

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Pengumpulan dan Penyiapan Simplisia**

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz. & Pav.) yang diperoleh dari daerah Secang, Magelang, Jawa Tengah. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (UGM). Tujuan dilakukannya determinasi tanaman adalah untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan tumbuhan seperti ciri morfologi secara makroskopis dan mikroskopis tanaman dibandingkan dengan kepustakaan. Hasil determinasi (lampiran 1) menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz. & Pav.).

Pada penelitian ini, bagian dari simplisia yang digunakan adalah daun. Daun sirih merah yang akan digunakan pada penelitian ini telah melalui proses sortasi dan pencucian untuk memisahkan kotoran-kotoran dengan menggunakan air bersih yang mengalir, kemudian dilakukan pengeringan. Tujuan dilakukannya proses pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tahan lama atau awet serta tidak mudah rusak karena adanya pertumbuhan jamur sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang relatif lebih lama. Proses selanjutnya yang dilakukan adalah proses penghalusan dan penyaringan. Proses ini bertujuan untuk mendapatkan serbuk simplisia yang homogen dan untuk mempermudah penarikan senyawa zat aktif simplisia yang dapat digunakan sebagai antibakteri

yaitu flavonoid.

## **B. Ekstraksi Simplisia**

Proses penyarian zat aktif pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode maserasi. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam 700 gram serbuk daun sirih merah dengan pelarut etanol 70% (1:10) (Retno, 2006). Proses maserasi dilakukan selama 5 hari dengan bantuan pengadukan, kemudian dilanjutkan proses remaserasi selama 2 hari. Proses tersebut bertujuan agar senyawa-senyawa aktif dapat diambil secara optimal. Setelah proses maserasi dan remaserasi, tahapan selanjutnya adalah proses pemekatan atau evaporasi dengan menggunakan evaporator dengan suhu 50°C dan kecepatan 100 rpm. Hasil rendemen tertera pada tabel 5. Rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini mendekati hasil rendemen ekstrak sirih merah yang dilakukan pada penelitian sebelumnya yaitu 11,92% (Puzi, 2015).

**Tabel 1.** Hasil Ekstraksi daun sirih merah

Serbuk daun sirih merah (gram)	Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
700	87,5	12,5

## **C. Uji Bebas Etanol**

Uji bebas etanol dilakukan untuk membuktikan bahwa tidak ada kandungan etanol yang terdapat dalam ekstrak daun sirih merah. Dengan demikian, hasil pada daya antiseptik murni karena pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah yang digunakan bukan karena senyawa pelarut etanol pada ekstrak sirih merah. Dari hasil uji didapatkan bahwa tidak adanya perubahan warna dari jingga atau merah menjadi hijau kebiruan, sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak

daun sirih merah telah bebas dari etanol secara kualitatif. Hasil dari uji bebas etanol ditunjukkan pada gambar 9 dan 10.



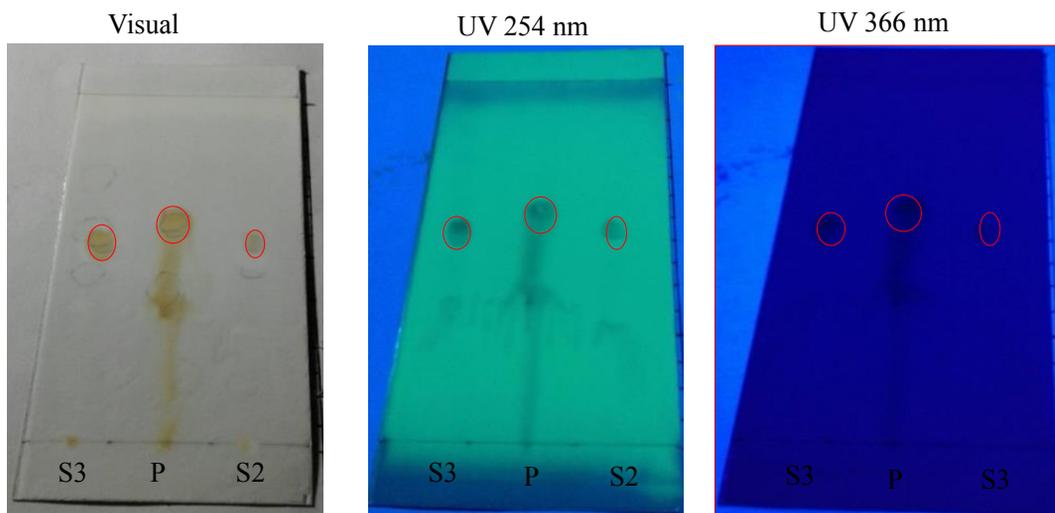
**Gambar 1 . Uji Bebas Etanol**



**Gambar 2 . Reaksi kimia antara kalium dikromat, asam sulfat dan etanol**

#### **D. Uji Kandungan Senyawa Flavonoid**

Pengujian identifikasi kandungan flavonoid pada ekstrak daun sirih merah dilakukan menggunakan metode KLT yang dilanjutkan dengan uji densitometri. Larutan yang ditotolkan pada fase diam adalah larutan hasil pengenceran ekstrak dan larutan pembanding. Larutan pembanding yang digunakan adalah larutan rutin (Koirewoa, 2012). Hasil elusi kemudian diamati pada sinar tampak, sinar ultra violet (UV) 254 nm dan sinar UV 366 nm (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Gambar 12 adalah hasil identifikasi senyawa flavonoid dengan metode KLT.

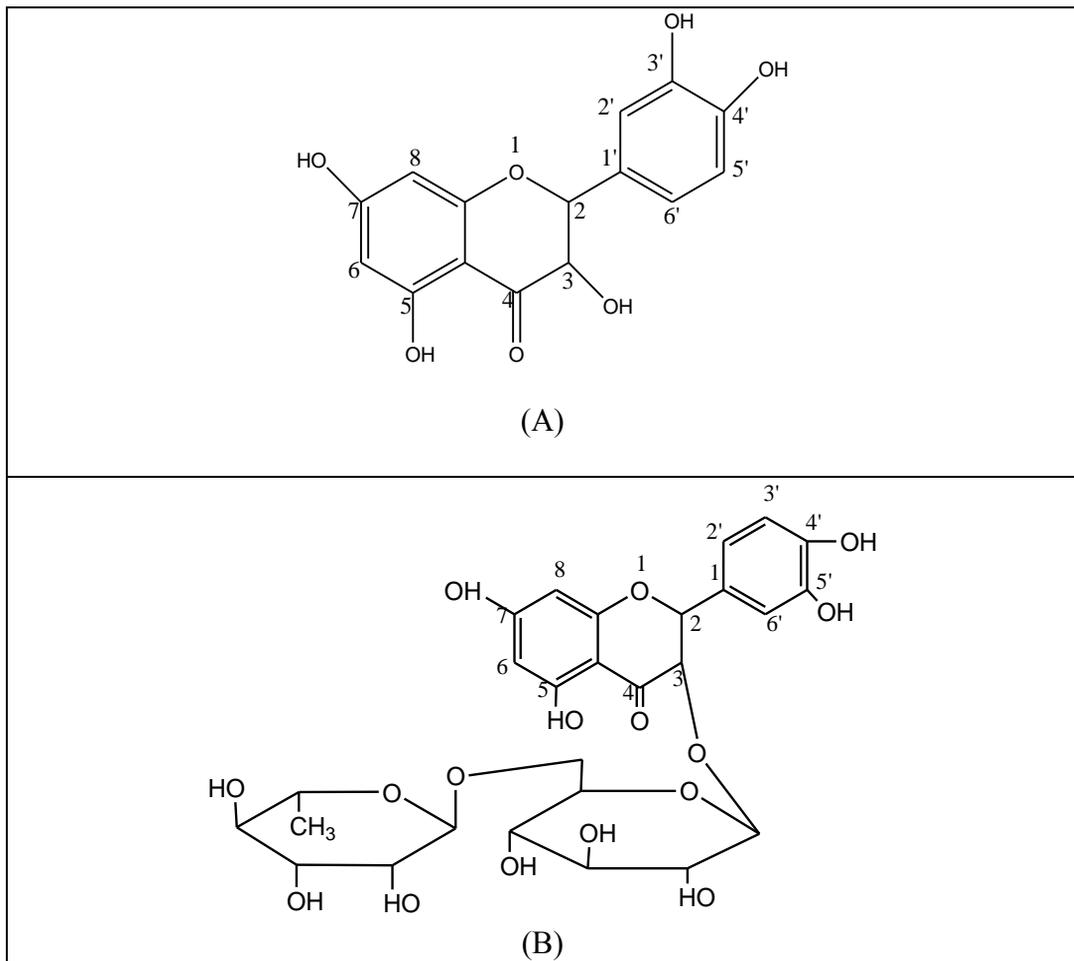


**Gambar 3 .** Hasil Uji KLT Senyawa Flavonoid. (S3) ESM dengan tiga kali penotolan. (P) Rutin. (S2) ESM dengan dua kali penotolan

Menurut Damayanti (2001), secara teori senyawa flavanoid akan menghasilkan bercak warna kuning pada hasil penotolan apabila diamati pada sinar tampak dan akan menghasilkan bercak kuning yang berfluorens apabila dideteksi menggunakan sinar UV 254. Hasil penelitian ini bersesuaian dengan teori yaitu menghasilkan bercak kuning yang berfluorens apabila dideteksi menggunakan sinar UV 254 dan Rf yang didapatkan adalah 0,72 pada larutan rutin dan 0,63 pada larutan ekstrak. Nilai Rf tersebut masuk dalam range nilai Rf senyawa flavonoid yaitu antara 0,2 – 0,75 (Mursidi,1990).

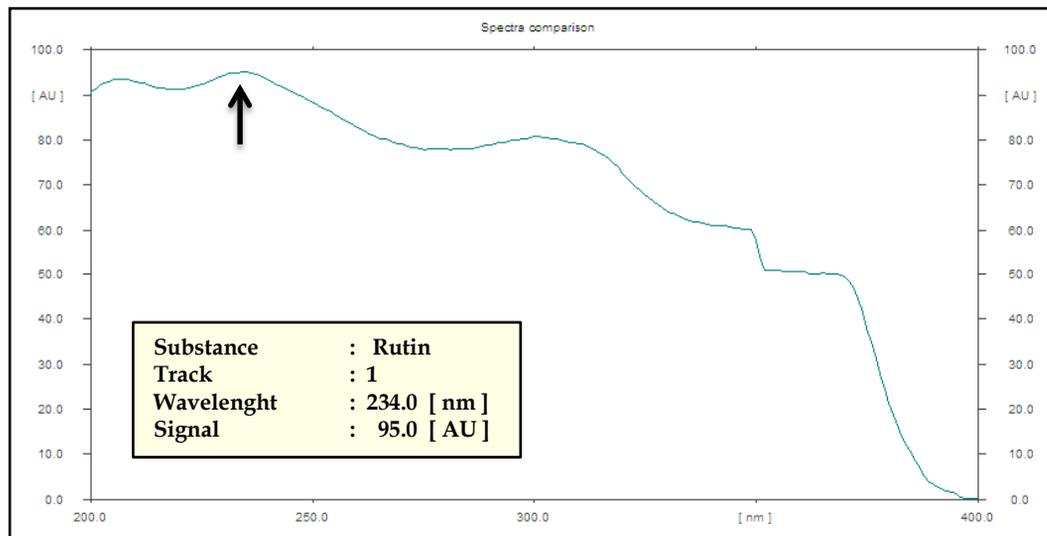
Mursidi (1990) menegaskan bahwa pada range Rf antara 0,6 - 0,75 masuk dalam range senyawa quersetin. Perbedaan nilai Rf antara larutan ekstrak dan larutan rutin dikarenakan rutin bersifat lebih polar dibandingkan dengan senyawa quersetin dari ESM. Hal tersebut dikarenakan jumlah gugus OH pada senyawa rutin (gambar B) lebih banyak dibandingkan dengan gugus OH yang terdapat pada senyawa quersetin (Gambar A) pada ESM. Perbedaan

mengenai struktur senyawa antara quersetin dan rutin dapat dilihat pada gambar 12.

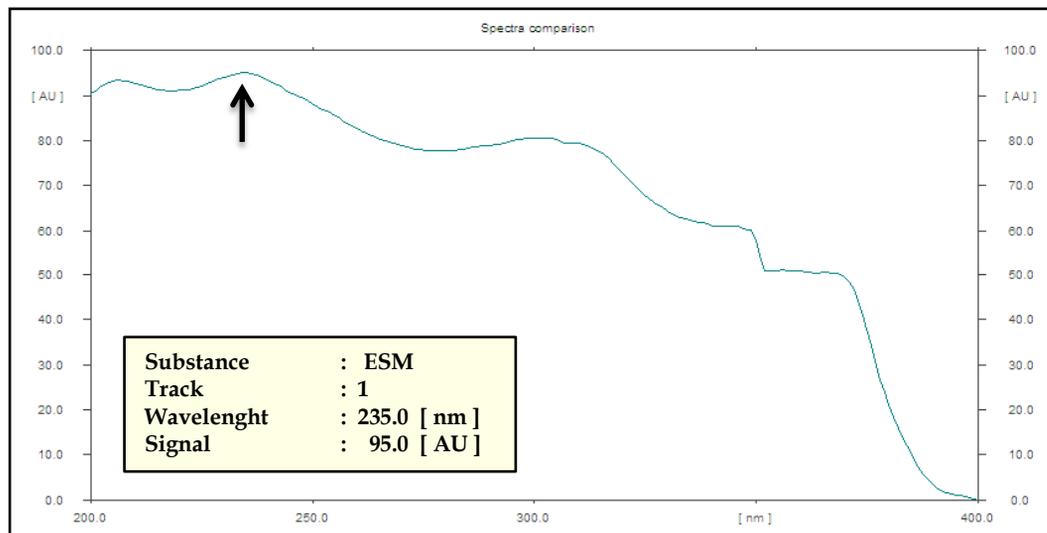


**Gambar 4.** A. Struktur Quersetin. B. Strukur Rutin

Proses selanjutnya yang dilakukan adalah uji densitometri senyawa flavonoid. Langkah yang dilakukan adalah memasukkan lempeng hasil uji KLT kedalam alat densitometri. Fungsi dilakukannya uji densitometri adalah untuk mengetahui serapan tertinggi yang dihasilkan antara senyawa rutin dan ekstrak daun sirih merah (ESM). Hasil dapat dilihat dari komputer yang telah terhubung dengan alat tersebut. Berikut merupakan hasil kromatogram uji densitometri. Hasil uji densitometer terdapat pada gambar 13 dan 14.



**Gambar 5.** Hasil Analisis Rutin Menggunakan Densitometer ( 200-400 nm)



**Gambar 6.** Hasil Analisis ESM Menggunakan Densitometer ( 200-400 nm)

Berdasarkan hasil kromatogram dari uji densitometer didapatkan nilai panjang gelombang dari ekstrak daun sirih merah adalah 234 nm. Hasil tersebut mendekati nilai panjang gelombang dari rutin. Dengan demikian maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah mengandung senyawa yang memiliki gugus kromofor mirip dengan senyawa rutin.

## E. Optimasi Basis Karbomer Sediaan Gel Antiseptik

Optimasi basis sediaan gel pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi karbomer yang akan digunakan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Prahastiwi (2014), diperoleh hasil bahwa hambatan terbesar ESM pada pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif adalah pada konsentrasi 6,25% b/v. Dari hasil penelitian diatas, maka proses optimasi basis karbomer sediaan gel dilakukan menggunakan kadar ESM 6,25% b/v. Analisis basis sediaan yang baik berdasarkan pada nilai viskositas dari formula yang mendekati nilai viskositas dari kontrol positif. Hasil optimasi yang dilakukan dapat dilihat pada table 6.

**Tabel 2.** Optimasi Sediaan Gel antiseptik ESM

Sediaan	Konsentrasi %	Viskositas (Poise)
Gel Hansanitizer ESM	0,5%	4,21
basis Karbomerl	<b>1%</b>	<b>6,92</b>
	1,5%	39,5
Kontrol Positif (Gel "C")		<b>10,3</b>

Menurut Rowe et al (2009), penggunaan karbomer sebagai gelling agent adalah pada konsentrasi 0,5–2%, oleh karena itu optimasi dilakukan menggunakan tiga variasi konsentrasi yaitu konsentrasi karbomer 0,5%, 1% dan 1,5% ( Ida, 2012). Setelah itu dilakukan pengukuran viskositas pada setiap sediaan . Hasil pengukuran menunjukkan bahwa viskositas sediaan gel yang mendekati viskositas sediaan kontrol adalah sediaan gel dengan konsentrasi basis yaitu 1% dengan viskositas 6.92 poise. Hasil tersebut kemudian digunakan sebagai acuan untuk membuat rancangan formulasi gel antiseptik ESM.

## F. Formulasi Gel Antiseptik ESM

Rancangan formula antiseptik ekstrak daun sirih merah yang akan dibuat menggunakan variasi dari kadar ESM mulai dari 0% sampai 15 %. Variasi konsentrasi tersebut dipilih untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan daya antiseptik antara konsentrasi ESM sebelum dan sesudah menjadi sediaan gel. Berdasarkan optimasi sediaan gel antiseptik ESM yang telah dilakukan, konsentrasi karbomer yang akan digunakan adalah 1%. Rancangan formulasi yang dibuat untuk penelitian ini adalah formulasi dari penelitian sebelumnya (Sari dan Isadiartuti, 2006). Dari formulasi tersebut, dilakukan beberapa modifikasi bahan. Modifikasi yang dilakukan antara lain adalah penambahan zat preservatif (pengawet) dan modifikasi konsentrasi pada setiap bahan (berdasarkan konsentrasi bahan yang digunakan pada optimasi sediaan gel antiseptik ESM). Fungsi masing-masing bahan dan penimbangan jumlah bahan dapat dilihat pada tabel 7 dan 8.

**Tabel 3.** Fungsi Bahan

Bahan	Fungsi
Ekstrak	Zat aktif
Karbomer	Basis
Gliserin	Humektan
TEA	Adjusting pH, pengental dan penjernih
Methyl Paraben	Preservative
Propyl Paraben	Preservative
Aquadest	Ad
Ethanol 70%	Pelarut metil dan propil Paraben

**Tabel 4.** Perhitungan Jumlah Bahan

Bahan	F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak	0 g	2,5 g	5 g	10 g	15 g
Karbomer	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Gliserin	3 ml				
TEA	1,5 ml				
Methyl Paraben	0,18 g				
Propyl Paraben	0,02 g				
Etanol 70%	2 ml				
Aquadest add	91,74 ml	88,97 ml	86,47 ml	81,47 ml	76,47 ml

Perhitungan jumlah bahan dengan bentuk cair mempertimbangkan massa jenis dari setiap bahan. Fungsinya adalah untuk menghitung jumlah atau aquadest yang akan ditambahkan pada formulasi. Massa jenis setiap bahan dapat dilihat pada tabel 9.

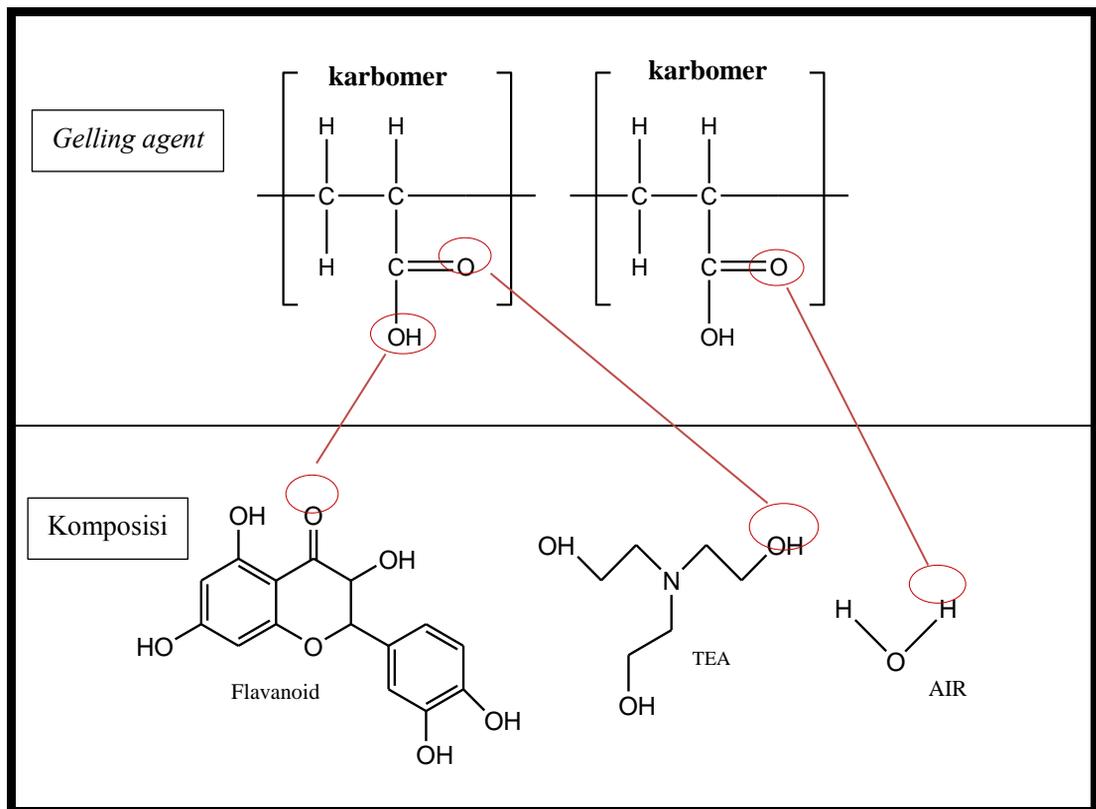
**Tabel 5.** Massa Jenis Bahan Cair

Bahan	Massa Jenis (g/ml)
Aquadest	1
Etanol 70%	0,886
TEA	1,124
Gliserin	1,29

Pada penelitian ini, sediaan gel antiseptik ESM yang akan dibuat adalah sediaan gel sistem satu fase. Stabilitas dari sediaan berupa gel dapat diamati secara visual bentuk sediaan gel. Sediaan gel yang baik adalah sediaan yang dapat mempertahankan distribusi halus dan teratur dari makromolekul organik sebagai zat aktif dalam rentang waktu yang panjang.

Pada proses pengembangan basis, karbomer apabila dicampurkan dengan air dalam suasana asam maka akan membentuk suatu massa gel yang memiliki afinitas yang kuat antara zat aktif dan basis mengandung air. Afinitas adalah kecenderungan suatu senyawa untuk membentuk suatu ikatan dengan senyawa

lain. Dengan demikian, zat aktif yang larut air dalam sediaan akan sukar lepas dari sediaan dan mengalami kesulitan saat penetrasi ke bakteri. Penambahan TEA digunakan sebagai adjusting pH agent atau agen pembasa yang akan mengionisasi dan menyebabkan zat aktif larut air dapat masuk dan terjebak dalam matriks yang mudah lepas kembali sehingga dapat dengan mudah berpenetrasi. Sifat yang dimiliki oleh karbomer adalah hidrokoloid atau hidrofil, maka apabila didispersikan dalam air akan mengembang. Proses selanjutnya adalah proses hidrasi molekul melalui pembentukan ikatan hidrogen. Karbomer memiliki senyawa kimia yang ujung-ujung rantainya memiliki gugus RCOOH yang bersifat asam, sebagian gugus karboksil pada struktur molekul karbomer akan membentuk gulungan yang tidak terionisasi. Apabila pH dispersi karbomer ditingkatkan dengan penambahan basa, maka secara progresif gugus karboksil akan terionisasi. Proses terionisasinya gugus karboksil ini akan mengakibatkan gaya tolak-menolak antara gugus yang terionkan dan menyebabkan ikatan hidrogen pada gugus karboksil sehingga terjadinya peningkatan viskositas (Florence, et al., 2006). Ilustrasi interaksi antara karbomer dan bahan (zat aktif (flavanoid, air dan TEA) dapat dilihat pada gambar 15.



**Gambar 7.** Ilustrasi Interaksi antara Karbomer, flavonoid, TEA dan Air (Hilman, 2015)

Interaksi pembentukan ikatan hidrogen antara karbomer, TEA dan komponen ESM diperkirakan karena adanya gugus hidroksil (-OH) dan gugus karbonil (C=O) dari gelling agent. Semakin banyak ikatan hydrogen yang terbentuk maka viskositas akan meningkat.

#### **F. Uji karakteristik Gel Ekstrak Daun Sirih Merah**

Pengujian stabilitas pada sediaan gel antiseptik ESM dilakukan dengan uji organoleptis, uji homogenitas, uji perubahan pH, uji viskositas, uji daya lekat dan uji daya sebar. Hasil uji stabilitas gel antiseptik ESM dapat dilihat pada tabel 10.

**Tabel 6.** Data Uji karakteristik Gel antiseptik Ekstrak Daun Sirih Merah selama 7 minggu

Karakteristik	Formula					
	Kontrol Positif	F1	F2	F3	F4	F5
Warna	Bening	Bening	Hijau pekat	Hijau pekat	Hijau pekat	Hijau pekat
Bau	Alkohol	Khas Basis	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah	Khas Sirih Merah
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
pH	5,71± 0,03	6.68±0.45	5.88±0.24	5.69±0.19	5.28±0.13	5.09±0.05
Viskositas*	-	2468.89±248,10	1545.67±286.17	592.22±128.03	324.11± 115.75	99.11±31.46
Daya Lekat**	-	0,81±0,02	0,79±0,02	0.46±0.06	0.31±0.05	0.20±0.04
Daya Sebar	-	1.82	2.12	2.20	2.47	2.72

Catatan :

\*satuan dari viskositas adalah cPause

\*\*satuan daya lekat adalah detik

## **1. Uji Organoleptik dan Uji Homogenitas**

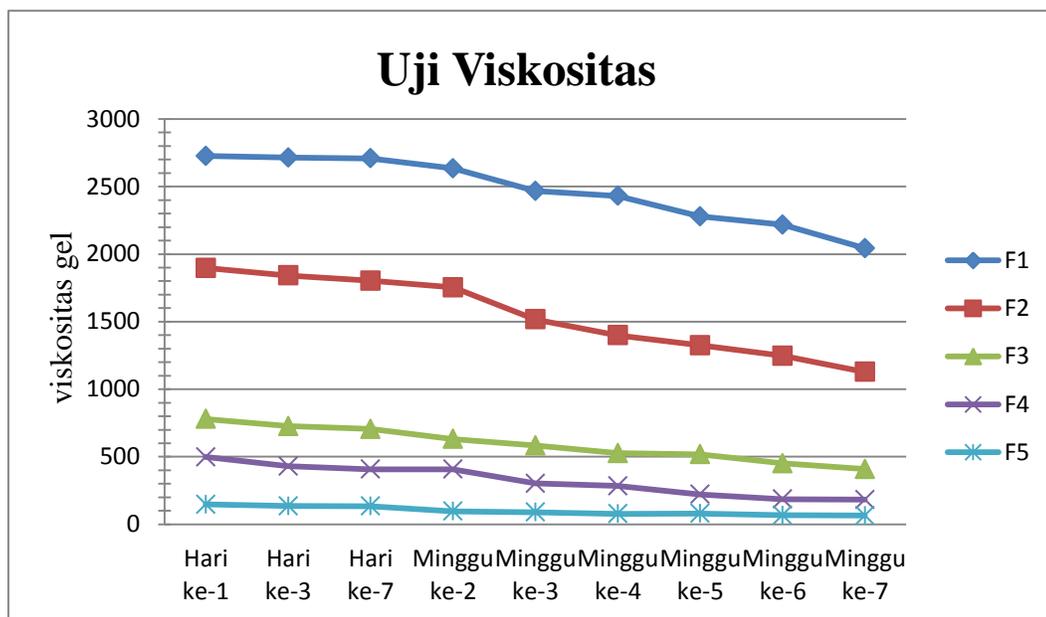
Uji organoleptis merupakan uji yang sering dilakukan sebagai control kualitas dari sebuah sediaan. Uji ini biasa dilakukan untuk mengetahui secara visual ada atau tidaknya perubahan dari sediaan yang disimpan dalam jangka waktu tertentu. Hasil uji organoleptis yang dilakukan pada formula gel ekstrak daun sirih merah yaitu berwarna hijau muda pada konsentrasi 2,5 % dan hijau pekat pada formulasi 5%, 10% dan 15 %, berbau khas sirih merah.

Uji selanjutnya yang dilakukan adalah uji homogenitas sediaan gel. Uji ini merupakan salah satu faktor penting untuk mengetahui kualitas suatu sediaan. Tujuan dilakukannya uji homogenitas sediaan gel ini adalah untuk melihat keseragaman partikel sediaan gel sehingga menghasilkan efek maksimal. Hasil untuk uji homogenitas menunjukkan bahwa sediaan gel antiseptik ESM memiliki homogenitas yang baik, hal tersebut ditandai dengan hasil pengamatan yang menunjukkan bahwa semua partikel dalam sediaan gel terdispersi merata pada kaca objek dan tidak adanya penggumpalan partikel ketika diamati pada mikroskop. Dari evaluasi mengenai warna, bau dan homogenitas diketahui bahwa sediaan tetap stabil sampai minggu ke 7 pengujian.

## **2. Uji Viskositas**

Viskositas merupakan suatu ukuran kekentalan yang menyatakan besar atau kecilnya gesekan dalam fluida. Semakin besar viskositas suatu fluida maka semakin sulit suatu benda bergerak dalam fluida. Dalam hal ini semakin kental sediaan gel, maka akan semakin besar kekuatan yang diperlukan sediaan gel

tersebut untuk dapat mengalir dengan kecepatan tertentu (Martin, 1993). Nilai viskositas yang baik adalah 2000-4000 cps (Garg et al., 2002). Selain itu, dengan semakin tingginya tinggi viskositas sediaan, maka laju pemisahan fase terdispersi semakin kecil, sehingga sediaan gel semakin stabil (Suryani et al, 2000). Gambar 16 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ESM maka viskositas sediaan gel semakin kecil.



**Gambar 8.** Uji Viskositas Sediaan Gel Antiseptik ESM

Salah satu faktor yang mempengaruhi viskositas sediaan adalah pH sediaan gel, dalam hal ini karbomer memiliki tingkat kekentalan yang stabil pada pH 6-11 (Rowe et al, 2009). Dimana kekentalan tersebut dihasilkan karena penambahan TEA pada sediaan, sehingga gugus karboksil yang dimiliki oleh karbomer akan berubah menjadi  $\text{COO}^-$ , sehingga akan terjadi gaya tolak menolak elektrostatis antara gugus

yang terionkan dan menyebabkan ikatan hidrogen menjadi lebih kuat sehingga mengakibatkan karbomer mengembang, menjadi rigid dan lebih stabil (Barry, 1983).

Pada penelitian ini, uji viskositas sediaan yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar ekstrak daun sirih merah, maka viskositas sediaan akan mengalami penurunan. Hal tersebut dikarenakan beberapa faktor, yaitu pH karbomer, pH ekstrak dan jumlah TEA yang digunakan. pH karbomer ketika telah dikembangkan yaitu berkisar antara 2-4, untuk menghasilkan sediaan gel yang baik maka dibutuhkan TEA yang cukup dan berfungsi sebagai pengental, penjernih dan penetral pH (pH 7). Namun, pada sediaan gel ekstrak sirih merah, pH yang dimiliki oleh ekstrak adalah asam yaitu 4,06. Dengan demikian maka diperlukan tambahan jumlah TEA untuk membuat sediaan gel tersebut. Akan tetapi, pada formulasi ini digunakan TEA dalam jumlah yang sama banyak pada setiap peningkatan konsentrasi ekstrak, yang membuat sediaan dengan konsentrasi tinggi bersifat asam yang mengakibatkan jumlah gugus karboksilat terion berkurang sehingga tolak menolak pada gugus karboksil yang menyebabkan terjadinya pengembangan pada struktur karbomer menurun. Dengan demikian dapat menyebabkan penurunan viskositas sediaan gel dengan meningkatnya jumlah ekstrak. Sediaan gel ekstrak sirih merah yang masuk dalam rentang nilai viskositas yang ideal adalah formula 1 (F1) atau formula tanpa ekstrak sirih merah (0%). Sedangkan untuk formula 2, 3, 4 dan 5 walaupun tidak memenuhi nilai viskositas yang ideal, tetap menunjukkan kestabilan yang baik sampai dengan minggu ke 7.

### **3. Uji pH Sediaan**

Fungsi pengukuran pH sediaan gel adalah selain untuk mengetahui kestabilan suatu sediaan, juga untuk mengetahui apakah sediaan tersebut aman atau tidak iritasi apabila digunakan pada kulit manusia. Dalam hal ini, karbomer memiliki tingkat kekentalan yang stabil pada pH 6-11 (Rowe et al, 2009) sedangkan pH yang dimiliki kulit yaitu berkisar antara pada pH 4,5-6,5 (Draelos dan Lauren, 2009). Berdasarkan hasil penelitian, pH sediaan yang masuk dalam rentang pH stabilitas karbomer adalah pH dari formula satu (F1), sedangkan pH yang masuk dalam range pH kulit adalah gel kontrol positif, formula 2 (F2), formula 3 (F3), formula 4 (F4) dan formula 5 (F5).

Namun, perbedaan antara pH gel dengan pH kulit tidak akan menyebabkan iritasi pada kulit atau kerusakan pada kulit. Hal tersebut dikarenakan kulit memiliki kapasitas buffer yang cukup tinggi (Levin et al., 2001). Dengan demikian, apabila kulit terpapar bahan atau larutan yang bersifat asam atau basa, maka akan terjadi perubahan pH sementara pada kulit. Namun, pH kulit akan kembali dengan cepat pada keadaan normalnya. Hal tersebut, mengindikasikan bahwa kulit memiliki kapasitas buffer yang tinggi (Levin et al, 2001).

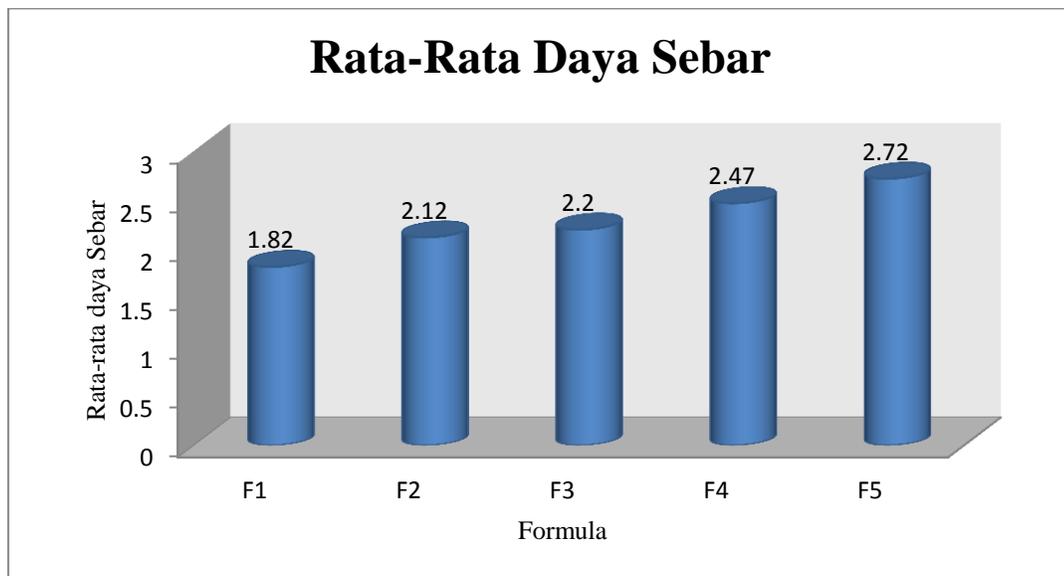
### **4. Uji Daya Sebar**

Tujuan dilakukannya pengujian mengenai daya sebar sediaan gel adalah untuk mengetahui daya penyebaran gel pada permukaan kulit sehingga dapat diketahui penyebaran zat aktif dari sediaan 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 dari sediaan semisolid akan tersebar secara merata.

Daya sebar gel yang baik yaitu antara 5 sampai 7 cm (Garg et al., 2002). Daya sebar yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi ESM pada sediaan. Hasil dari pengujian daya sebar adalah semakin tinggi kadar ekstrak maka daya sebar yang dihasilkan semakin besar pula. Hasil daya sebar dan rata-rata daya sebar pada pengamatan pertama dapat dilihat pada gambar 17.

Hasil pengujian terhadap daya sebar menunjukkan bahwa sediaan yang memiliki daya sebar terbesar adalah sediaan gel kadar ESM 15% dengan rata-rata 2,72 cm.



**Gambar 9.** Rata-rata Daya sebar Gel Antiseptik ESM (1) Formula 1. (2) Formula 2. (3) Formula 3. (4) Formula 4. (5) Formula 5.

## **5. Uji Daya Lekat**

Tujuan dilakukannya pengujian mengenai daya lekat yaitu untuk mengetahui kemampuan gel melekat pada kulit. Daya lekat yang baik adalah dapat melapisi kulit secara menyeluruh, tidak mengganggu fungsi fisiologis kulit dan menyumbat pori-pori (Voight,1994). Gel yang baik memiliki daya lekat yang tinggi (Carter, 1975). Daya lekat suatu sediaan dipengaruhi viskositas suatu sediaan, semakin tinggi viskositas maka daya lekat yang dihasilkan tinggi pula dan sebaliknya (Nurlaela dkk., 2012). Daya lekat suatu sediaan diperlukan untuk mengetahui lama atau durasi efek dari suatu zat aktif dari suatu sediaan (Ansel, 1989).

Daya lekat yang dihasilkan dari pengujian ekstrak sirih merah mengalami penurunan. Pola penurunan yang dihasilkan adalah  $F1 > F2 > F3 > F4 > F5$ . Faktor yang memengaruhi antara lain pH sediaan dan viskositas. Meningkatnya viskositas sediaan menjadikan sediaan menjadi lebih kental, hal tersebut menyebabkan peningkatan daya lekat gel dan juga sebaliknya, apabila viskositas turun maka daya lekat akan turun juga. Untuk sediaan gel ekstrak sirih merah hasil nilai daya lekat tidak ada yang masuk dalam rentang nilai ideal dari daya lekat. Hal tersebut dikarenakan bentuk sediaan yang terlalu encer.

## **G. Uji Antiseptik Gel ESM**

Pengujian efektivitas dari daya antiseptik ESM dilakukan menggunakan metode Replika (Lay, 1994). Uji replika dilakukan dengan meneteskan dan meratakan sediaan gel pada telapak tangan dan kemudian dilakukan swabbing dari telapak

tangan ke media TSA. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C, kemudian koloni yang tumbuh pada media dihitung.

Uji daya antiseptik pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar penurunan jumlah koloni kuman pada telapak tangan sebelum dan setelah diberikan gel antiseptic ESM dan gel antiseptik dipasaran sebagai kontrol positif. Dari tabel 11 mengenai hasil uji antiseptik gel ESM dapat diketahui bahwa setelah pemakaian sediaan gel ESM terjadi penurunan pertumbuhan jumlah koloni. Penurunan jumlah koloni secara signifikan dimulai dari kadar 5% yaitu 27,19%, kadar 10% yaitu 68,10% dan kadar 15% yaitu 85,62%. Sedangkan, sediaan gel antiseptik dipasaran menunjukkan bahwa jumlah koloni yang tumbuh setelah pemakaian berkurang sampai 99,14%.

Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa gel ekstrak daun sirih merah dengan kadar 15% mempunyai daya antiseptik, walaupun apabila dibandingkan dengan sediaan pembanding efektifitas dari gel ESM masih kurang. Gambar 18 adalah gambar mengenai pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak terhadap persentase penurunan jumlah koloni bakteri. Hubungan antara konsentrasi ekstrak sirih merah dengan penurunan jumlah koloni memberikan persamaan 3.

$$Y = 6,24X - 3,5242 \quad (3)$$

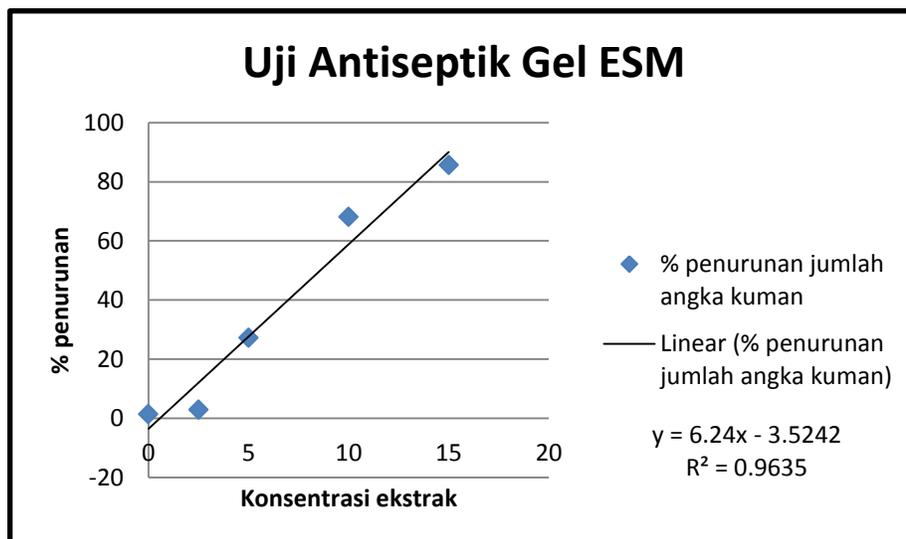
**Tabel 7.** Hasil uji antiseptik gel ESM

Sediaan	Rata-rata Pertumbuhan Bakteri		Rata-rata Pengurangan bakteri (%)
	Sebelum	Sesudah	
Kontrol (+)	582	5	99,14 %
Kontrol (-)*	583	571	1,38 %
2,5 %	732	711	2,89 %
5 %	673	490	27,19%
10 %	997	318	68,10%
15 %	598	86	85,62 %

\* kontrol (-) = gel ESM 0%

\* kontrol (+) = gel antiseptic hand sanitizer “C”

Persamaan tersebut menerangkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula Penurunan jumlah koloni bakteri yang dihasilkan. Sedangkan untuk nilai R yang dihasilkan adalah 0,981. Hasil tersebut masuk dalam rentang nilai  $R = 0,80 - 1,000$  maka dapat disimpulkan hubungan antara konsentrasi ESM (X) dengan persentase penurunan jumlah koloni bakteri (Y) sangat kuat.



**Gambar 10.** Uji daya Antiseptik (pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak vs % penurunan jumlah koloni bakteri)

Kemudian dilakukan uji statistika yaitu paired sample t test (uji t berpasangan). Uji ini adalah untuk melihat signifikansi penurunan jumlah koloni antara sebelum dan setelah penggunaan gel antiseptik ekstrak daun sirih merah. Hasil dari uji paired sample t test dapat dilihat pada tabel 12.

**Tabel 8.** Nilai signifikansi penurunan jumlah koloni antara sebelum dan setelah menggunakan gel antiseptik ESM.

<b>Formula</b>	<b>Nilai Signifikansi</b>
Kontrol positif	0.000
F1 (0% atau Kontrol negatif)	0.781
F2 (2,5%)	0.118
F3 (5%)	0.000
F4 (10%)	0.000
F5 (15%)	0.000

- nilai  $<0.05$  adalah terjadi perbedaan secara nyata
- nilai signifikansi  $<0.05$  adalah tidak terjadi perbedaan secara nyata

Data nilai signifikansi penurunan jumlah koloni antara sebelum dan setelah menggunakan gel antiseptik ESM menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah koloni yang sangat signifikan antara sebelum dan sesudah menggunakan gel antiseptik pada gel kontrol positif, gel formula 3, gel formula 4 dan gel formula 5. Sedangkan gel formula 1 dan gel formula dua menunjukkan hasil bahwa tidak memberikan penurunan secara nyata atau signifikan terhadap jumlah koloni. Setelah uji paired sample t test uji selanjutnya yang dilakukan adalah uji normalitas sampel. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 13.

**Tabel 9.** Tes Normalitas

Formulasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol positif	0.178	3	.	1.000	3	0.957
F1 (0%)	0.237	3	.	0.976	3	0.704
F2 (2,5%)	0.287	3	.	0.930	3	0.487
F3 (5%)	0.248	3	.	0.968	3	0.657
F4 (10%)	0.325	3	.	0.876	3	0.313
F5 (15%)	0.380	3	.	0.761	3	0.024

Dari data tes normalitas didapatkan hasil bahwa formulasi 5 (F5) yang memiliki nilai signifikansi  $< 0,05$  (tidak normal). Dengan demikian, untuk membandingkan antara gel kontrol positif, F1, F2, F3, F4 dan F5 akan dilakukan uji nonparametric test yaitu Uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Uji Kruskal-Wallis dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan ada tidaknya perbedaan yang bermakna antara sediaan. Sedangkan apabila nilai dari uji Kruskal-Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan maka akan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk melihat nilai signifikansi antara gel kontrol positif, F1, F2, F3, F4 dan F5. Uji selanjutnya adalah uji Kruskal-Wallis, hasil yang didapatkan pada uji Kruskal-Wallis dapat dilihat pada lampiran 12.

Dari data uji Kruskal-Wallis didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara semua sediaan (nilai signifikansi  $< 0,05$ ) maka dilakukan uji lanjut "Mann Whitney" untuk melihat perbedaan dari gel kontrol positif, F1, F2, F3, F4 dan F5. Hasil tersebut dapat dilihat pada lampiran 13. Dari hasil uji Mann Whitney dapat

ditarik kesimpulan bahwa terjadi perbedaan yang nyata antara gel kontrol positif terhadap F1, F2, F3, F4 dan F5.

Data mengenai signifikansi uji Mann Whitney dapat dilihat pada tabel 14. Hasil dari signifikansi uji Mann Whitney adalah perbedaan yang tidak signifikan hanya terjadi antara formula 1 (kontrol negatif atau 0%) dengan formula 2 (2,5%). Uji statistika terakhir yang dilakukan adalah korelasi dan regresi antara formulasi sediaan F1, F2, F3, F4 dan F5. Tujuan dilakukannya uji korelasi adalah untuk mengetahui ada tidaknya keterkaitan pada sampel, dalam hal ini adalah keterkaitan antara peningkatan konsentrasi ekstrak terhadap penurunan jumlah koloni bakteri. Uji korelasi dilakukan menggunakan uji korelasi pearson karena pemilihan hipotesis korelatif didasarkan pada jenis data, kedua variabel yang diuji adalah variabel numerik. Data mengenai hasil korelasi dapat dilihat pada lampiran 15.

Dari data korelasi antara F1, F2, F3, F4 dan F5 didapatkan hasil bahwa terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel (formula dan penurunan). Kekuatan korelasi yang dihasilkan adalah sangat kuat (0,80 – 1,00) yaitu dengan nilai 0,982. Sedangkan arah korelasi yang dihasilkan adalah positif. Hal ini menandakan bahwa semakin besar kadar ekstrak daun sirih merah, maka semakin besar pula penurunan jumlah koloni yang dihasilkan.

Uji regresi dilakukan untuk menguji pengaruh antara kenaikan konsentrasi ekstrak sirih merah terhadap penurunan jumlah koloni bakteri. Uji regresi yang dilakukan adalah uji regresi sederhana. Hal tersebut dikarenakan variabel yang diuji hanya 2 yaitu satu sebagai variabel dependen (tergantung) yaitu penurunan jumlah

koloni dan satu variabel independen (bebas) yaitu formula. Hasil dari uji regresi dapat dilihat pada Lampiran 16.

Dari uji regresi diketahui bahwa nilai signifikansi yang didapatkan adalah 0,003. Hal tersebut menandakan bahwa adanya pengaruh antara peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah pada formula terhadap penurunan jumlah koloni bakteri. Setelah diketahui adanya pengaruh antara peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah pada formula terhadap penurunan jumlah koloni bakteri, besar pengaruhnya adalah 6,240, jadi persamaan regresinya adalah :

$$Y = 6,240X - 3.524 + e \quad (4)$$

Persamaan 4 menerangkan bahwa jika terjadi kenaikan 1 satuan pada konsentrasi ESM pada formula, maka jumlah penurunan angka kuman akan mengalami peningkatan sebesar 6,240. Sedangkan nilai R square yang dihasilkan adalah 0,964. Hal tersebut menandakan bahwa 96,4% penurunan jumlah koloni bakteri dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi ekstrak sirih merah pada formula. Dari persamaan 4 dapat digunakan untuk memprediksikan kadar untuk mencapai penurunan jumlah koloni bakteri sebanyak 100% ( $Y = 100\%$ ) yaitu pada konsentrasi 16,69 atau 17%.