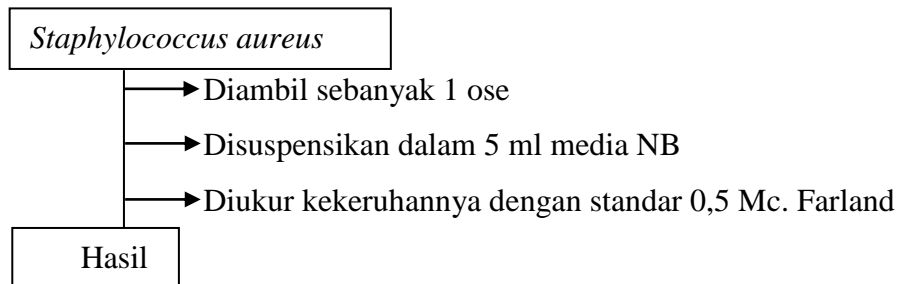
14. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus* (Uji Katalase)



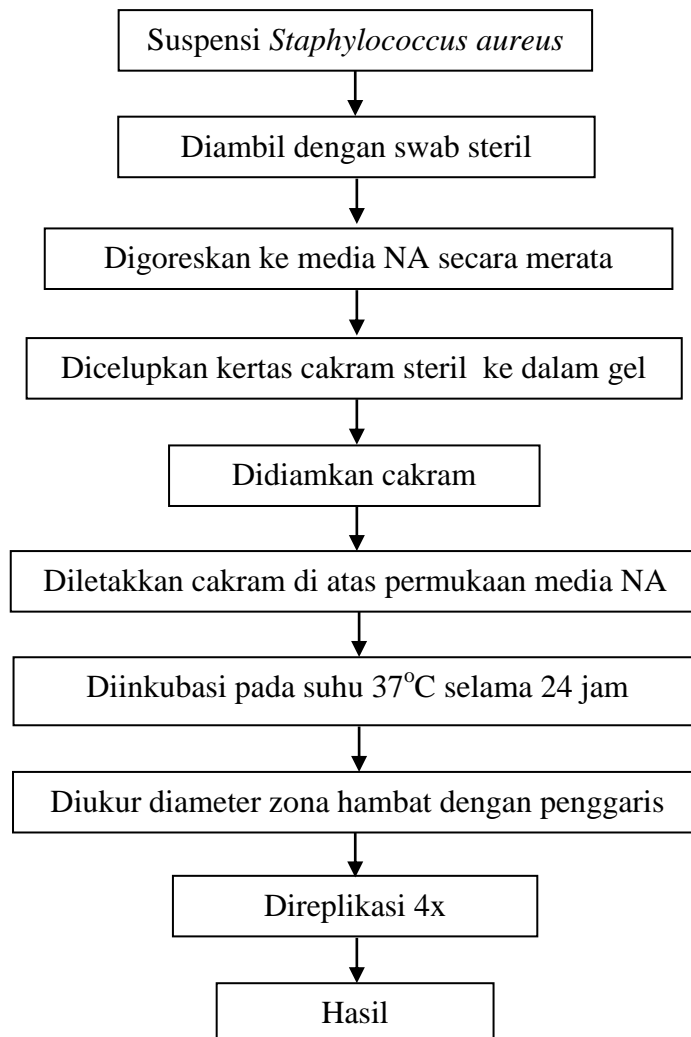
15. Peremajaan Bakteri Uji



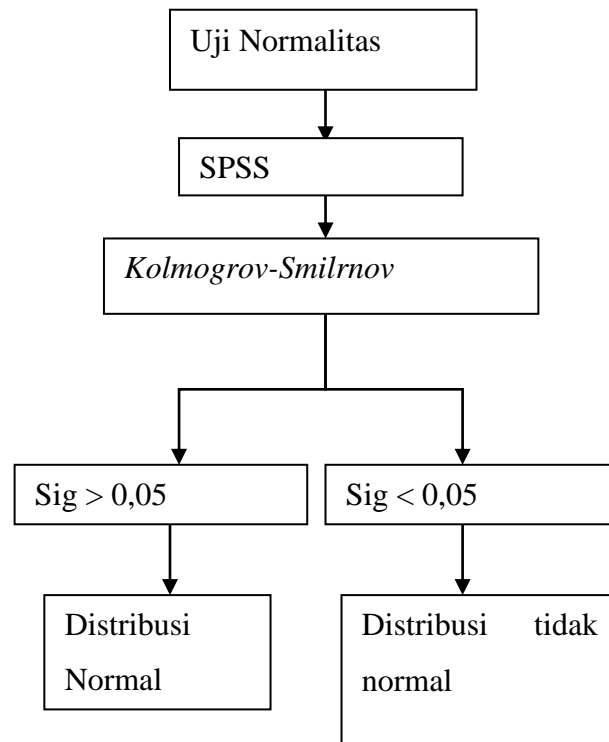
16. Pembuatan Suspensi Bakteri



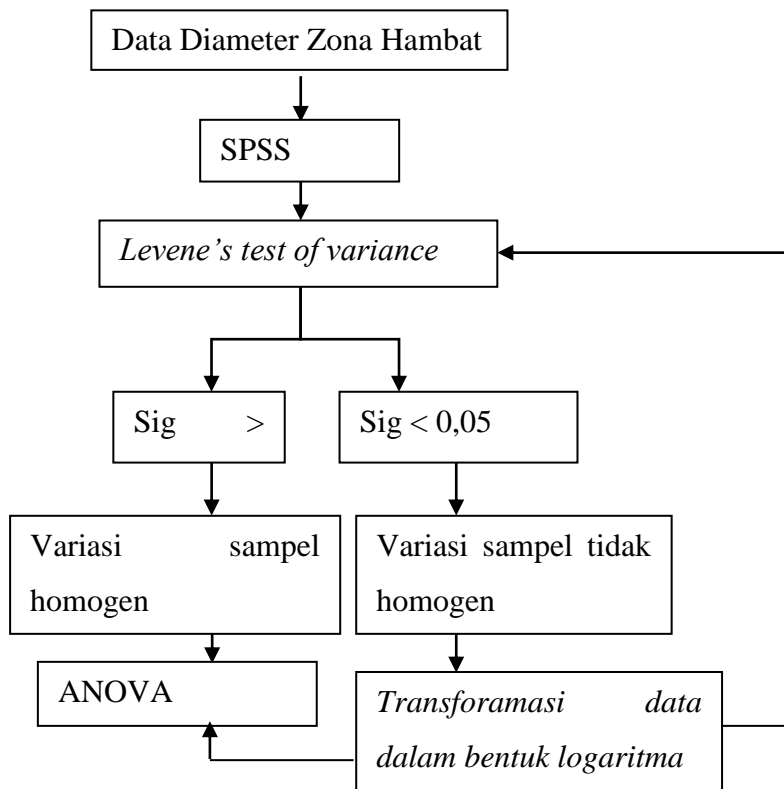
17. Uji Aktivitas Antibakteri Krim



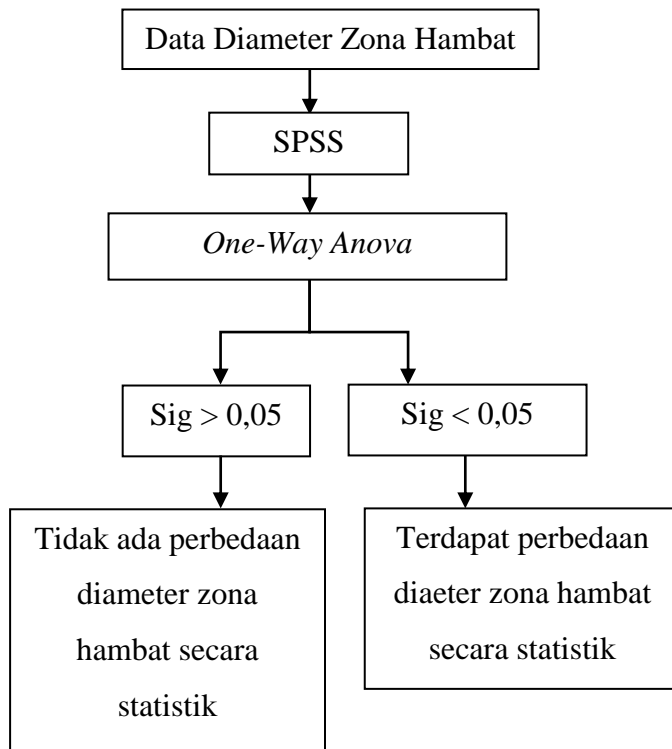
18. Uji Normalitas



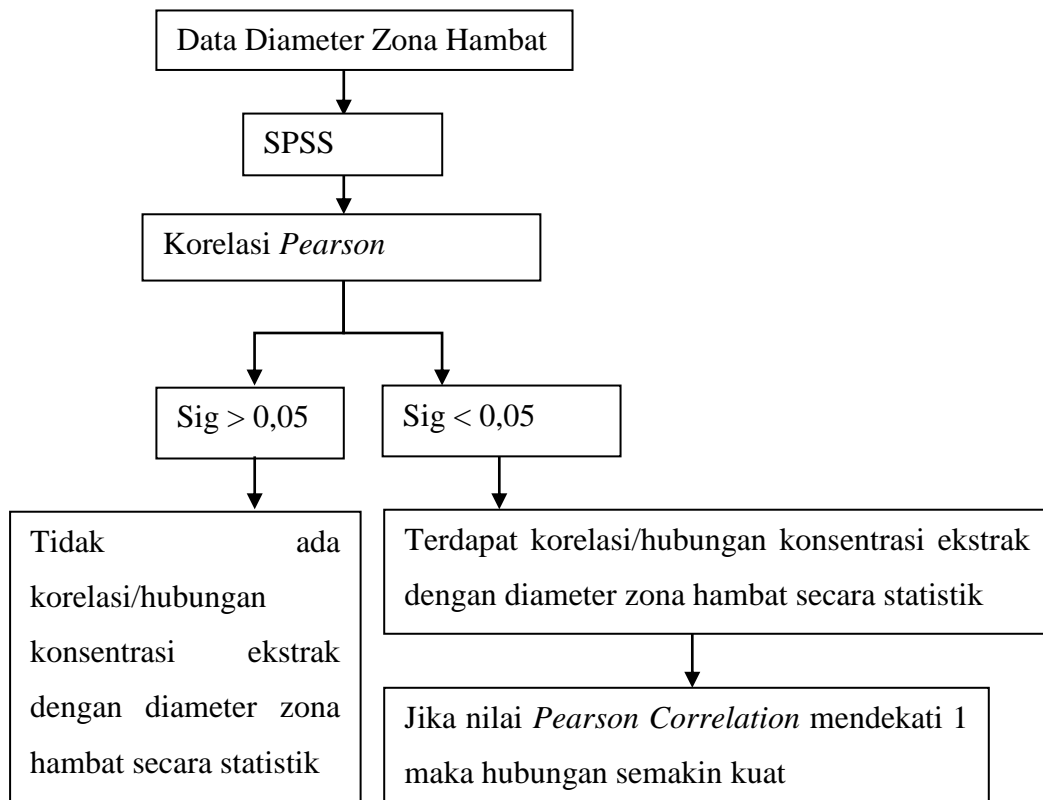
19. Uji Homogenitas



20. *One Way Anova*



21. *Korelasi Pearson*



Lampiran 10. Jadwal Penelitian

3.12 Jadwal Penelitian

No.	Jenis Kegiatan	Tahun 2018		Tahun 2019						
		Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul
1	Studi Pustaka									
2	Persiapan Penelitian									
	a. Determinasi tanaman									
	b. Pembuatan simplisia									
	c. Pembuatan gel									
3	Penelitian Laboratorium									
	a. Evaluasi simplisia									
	b. Pembuatan ekstrak									
	c. Evaluasi ekstrak									
	d. Skrining fitokimia									
	e. Uji aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas									
4	Pengumpulan dan Analisis Data									
5	Penyusunan Laporan									