OPTIMASI FORMULA SPRAY EKSTRAK DAUN AKALIFA (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI IN VITRO TERHADAP Escherichia coli

SKRIPSI



Oleh:

Galuh Maulidatin Nufus

NIM: 19040051

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS dr. SOEBANDI JEMBER 2023

OPTIMASI FORMULA SPRAY EKSTRAK DAUN AKALIFA (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI IN VITRO TERHADAP Escherichia coli

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh : Galuh Maulidatin Nufus NIM : 19040051

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS dr. SOEBANDI JEMBER 2023

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti Seminar Hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember

Jember, 12 Juni 2023

Pembimbing I

(Dr. apt. LinaWinarti, S.Farm, M.Sc)

NIK: 197910192006042002

Pembimbing II

(apt. Nafisah Isnawati, S.Farm., M. Si)

NIDN: 0724128002

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Optimasi Formula Spray Esktrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) Dan Uji Aktivitas Antibakteri In Vitro Terhadap Escherichia coli" telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari

: Kamis

Tanggal

: 06 Juli 2023

Tempat

: Jember

Tim pengji

Ketua,

Gumiarti, S.ST., M.PH

NIDN.4005076201

Penguji II,

Dr. apt. LinaWinarti, S.Farm, M.Sc

NIK: 197910192006042002

Penguji III.

apt. Nafisah Isnawah, S.Farm., M.Si

NIDN: 0724128002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas dr. Soebandi,

servaningrum., M.Farm

890603 201805 2 148

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama

: Galuh Maulidatin Nufus

NIM

: 19040051

Program studi : S1 Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "Optimasi Formula Spray Esktrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) Dan Uji Aktivitas Antibakteri In Vitro Terhadap Escherichia coll" merupakan hasil karya saya sendiri. Sumber yang dikutip penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa adanya paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi jika dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini.

Jember, 12 Juni 2023

Yang membuat pernyataan,

Galuh Maulidatin Nufus NIM:19040051

SKRIPSI

OPTIMASI FORMULA SPRAY EKSTRAK DAUN AKALIFA (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI IN VITRO TERHADAP Escherichia coli

Oleh:

Galuh Maulidatin Nufus

NIM. 19040051

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama: Dr. apt. LinaWinarti, S.Farm, M.Sc

Dosen Pembimbing Anggota: apt. Nafisah Isnawati. S.Farm., M. Si

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati penulis persembahkan kepada:

- Mustamiati (ibu), Subandi (ayah), Retno Dwi Kayisna dan Muhammad Rizky
 Ardiansyah (adek) saya yang telah memberikan kasih sayang sehingga
 berada dititik ini serta memberikan semangat dan doa yang terbaik untuk saya
 sehingga saya dapat menyelesaikan Pendidikan S1 Farmasi.
- 2. Keluarga serta saudara yang telah mendoa'kan dan mendukung saya hingga mampu berada dititik ini.
- 3. Keluarga besar Mas limi yang selalu memberikan semangat dan dukungan penuh dalam proses pengerjaan skripsi.
- 4. Ibu Gumiarti, S.ST., M.PH selaku penguji, ibu Dr. apt. LinaWinarti, S.Farm, M.Sc selaku pembimbing utama dan ibu Nafisah Isnawati, S.Farm., M.Si selaku pembimbing anggota yang telah banyak meluangkan waktu dan membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi.
- 5. Almamater Universitas dr. Soebandi Jember terutama kepada teman-teman farmasi angkatan 2019-B fitria, shinta, Jacinta dan icha yang selalu menjadi tempat berkeluh kesah dan memberikan masukan serta motivasi dalam proses penyusunan skripsi ini.
- 6. Kepada pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terimakasih atas semua dukungan dan bantuanya.

MOTTO

"Kepanikan adalah separuh penyakit, ketenangan adalah separuh obat, dan kesabaran adalah langkah awal kesembuhan"

(Ibnu Sina)

"No one was going to hand me my future. It was up to me to reach for my dream,

grab it tight, and make it come true"

(Ernesto De La Cruz)

"You must not let anyone define your limits because of where you come from.

Your only limit is your soul"

(Gusteau)

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya"

(QS Al- Baqarah: 286)

ABSTRAK

Nufus, Galuh Maulidatin*, Winarti, Lina **, *Isnawati, Nafisah ***, 2023. **Optimasi Formula** *Spray* **esktrak daun akalifa** (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) **Dan uji aktivitas antibakteri in vitro terhadap** *Escherichia coli.* Skripsi, Program Studi Farmasi Program Sarjana Fakultas Kesehatan Universitas dr.Soebandi.

Latar belakang: Menurut riset kementrian kesehatan pada tahun 2020 rata-rata 89,65% dan di Jawa Timur 54,3%, sedangkan di Jember 49,6% masyarakat yang melakukan cuci tangan dengan benar, salah satunya yaitu menggunakan sabun. Hand sanitizer dapat digunakan sebagai alternafit untuk membersihkan tangan tanpa menggunakan sabun dan air yang mengalir. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan aktif hand sanitizer adalah daun akalifa. Carbopol 940 merupakan gelling agent yang banyak digunakan dalam sediaan spray gel untuk produk farmasi, sedangkan TEA sebagai alkalizing agent.

Tujuan : Mengidentifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*), Mengidentifikasi pengaruh *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan TEA sebagai *alkalizing agent* terhadap karakteristik sifat fisik *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*)., Menganalisa konsentrasi *carbopol 940* dan TEA yang dapat menghasilkan formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) serta Menganalisa aktivitas antibakteri formula optimum sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) membandingkan kontrol positif dan kontrol negatif.

Metode : Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan *Simplex Lattice Design*.

Hasil penelitian : Hasil skrining fitokimia ekstrak daun akalifa mengandung senyawa *flavonoid, tannin* dan *saponin*. Evaluasi sifat fisik sediaan *spray* gel variasi konsentrasi *gelling agent* dan *alkalizing agent* berpengaruh terhadap pH, viskositas dan kecepatan waktu mengering. Uji aktivitas antibakteri digunakan metode angka lempeng total (ALT) terhadap bakteri *E.coli* diperoleh dengan *spray* gel elstrak daun akalifa yaitu 1,06 x10² kontrol positif 5,2x10 dan kontrol negatif 2,43x10²

Kesimpilan : Ekstrak daun aklifa mengandung *flavonoid, tanin* dan *saponin*. Daerah optimal *carbopol 940* dan TEA diperoleh pada sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa masing-masing pada konsentrasi 0,075% dengan nilai desirability 1,000. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh masing-masing memiliki perbedaan yang nyata (p<0,05) terhadap aktivitas antibakteri *E.coli*.

Kata kunci: Daun akalifa, Spray gel, Optimasi, Simplex Lattice Design, E. coli

ABSTRACT

Nufus, Galuh Maulidatin*, Winarti, Lina **, *Isnawati, Nafisah ***, 2023. Optimization of Spray Formulation of akalifa leaf extract (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) and in vitro antibacterial activity test against Escherichia coli. Thesis, Pharmacy Study Program Undergraduate Program, Faculty of Health, University of dr. Soebandi.

Background: According to research from the Ministry of Health, in 2020 the average rate was 89.65% and in East Java it was 54.3%, while in the city of Jember itself only 49.6% of people washed their hands properly, one of which was using soap. Hand sanitizer can be used as an alternative to cleaning hands without using soap and running water. One of the plants used as an active ingredient in *hand sanitizers* is akalifa leaves. *Carbopol 940* is a gelling agent that is widely used in *spray* gel preparations for pharmaceutical products, while TEA is an alkalizing agent.

Objectives: To identify the content of chemical compounds in akalifa leaf extract (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.), To identify the effect of carbopol 940 as a gelling agent and TEA as an alkalizing agent on the physical characteristics of akalifa leaf extract *spray* gel (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.), To analyze the concentration *carbopol 940* and TEA which can produce the optimum formula for akalifa leaf extract *spray* gel (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) and analyze the antibacterial activity of the optimum formula for akalifa leaf extract *spray* gel (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) comparing

Methods: This study used an experimental method with the *Simplex Lattice Design*.

Results: The results of the phytochemical screening of akalifa leaf extract contained flavonoids, tannins and saponins. Evaluation of the physical properties of spray gel preparations with variations in the concentration of gelling agent and alkalizing agent affected pH, viscosity and speed of drying time. The antibacterial activity test used the total plate number (ALT) method against *E.coli* bacteria obtained with akalifa leaf elstract spray, namely $1,06 \times 10^6$ positive control 5.2×10^5 and negative control 2.43×10^6

Conclusion : Aklifa leaf extract contains flavonoids, tannins and saponins. The optimal areas of *carbopol 940* and TEA were obtained in akalifa leaf extract spray gel each at a concentration of 0.075%. The number of bacterial colonies that grew each had a significant difference (p<0.05) on the antibacterial activity of E.coli.

Keywords: Akalifa leaves, Spray gel, Optimization, Simplex Lattice Design, E. coli

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr.Soebandi dengan judul "Optimasi Formula *Spray* esktrak daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) dan uji aktivitas antibakteri in vitro terhadap *Escherichia coli*"

Selama proses penyusunan penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- apt. Lindawati Setyaningrum., M.Farm selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr.Soebandi Jember
- apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes, selaku Ketua Program Studi Sarjana
 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr.Soebandi Jember
- 3. Gumiarti, S.ST., M.PH selaku penguji utama
- 4. Dr. apt. LinaWinarti, S.Farm, M.Sc selaku pembimbing utama
- 5. apt. Nafisah Isnawati. S.Farm., M.Si selaku pembimbing anggota
- Orang tua, saudara-saudara, dan teman-teman seperjuangan atas do'a, bimbingan dan kasih sayang yang selalu tercurahkan selama ini

Penulis tentu menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna.

Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaa

Skripsi ini.

Semoga	Skripsi	ini	dapat	bermanfaat.	Akhir	kata	penulis	mengucapkan
terimkasih								

Jember, 12 Juni 2023

(Galuh Maulidatin Nufus)

DAFTAR ISI

SKRIPSI	i	i
LEMBAR I	PERSETUJUANii	i
HALAMAN	N PENGESAHANiv	V
HALAMAN	N PERNYATAAN ORISINALITASv	V
HALAMAN	N PERSEMBAHANv	i
MOTTO	vii	i
ABSTRAK	vii	i
ABSTRAC'	Γ	K
KATA PEN	JGANTARx	i
DAFTAR I	SIxii	i
DAFTAR 1	ABELxvi	i
DAFTAR (SAMBARxvii	i
DAFTAR I	AMPIRAN xix	K
DAFTAR S	INGKATANxx	K
BAB 1 PEN	IDAHULUAN	2
1.1 Lat	ar Belakang	2
1.2 Ru	musan Masalah	5
1.3 Tuj	uan	7
1.3.1	Tujuan Umum	7
1.3.2	Tujuan Khusus	7
1.4 Ma	nfaat	3
1.4.1	Manfaat Bagi Peneliti	3
1.4.2	Manfaat Bagi Peneliti Lain	3
1.4.3	Manfaat Bagi Masyarakat	3
1.5 Kea	asliaan Penelitian	3
BAB 2 TIN	JAUAN PUSTAKA30)
2.1 Tin	jauan Tentang Tanaman Akalifa (<i>Acalypha wilkesiana Müell. Arg.</i>) 30)
2.1.1	Morfologi Tanaman Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell, Arg.) 30)

2.1.2	Klasifikasi Tanaman Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)	. 30
2.1.3	Kandungan Kimia Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg	g.).
		. 31
2.1.4	Kegunaan Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)	. 32
2.2 Ek	straksi Daun Akalifa	. 33
2.3 Sk	rining Fitokimia	. 36
2.4 <i>Ge</i>	lling Agent	. 38
2.5 All	kalizing Agent	. 40
2.6 Ti	njauan Tentang Spray Hand Sanitizer	. 41
2.7 Uji	i Mutu Fisik Sediaan	. 44
2.8 Uj:	i Angka Lempeng Total (ALT)	. 45
2.9 Ba	kteri <i>Escherichia coli</i>	. 46
2.10 <i>Sin</i>	nplex Lattice Design (SLD)	. 47
BAB 3 KE	RANGKA KONSEPTUAL	. 49
	rangka Konseptual <i>Spray</i> Gel Ekstrak Daun Akalifa (<i>Acaly lkesiana Müell. Arg.</i>)	-
3.2 Hi	potesis	. 50
BAB 4 ME	TODOLOGI PENELITIAN	. 52
4.1 De	sain Penelitian	. 52
4.2 Po	pulasi Dan1 Sampel	. 52
4.3 Va	ribel Penelitian	. 52
4.4 Te	mpat Penelitian	. 53
4.5 Wa	aktu Penelitian	. 53
4.6 De	finisi Operasional	. 53
4.7 Te	knik Pengumpulan Data	. 54
4.7.1	Alat Dan Bahan	. 54
4.7.2	Mengidentifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Ekstrak D Akalifa (<i>Acalypha wilkesiana Müell. Arg.</i>)	
4.7.3	Mengidentifikasi Pengaruh Carbopol 940 Sebagai Gelling Ag Dan TEA Sebagai Alkalizing Agent Terhadap Karakteristik S Fisik Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Ma Arg.).	Sifat üell.

4.7.4 Menganalisa Konsentrasi <i>Carbopol 940</i> Dan TEA Yang Dapa Menghasilkan Formula Optimum <i>Spray</i> Gel Ekstrak Daun Akalifa (<i>Acalypha wilkesiana Müell. Arg.</i>)
4.7.5 Menganalisa Aktivitas Antibakteri Formula Optimum Sediaan Spray Gel Esktrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg., Membandingkan Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif Terhadap Escherichia Coli
4.8 Teknik Analisis Data
BAB 5 HASIL PENELITIAN 66
5.1 Mengidentifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)
5.2 Mengidentifikasi Pengaruh Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Dar TEA Sebagai Alkalizing Agent Terhadap Karakteristik Sifat Fisik Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)
5.3 Menganalisa Konsentrasi <i>Carbopol 940</i> Dan TEA Yang Dapa Menghasilkan Formula Optimum <i>Spray</i> Gel Ekstrak Daun Akalifa (<i>Acalypha wilkesiana Müell. Arg.</i>)
5.4 Menganalisa Aktivitas Antibakteri Formula Optimum Sediaan <i>Spray</i> Ge Esktrak Daun Akalifa (<i>Acalypha wilkesiana Müell. Arg.</i>) Membandingkan Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif Terhadap <i>Escherichia Coli</i>
BAB 6 PEMBAHASAN76
6.1 Mengidentifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)
6.2 Mengidentifikasi Pengaruh Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Dar TEA Sebagai Alkalizing Agent Terhadap Karakteristik Sifat Fisik Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)
6.3 Menganalisa Konsentrasi <i>Carbopol 940</i> Dan TEA Yang Dapa Menghasilkan Formula Optimum <i>Spray</i> Gel Ekstrak Daun Akalifa (<i>Acalypha wilkesiana Müell. Arg.</i>).
6.4 Menganalisa Aktivitas Antibakteri Formula Optimum Sediaan <i>Spray</i> Ge Esktrak Daun Akalifa (<i>Acalypha wilkesiana Müell. Arg.</i> Membandingkan Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif Terhadap <i>Escherichia Coli</i>
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN 107
7.1 Kesimpulan

7.2 Saran	107
DAFTAR PUSTAKA	109
LAMPIRAN	115

DAFTAR TABEL

Table 1.1 Keaslian penelitian	. 28
Table 4.2 Definisi Operasional	. 53
Table 4.3 Rancangan Formula Simplex Lattice Design	. 58
Table 4.4 Formula Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa	. 59
Table 4.5 Kriteria respon untuk formula	. 63
Table 5.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Akalifa	
Table 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Akalifa	. 68
Table 5.3 Hasil Evaluasi Uji Homogenitas Gel Spray Ekstrak daun Akalifa	. 70
Table 5.4 Hasil Evaluasi Diameter Pola Penyemprotan Spray Gel Ekstrak D	aun
Akalifa	. 70
Table 5.5 Hasil Evaluasi Berat Sediaan Yang Keluar Setelah Penyemprotan Sp	oray
Gel Ekstrak Daun Akalifa	. 71
Table 5.6 Hasil Evaluasi Uji pH Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa	. 72
Table 5.7 Hasil Evaluasi Uji Viskositas Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa	. 72
Table 5.8 Hasil Evaluasi Kecepatan Mengering Spray Gel Ekstrak Daun Aka	ılifa
	. 73
Table 5.9 Hasil Prediksi Formula Oprimum Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa	. 73
Table 5.10 Hasil Verifikasi Formula Optimum Spray Gel Ekstrak Daun Aka	ılifa
	. 74
Table 5.11 Hasil Perhitungan Pertumbuhan E.coli Uji Angka Lempeng Total	. 75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Muell.A.)	31
Gambar 2.2 Struktur Kimia Carbopol 940	39
Gambar 2.3 Struktur Kimia TEA	41
Gambar 5.1 Uji organoleptis Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa	69
Gambar 5.2 Hasil Uji Homogenitas	69
Gambar 6.1 Daun akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)	77
Gambar 6.2 7 Pengujian Angka Lempeng Total	103

DAFTAR LAMPIRAN

DAFTAR GRAFIK

Grafik 6.1 Faktor Terhadap Respon pH	. 92
Grafik 6.2 Faktor Terhadap Respon Viskositas	. 94
Grafik 6.3 Faktor Terhadap Respon Waktu Kecepatan Mengering	. 98

DAFTAR SINGKATAN

API : Active Pharmaceutical Ingredients

CDC : Center for Desease Control

CMC-na : Natrium Carboksimethyl Cellulosa

Cm : Centimeter

GCMS : Gas Cromatography and Mass Spectriscopy

KBM : Kadar Bunuh Minimum

KHM : Kadar Hambat Minimun

L : Liter

mL : Milliliter

mm : Millimeter

pH : Potential of Hidrogen

SLD : Simplex Lattice Design

SNI : Standart Nasional Indonesia

TEA : Triethanolamine

ETEC : enterotoksigenik Escherichia coli

EPEC : enteropathogenic Escherichia coli

EHEC : enterohaemorrhagic Escherichia coli

cAMP : cyclic adenosine monophosphate

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan sangat penting bagi makhluk hidup, oleh karena itu salah satu upaya yang dilakukan untuk menjaga kesehatan yaitu menjaga kebersihan tangan. (Johan and Kromo 2020). Tangan merupakan anggota tubuh yang sering digunakan untuk menyentuh benda-benda. Tangan yang kotor menjadi tempat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *dan Escherichia coli* sehingga dapat menyebabkan penyakit bagi manusia. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut adalah diare (Holifah *et al.*, 2020).

Diare adalah buang air besar yang lembek hingga cair dengan frekuensi sebanyak 3 kali atau lebih dalam sehari. Salah satu mikroorganisme penyebab diare yang paling umum adalah Escherichia coli atau biasa disingkat E. coli. Persyaratan E. coli dalam SNI 01-6366-200 harus negatif. Pada manusia, ada empat jenis Escherichia coli yang sering menyebabkan diare: enterotoksigenik Escherichia coli (ETEC), enteroinvasive Escherichia (ETEC), enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) dan enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC). Escherichia coli menempel pada sel usus manusia dan menghasilkan enterotoksin, yang mempengaruhi sekresi cairan saluran pencernaan melalui konsentrasi cyclic adenosine monophosphate (cAMP) atau cGMP. Di saluran pencernaan, EPEC menyebabkan atrofi dan nekrosis usus. EPEC menyebabkan

diare terutama pada anak-anak, sedangkan EHEC mengkolonisasi saluran pencernaan dan menyebabkan atrofi epitel usus (Hutasoit, 2020).

Menurut data Kemenkes RI kasus diare di Indonesia pada tahun 2020 sekitar 1.591.944 kasus, di Jawa Timur sebesar 151.878 kasus dan di Jember sebesar 6.071 kasus (Kemenkes RI 2020). Diare dapat menyebabkan demam, sakit perut, penurunan nafsu makan, kelelahan, dan penurunan berat badan. Diare menyebabkan hilangnya cairan dan elektrolit tubuh secara tiba-tiba yang menyebabkan berbagai komplikasi seperti kehilangan cairan, syok *hipovolemik*, koma akibat kerusakan organ (Lailatul, 2013). Diare merupakan penyebab kematian paling umum pada bayi dan balita. Diare dapat menyebabkan status gizi buruk serta menyebabkan kegagalan pertumbuhan, bahkan penurunan berat badan yang permanen akibat kehilangan cairan dan dehidrasi. Permasalahan yang dirasakan adalah buang air besar dengan konsistensi lunak atau cair, bahkan bisa dalam bentuk air saja dan frekuensinya lebih sering biasanya tiga kali atau lebih dalam satu hari (Arda *et al.* 2020).

Menurut Riset Kementerian Kesehatan, mencuci tangan merupakan salah satu cara untuk mencegah dan mengurangi transmisi penyakit melalui tangan, kebiasaan masyarakat Indonesia dalam melakukan cuci tangan sudah meningkat dan tercatat pada tahun 2020 rata-rata 89,65% dan di Jawa Timur 54,3%, sedangkan di kota Jember sendiri hanya 49,6% masyarakat yang melakukan cuci tangan dengan benar, salah satunya yaitu menggunakan sabun (Kemenkes RI 2020). Namun, seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi,

hand sanitizer dapat digunakan sebagai alternafit untuk membersihkan tangan tanpa menggunakan sabun dan air yang mengalir (Holifah *et al.* 2020).

Alkohol merupakan salah satu bahan aktif yang digunakan untuk hand zanitizer. Namun, penggunaan alkohol sebagai bahan aktif memiliki kekurangan salah satunya adalah alkohol dapat menyebabkan kulit menjadi kering dan iritasi karena sifat alkohol yang dapat melarutkan lemak. Penggunaan hand sanitizer berbahan aktif alkohol yang berlebih dapat berdampak buruk bagi kesehatan yaitu dapat menurunkan kekebalan tubuh (James scoot. 2022). Alkohol yang terkandung didalam hand sanitizer selain membunuh kuman dan mikroba juga dapat membunuh bakteri baik yang ada didalam tubuh. Sehingga dapat mengakibatkan tubuh menjadi lebih sering terserang penyakit. Selain itu, hand sanitizer berbasis alkohol dapat memiliki efek samping kesehatan bagi anak-anak seperti iritasi mata, muntah, iritasi mulut, dermatitis kontak iritan, batuk, dan sakit perut (Hakimi & Armstrong, 2020). Efek negatif yang ditimbulkan dari penggunaan zat kimia dapat diatasi dengan menggunakan bahan alam yang memiliki aktivitas antibakteri sebagai bahan aktif (Rahayu et al. 2016). Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antibakteri yaitu daun akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).

Daun akalifa dapat ditemui sebagai tanaman hias dan masih belum banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia. Penelitian Nurfadilah *et al* pada tahun 2021 menunjukkan adanya zona hambat ekstrak daun akalifa dengan pelarut etanol pada konsentrasi 10mg/mL terhadap bakteri *Escherichia Coli* sebesar 30,2 mm serta nilai KHM dan KBM nya yaitu pada konsentrasi 10 mg/mL sebesar 20

mg/mL dan pada konsentrasi 20 mg/mL yaitu 5 mg/mL. Oleh karena itu ekstrak etanol daun akalifa berpotensi dikembangkan menjadi sediaan *hand sanitizer*. Salah satu bentuk sediaan *hand sanitizer* yaitu *hand sanitizer* gel dan *hand sanitizer spray*.

Hand sanitizer spray merupakan pembersih tangan berbentuk spray untuk membersihkan atau menghilangkan kuman pada tangan. Kelebihan dari sediaan spray yaitu lebih aman karena tingkat kontaminasi mikroorganisme lebih rendah, waktu kontak sediaan lebih lama dibandingkan sediaan lainnya, lebih praktis dalam penggunaannyan, mudah dibersihkan dan mengurangi resiko sediaan teroksidasi oleh udara akibat membuka tutup wadah (Shafira et al. 2015).

Formulasi sediaan spray hand sanitizer terdapat beberapa komponen yaitu bahan aktif, gelling agent, alkalizing agent, pengawet, humektan dan pelarut. Untuk menghasilkan formula spray hand sanitizer yang optimum dilakukan optimasi pada gelling agent dan alkalizing agent yang dapat mempengaruhi sifat fisik sediaan yang dihasilkan. Basis gel carbopol 940 merupakan gelling agent yang banyak digunakan dalam pembuatan spray hand sanitizer, dikarenakan dapat menghasilkan sediaan yang bening, mudah larut dalam air, dan memiliki daya lekat yang tinggi (Ardiati, 2018). Pada konsentrasi 0,5%-2% carbopol 940 sebagai gelling agent menghasilkan formula yang optimal berdasarkan sifat fisika dan kimianya (Shah et al., 2020). Triethanolamine (TEA) berfungsi sebagai alkalizing agent yang digunakan untuk menetralkan keasaman carbopol 940 sehingga akan menghasilkan sediaan yang jernih dan tidak mengiritasi kulit (Tsabitah et al., 2020). Menurut Handbook Of Pharmaceutical Excipients Sixth

edition rentang konsentrasi triethanolamine (TEA) yang digunakan untuk sediaan topikal yaitu 2%-4%.

Berdasarkan uraian diatas maka dalam penelitian ini akan dibuat optimasi sediaan *spray* gel dan uji aktivitas antibakteri formula optimum sediaan *spray* gel terhadap *Escherichia Coli* dengan menggunakan bahan aktif ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) yang memiliki kandungan senyawa sebagai antibakteri. Sediaan *spray* gel yang dibuat harus memenuhi kriteria aman, stabil, efektif, dan *acceptable* sehingga dilakukan uji mutu fisik dan uji aktivitas antibakteri sediaan *spray* gel. Evaluasi pada sediaan *spray* gel terdiri dari uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji pola penyemprotan dan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia Coli*.

1.2 Rumusan Masalah

- 1. Apa saja kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ektrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*)?
- 2. Bagaimana pengaruh *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan TEA sebagai *alkalizing agent* terhadap karakteristik sifat fisik *spray* gel esktrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*)?
- 3. Berapakah konsentrasi *carbopol 940* dan TEA yang dapat menghasilkan formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*)?
- 4. Bagaimana aktivitas antibakteri formula optimum sediaan *spray* gel esktrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*)

membandingkan kontrol positif dan kontrol negatif terhadap Escherichia Coli?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui formula yang optimum dari penambahan *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan TEA sebagai *alkaling agent* dan aktivitas antibakteri *Escherichia Coli* pada formula optimum sediaan *spray* ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) sebagai antiseptik.

1.3.2 Tujuan Khusus

- Mengidentifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).
- 2. Mengidentifikasi pengaruh *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan TEA sebagai *alkalizing agent* terhadap karakteristik sifat fisik *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).
- 3. Menganalisa konsentrasi *carbopol 940* dan TEA yang dapat menghasilkan formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).
- 4. Menganalisa aktivitas antibakteri formula optimum sediaan *spray* gel esktrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) membandingkan kontrol positif dan kontrol negatif terhadap *Escherichia Coli*.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu kefarmasian sehingga dapat mengaplikasikan teori yang telah dipelajari dalam memformulasi sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa dengan *carbopol* 940 dan TEA sebagai eksipien.

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sumber informasi dan referensi sebagai bahan pertimbangan untuk formulasi *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) dengan *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan *triethanolamine* (TEA) sebagai *alkalizing agent* sehingga dapat dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya tentang formulasi sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) sebagai antiseptik dengan eksipien *carbopol 940* dan TEA yang tidak mengandung kadar alkohol.

1.5 Keasliaan Penelitian

Table 1.1 Keaslian penelitian

Peneliti	Judul	Persamaan	Perbedaan		
Rahayu, Fudholi, and Fitria 2016	Optimasi formulasi gel ekstrak daun tembakau (Nicotianatabacum) dengan variasi kadar	Formulasi sediaan dengan simplex lattice design (SLD)	- Variasi konsentrasi carbopol 940 sebagai gelling agent, TEA		

	carbopol 940 dan TEA menggunakan metode Simplex Lattice Design (SLD)		-	sebagai <i>alkaling agent</i> , pengawet tunggal <i>methylparabe</i> . Menggunakan bahan aktif ekstrak daun akalifa
Santoso and Nurcahyo 2021	Optimasi gel hand sanitizer oleum citri dengan kombinasi carbopol, lidah buaya, dan TEA menggunakan Simplex Late Design (SLD)	Formulasi sediaan dengan simplex lattice design (SLD)	-	Formulasi sediaan gel hand sanitizer dengan alkohol 70% dan tanpa pengawet. Menggunakan bahan aktif ekstrak daun akalifa
Suhesti, Rohman, and Sunarto 2022	Formulation of Gel Hand Sanitizer of Nagasari Leaf Extract (Mesua ferrea L.)	Formulasi sediaan dengan simplex lattice design (SLD)	-	Formulasi gel hand sanitizer ekstrak etanol daun nagasari dengan HPMC sebagai gelling agent. Menggunakan bahan aktif ekstrak daun akalifa

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

2.1.1 Morfologi Tanaman Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

Tumbuhan Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) merupakan tanaman

perdu dengan tinggi sekitar 3 meter dan lebar 2 meter. Tanaman ini memiliki

batang kayu tegak dengan cabang simpodial dan berwarna coklat. Terdapat bulu-

bulu halus berwarna abu-abu di ranting dan tangkai daun. Bertangkai daun

pendek, dengan dasar terbuka atau berbentuk hati dan tepian bersisik, panjang 4-

22 cm (Hutapea et al. 1993). Daun tunggal berseling, berbentuk hati, tepi

bergerigi, ujung meruncing, pangkal rata berbintik hijau, panjang 10-20 cm, lebar

2-15 cm. Akalifa memiliki bunga majemuk, berbutir, putik bertangkai, dan

berwarna ungu. Bunga jantan dan betina terpisah muncul di tanaman yang sama.

Memiliki dua kelamin yaitu bunga jantan berbentuk paku panjang yang menjuntai

ke bawah sedangkan bunga betina berbentuk paku pendek. Buah akalifa berbentuk

kotak, dengan tiga ruang, berambut dan berwarna merah. Berakar tunggang dan

berwarna cokelat. Akalifa adalah tanaman tropis dan subtropis yang tumbuh

secara alami di Vanuatu dan tumbuh di Kepulauan Pasifik yang menyukai cahaya

(Vrushabendra et al., 2007).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

Kingdom

: Plantae

Clade

: Angiospermae

Clade

: Eudicots

30

Clade : Rosids

Kelas : Dicotyledoneae

Order : Malpighiales

Famili : Euphorbiaceae

Genus : Acalypha

Spesies : Acalypha wilkesiana Muell

2.1.3 Kandungan Kimia Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)



Gambar 2.1 Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Muell.A.)

Berdasarkan dari beberapa penelitian diketahui bahwa bagian daun dari tanaman akalifa memiliki kandungan kimia sebagai berikut *alkaloid, korilagin, flavonoid, tanin, saponin, asam galat, monoterpen, seskuiterpen, triterpen, polifenol, glikosida, steroid, flobatanin, antrakuinon, dan geranin* (Adesina, *et al.*, 2000; Oladunmoye, 2006; Madziga, *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian lainnya ekstrak *etanol* tanaman akalifa dengan analisis menggunakan GCMS, mengungkapkan bahwa terdapat 12 senyawa kimia yang terdapat pada tanaman akalifa (Igwe, *et al.*, 2016). Senyawa yang melimpah diantara 12 senyawa tersebut ialah *2-etil-1 heksana* (C₈H₁₆); *asam n-*

heksadekanoat atau asam palmitat (C₁₆H₃₂O₂) dan Butana 1,4-diol (C₄H₁₀O₂) yang berpotensi sebagai obat. Senyawa lainnya ialah 3 methylene-1-vingl-1-cyclopentene, 2-vinylbicyclo hex-2-ene, acetophenone, 1,4-dimethyl benzene, styryl alcohol, 3-methyl 6-hepten-1-ol. Pada penelitian Madziga pada tahun 2010 dan Kingsley pada tahun 2013 melaporkan bahwa adanya jumlah karbohidrat, tanin dan flavonoid, flobatanin. Selain itu, mereka juga melaporkan bahwa tanaman akalifa memiliki konsentrasi ion klorida, natrium, kalium ,kalsium, besi, magnesium dan seng.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian analisis kandungan senyawa kimia ekstrak daun akalifa adalah karena daun akalifa yang digunakan berasal dari daerah yang berbeda dan metode ekstraksi. Selain metode ekstraksi yang digunakan, pelarut juga dapat mempengaruhi jenis dan jumlah metabolit sekunder yang akan didapatkan. Faktor lingkungan yang mungkin termasuk kondisi iklim, lokasi geografis juga dapat mempengaruhi jenis dan jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan (Gotep *et al.*, 2010).

2.1.4 Kegunaan Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

Hasil penelitian Lamarre and Talbot pada tahun 1989 mengatakan bahwa daun akalifa dapat digunakan sebagai pengobatan yang disebabkan oleh bakteri atau yang disebakan karena terinfeksi bakteri yaitu malaria, gangguan dermatologi, gangguan pencernaan. Hal ini dibuktikan dengan hasil penelitian Gotep pada tahun 2010 yaitu ekstrak daun akalifa pada konsentrasi 5% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Yersinia enterocolitica* dengan zona hambat 7 mm, *Escherichia coli* dengan zona hambat 10 mm, *Staphylococcus aureus*

dengan zona hambat 9 mm, Salmonella typhi dengan zona hambat 7 mm, Pseudomonas aeruginosa dengan zona hambat 6 mm, Klebsiella aerogenes dengan zona hambat 9 mm. Berdasarkan konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin tinggi daya hambat ekstrak yang ditandai dengan meningkatnya diameter zona hambat. Selain konsentrasi ekstrak, sensitifitas bakteri juga berpengaruh dalam perbedaan diameter zona hambat. Kandungan senyawa kimia dan jumlah kadar senyawa kimia juga dapat mempengaruhi aktivitas terhadap bakteri (Nurfadilah et al., 2021). Daun akalifa memiliki aktivitas antibakteri karena memiliki beberapa kandungan senyawa kimia yaitu kandungan saponin 12,85%, flavonoid 10,16%, tanin 7,14%, dan fenol 0,6% (Oluduro. 2011). Ada hubungan antara komposisi kimia tanaman dan letak geografis (Gotep et al., 2010). Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, daun akalifa mempunyai beberapa aktivitas farmakologi yaitu sebagai antibakteri, antifungi, hipokolesterolemik, antioksidan, sitoprotektif, antiemetic, hepatoprotektif, hipokolesterolemik (Ikewuchi. 2010).

2.2 Ekstraksi Daun Akalifa

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi unsur tumbuhan atau hewan dengan cara yang sesuai, di luar pengaruh sinar matahari langsung (Departemen Kesehatan RI, 1979). Menurut Farmakope Indonesia edisi kelima, ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia dengan menggunakan pelarut sisa zat atau serbuk dengan proses sedemikian rupa, memenuhi standar yang yang

sesuai, kemudian menguapkan semua atau hampir semua pelarut dan mengolah telah ditentukan (Kemenkes RI, 1979).

Ekstraksi adalah teknik pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut yang saling bercampur. Secara umum, zat terlarut yang diekstraksi tidak larut atau sedikit larut dalam satu pelarut tetapi mudah larut dalam pelarut lain (Asih, 2020). Metode ekstraksi ditentukan oleh kadar air bahan yang akan diekstraksi dan tekstur senyawa yang akan dipisahkan. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi didasarkan pada tujuan ekstraksi, seperti persiapan atau analisis, sifat komponen, sifat fisikokimia matriks, ketersediaan reagen dan peralatan, pertimbangan biaya, dan keselamatan. Metode ekstraksi yang terkenal meliputi dengan cara dingin berupa maserasi dan perkolasi dan dengan cara panas yaitu *refluks*, soxlet, digesti, infus, dekok (Depkes RI, 2000).

Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi diantaranya adalah ukuran bahan yang akan diekstrak sebaiknya memiliki luas permukaan yang besar untuk mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut, sehingga menghasilkan hasil ekstraksi yang optimal. Semakin kecil ukuran partikel, semakin besar luas bidang kontak antara bahan dan solven, serta semakin pendek jalur difusinya, yang menjadikan laju transfer massa semakin tinggi. Faktor kedua yang mempengaruhi proses ekstraksi yaitu waktu ekstraksi, semakin lama waktu ektraksi maka kontak antara pelarut dengan bahan yang diekstrak akan semakin lama sehingga dari keduanya akan terjadi pengendapan masa secara difusi sampai terjadi keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar bahan yang diekstraksi. Ekstraksi juga akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat

mengakibatkan beberapa komponen yang terdapat dalam bahan akan mengalami kerusakan. Hal tersebut dikarenakan proses ekstraksi dipengaruhi oleh suhu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut yang digunakan. Pemilihan jenis pelarut sesuai dengan prinsip kelarutan yaitu *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa yang polar sedangkan pelarut non polar akan melarutkan senyawa yang bersifat non polar pula.

Maserasi merupakan proses perendaman bahan tanaman (kasar atau bubuk) dengan pelarut dalam wadah tertutup dan didiamkan pada suhu kamar selama >3 hari dan sesekali dilakukan pengadukan dan terlindung dari cahaya. Hal ini dilakukan untuk melembutkan dan menghancurkan dinding sel tumbuhan untuk melepaskan fitokimia yang larut. Setelah 3 hari, campuran ditekan atau disaring dengan filtrasi. Dalam metode ini, pelarut yang digunakan dalam proses perendaman mempunyai peran penting. (Anjasmara et al. 2018). Pelarut yang digunakan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel tanaman yang berisi zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan proses disolusi dimana zat aktif larut dalam pelarut. Terdapat 2 metode yang dapat dilakukan pada proses maserasi, yaitu dengan maserasi kinetik yang dilakukan dengan cara rendaman diadul secara terus menerus, metode yang kedua yaitu remaserasi dimana penamabahan pelarut dilakukan secara berkala lalu ditutup kembali dan disimpan pada suhu ruang setelah dilakukan penyarian terhadap maserat pertama dan seterusnya. (Rahayu et al. 2016). Menurut Marjoni pada tahun 2016, maserasi bekerja dengan prinsip melarutkan zat aktif sesuai dengan kelarutannya dalam pelarut (misalnya kelarutan).

Keuntungan maserasi adalah bagian tanaman yang akan diekstraksi bisa berbentuk kasar dan tidak harus berbentuk serbuk halus, dalam proses pengerjaannya tidak dibutuhkan keahlian khusus, dan seperti pada proses perkolasi dan sokhletasi yaitu kehilangan pelarutnya lebih sedikit. Kerugian dari metode maserasi adalah dilakukannya pengadukan dan penyaringan, terdapat residu dan ampas, serta tidak konsistennya mutu akhir ekstrak yang dihasilkan (Endarini, 2016).

2.3 Skrining Fitokimia

Metode yang digunakan pada skrining fitokimia harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain adalah sederhana, cepat, peralatan yang sederhana, khas, dapat mendeteksi keberadaan senyawa meski dalam konsentrasi yang cukup kecil. Salah satu hal penting dalam prosedur skrining fitokimia adalah ekstraksi. Jika pemilihan pelarut hanya berdasarkan derajat pelarut untuk kelarutan senyawa yang diteliti saja maka dapat terjadi kesulitan. Hal ini dikarenakan adanya senyawa dari golongan lain yang terdapat pada tanaman yang berpengaruh terhadap proses kelarutan senyawa yang diinginkan. Tanaman memiliki kandungan yang berbeda-beda sehingga kelarutan senyawa tidak bisa ditentukan dengan pasti. Kesulitan lain yang terjadi saat proses skrining fitokimia adalah adanya hasil positif yang palsu. Komposisi campuran senyawa yang tidak terkandung didalam tanaman uji dapat memberikan hasil positif. Hal ini disebabkan oleh adanya campuran beberapa senyawa pereaksi yang digunakan sehingga menyebabkan hasil yang positif (Endarini, 2016)

Alkaloid merupakan kelompok senyawa organik yang banyak ditemukan pada bahan alam yang umum terdapat pada berbagai tumbuhan. Sifat alkaloid adalah mengandung atom N yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Lebih dari 5000 alkaloid telah ditemukan memiliki beberapa aktivitas fisiologis. Alkaloid dapat ditemukan di seluruh bagian tanaman, namun kandungan alkaloidnya kurang dari 1%. (Endarini, 2016). Alkaloid dapat mengganggu peptidoglikan sebagai komponen dinding sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk sempurna dan berakhir dengan kematian sel atau lisis. (Manosalva et al., 2016).

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid di alam juga banyak ditemukan dalam bentuk glikosidanya. Senyawa ini berwarna merah, ungu, biru dan beberapa pewarna kuning yang terdapat pada tumbuhan. Secara struktural, ada beberapa jenis flavonoid yang bergantung pada derajat oksidasi rantai propana, yaitu chalcone, flavan, flavanol (catechin), flavanone, flavanonol, flavon, flavanone, anthocyanidin, auras (Endarini, 2016). Flavonoid dapat merusak permeabilitas dinding sel bakteri karena membentuk senyawa kompleks dengan protein dan memiliki kemampuan menghambat metabolisme bakteri dengan cara menghambat penggunaan oksigen untuk kematian sel (Ozçelik B et al. 2011).

Tanin tersebar luas pada tanaman vaskular, dan pada angiosperma terutama pada jaringan kayu. Secara kimiawi ada dua jenis *tanin* yang tersebar merata pada tumbuhan. Uji skrining *tanin* dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu uji gelatin FeCl3 (Endarini, 2016)

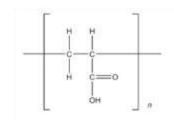
Steroid adalah sekelompok senyawa alami yang struktur utamanya terdiri dari 17 karbon, membentuk struktur 1,2-siklopentenaperhidrofenantrena. Uji skrining untuk terpenoid dan steroid menggunakan reagen Lieberman-Burchard.

2.4 Gelling Agent

Gelling agent adalah gom alami atau sintetik, resin atau hidrokoloid lainnya yang digunakan dalam formulasi gel untuk mempertahankan bahan cair dan padat dalam bentuk gel yang seragam. Bahan berbasis polisakarida atau bahan berbasis protein merupakan jenis bahan yang biasa digunakan sebagai bahan pembentuk gel. Beberapa contoh pembentuk gel adalah CMC-Na, metilselulosa, asam alginat, natrium alginat, kalium alginat, kalsium alginat, agar, karagenan, pektin dan gelatin (Raton et al., 1993). Sistem semi-padat yang terdiri dari sistem terdispersi dari partikel anorganik besar dan kecil yang teradsorpsi dalam cairan (Ansel, 2008). Agen pembentuk gel memiliki komponen polimer dengan berat molekul tinggi yang bergabung dengan molekul dan gulungan molekul polimer untuk membentuk sifat kental dan gel yang diinginkan. Molekul polimer akan diikat oleh ikatan silang untuk membentuk struktur jaringan rangkap tiga ukuran molekul polimer dalam jaringan. Bahan polisakarida alami peka terhadap tingkat pertumbuhan mikroba dalam pra-formulasi formulasi gel, terutama pada agen pembentuk gel. Oleh karena itu, penambahan bahan pengawet diperlukan untuk mencegah kontaminasi akibat mikroba dan hilangnya sifat gel.

Carbopol 940 adalah zat koloid hidrofilik berwarna putih, halus, asam, mudah larut dalam air hangat, etanol dan gliserin, tidak beracun dan tidak

mengiritasi kulit, merupakan zat pembentuk gel yang kuat, yang dapat meningkatkan viskositas sediaan kosmetik dan sediaan farmasi lainnya. Viskositas *carbopol* bergantung pada penambahan jumlah agen penetral atau pH. Penentuan viskositas *carbopol* 940 dapat dilakukan dengan menambahkan alkohol pada *carbopol* 940. Agen penetral yang ditambahkan dapat berupa TEA. *Carbopol* 940 digunakan dalam agen pembentuk gel pada nilai pH optimum 6 – 11 pada konsentrasi dosis sama dengan 0,5 – 2,0%. *Carbopol* 940 memiliki titik lebur 260°C, pH = 2,5–4,0 untuk dispersi berair 0,2% b/v, pH = 2,5–3,0 untuk *Acrypol* 1% b/v, dispersi berair dapat mengembang dalam air dan *gliserin* dan, setelah netralisasi, dalam *etanol* (95%). *Carbopol* 940 tidak larut tetapi hanya membengkak ke tingkat yang luar biasa, karena mereka tiga dimensi mikrogel ikatan silang (Shah *et al.* 2020).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Carbopol 940

Carbopol 940 merupakan salah satu gelling agent yang sering digunakan. Gelling agent (basis) harus bersifat inert, aman serta tidak reaktif terhadap komponen lainnya. Pada penggunaan gelling agent karakteristiknya harus disesuaikan terhadap bentuk sediaanya. Carbopol 940 dipilih karena warna dasarnya bening dan transparan, tekstur lebih baik dari CMC-Na, stabilitas lebih baik karena cepat mengikat air, melepaskan cairan lambat, memiliki kekentalan

terbaik, tidak mengiritasi kulit, memiliki sifat fisik terbaik. Stabilitas formulasi gel konsentrasi *gelling agent carbopol 940* adalah 0,5% (Shah *et al.* 2020).

Carbopol 940 adalah bahan higroskopis yang stabil yang dapat dipanaskan pada suhu di bawah 104,8°C hingga 2 jam tanpa memengaruhi efisiensi penebalan. Namun, paparan suhu yang berlebihan dapat mengakibatkan perubahan warna dan mengurangi stabilitas. Penyimpanan carbopol 940 pada tempat kedap udara, tahan korosi, wadah dan terlindung dari kelembaban. Penggunaan kaca, plastik, atau wadah berlapis resin direkomendasikan untuk penyimpanan formulasi yang mengandung karbomer (Shah et al. 2020).

2.5 Alkalizing Agent

Alkalizing agent adalah zat yang digunakan sebaga zat pengental dalam formulasi, meningkatkan penetrasi obat melalui kulit. Penggunaan alkalizing agent meningkatkan penyebaran dan penetrasi obat kedalam kulit, menghasilkan formula dengan adhesi yang baik dan penetrasi obat yang lebih baik daripada tidak menggunakan alkalizing agent (Paye *et al.* 2006).

Rumus molekul TEA (*triethanolamine*) adalah C₆H₁₅NO₃ berat molekul 149,19 g/ml dan pH 10,5, titik lebur TEA adalah 20-22°C. TEA adalah cairan bening, kuning, kental yang tidak berwarnna dan baunya sedikit seperti amonia. Tidak larut dalam aseton, metanol, dan air, *benzene*, larut dalam *kloroform* (Shah *et al.* 2020).

Gambar 2.3 Struktur Kimia TEA

TEA digunakan sebagai *emulsifying agent* atau *alkalizing agent* dengan stabilitas TEA mungkin berubah menjadi coklat saat terpapar udara cahaya. Tingkat 85% TEA cenderung stratifikasi di bawah 158°C, homogenitas dapat dipulihkan dengan pemanasan dan pencampuran sebelum digunakan. Harus disimpan dalam wadah kedap udara yang terlindungi dari cahaya, di tempat sejuk dan kering. Kadar penggunaan TEA adalah 2%-4% (Shah *et al.* 2020).

2.6 Tinjauan Tentang Spray Hand Sanitizer

Hand sanitizer merupakan salah satu produk pembersih tangan dalam bentuk cairan atau gel yang mengandung zat antiseptik atau antibakteri, digunakan untuk mencuci tangan tanpa harus membilasnya dengan air (Fauziyah. 2020). Hand sanitizer juga dikenal dengan detergen sintentik cair pembersih tangan, merupakan sediaan pembersih yang terbuat dari bahan aktif detergen sintetik dengan atau tanpa penambahan zat lain yang tidak menimbulkan iritasi pada kulit. Hand sanitizer berfungsi dalam menghambat hingga membunuh bakteri (Asih.2020). Menurut CDC (Center for Disease Control), hand sanitizer terbagi menjadi dua yaitu mengandung alkohol dan tidak mengandung alkohol.

Hand sanitizer adalah produk yang efektif, praktis, ekonomis dan efisien, biasa digunakan untuk membersihkan tangan tanpa menggunakan sabun dan air sehingga cepat kering ketika digunakan (Johan & Kromo, 2020). Hand sanitizer dapat membunuh bakteri dan virus lebih baik daripada sabun dan air. Jumlah bakteri yang ada pada kulit manusia cenderung dapat dikurangi menggunakan hand sanitizer daripada hanya mencuci tangan dengan sabun. Hand sanitizer dapat meningkatkan efektivitas dalam membunuh virus dan bakteri karena kandungan airnya yang sedikit. Hand sanitizer juga dirancang untuk membunuh kuman dan mikroorganisme berbahaya sehingga aman diaplikasikan pada kulit tangan jika dilakukan dengan benar dan tidak berlebihan. Salah satu bahan aktif yang biasa digunakan untuk hand sanitizer yaitu alkohol (Rahayu et al. 2016).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Troy pada tahun 2002 mengatakan bahwa *Spray* gel berdasarkan pada dua istilah, yaitu istilah gel atau hidrogel yang merupakan suatu sistem berbasis fase berair dengan setidaknya 10% sampai 90% dari berat sediaan, dan istilah *Spray* atau semprot merupakan suatu komposisi berkabut yang terdiri dalam bentuk tetesan cairan berukuran kecil atau besar yang diterapkan menggunakan aplikator, seperti aerosol atau pompa semprot (Kamishita *et al.* 1992).

Formulasi sediaan *spray* dapat mengandung obat yang larut maupun tidak larut dalam air. Dalam memformulasikan sediaan *spray* yang terdapat obat yang tidak larut dalam air, dengan cara mendispersikan zat aktif terlebih dahulu dalam pelarut organik atau pelarut yang dapat melarutkan zat aktif tersebut, namun pelarut organik yang digunakan harus dapat larut dalam air (*water-soluble organic solvent*), seperti alkohol dengan rumus molekul rendah (misal etanol dan

isopropanol), dan golongan glikol (*propilen glikol*, 1-2 butilen glikol, polietilen glikol dengan berat molekul 300-500) (Kamishita et al. 1992).

Pilihan polimer dan plasticizer dalam formulasi semprot merupakan faktor-faktor penting penentu keberhasilan formula untuk menghasilkan sebuah film kontineu, elastis, mudah kering dan tidak lengket (Shafira *et al.* 2015). Viskositas sediaan ini harus cukup rendah agar bisa disemprotkan dengan botol sempto. Beberapa polimer digunakan sebagai gel semprot dasar seperti *hidroksipropil metilselulosa, hidroksipropil selulosa, polivinil alkohol, gelatin, natrium alginat,* dan *carbopol*. Menurut hasil penelitian Kresnawati pada tahun 2022 menunjukan bahwa viskositas untuk basis *spray* berkisar dari 200-300 cPs, dimana distribusi ukuran partikel sediaan *spray* ketika disemprotkan adalah lebih dari 80% serta mempunyai daya sebar yang bagus (Kresnawati *et al.* 2022).

Spray hand sanitizer merupakan bentuk sediaan semprot antikuman atau antibakteri yang praktis berupa cairan antiseptik, pemakaiannya dengan cara disemprotkan pada telapak tangan lalu diratakan pada permukaan tangan kecuali permukaan yang terluka. Pada umumnya, bahan antiseptik yang digunakan dalam formula sediaan adalah dari golongan alkohol (etanol, propanol, isopropanol) dengan konsentrasi kurang lebih 50%-70% dan jenis desinfektan lain seperti klorhesidin dan triklosan (Kurnia. 2020). Hasil penelitian Aswir and Misbah pada tahun 2018 menjelaskan bahwa hand sanitizer berbentuk cair mampu menurunkan angka kuman tangan lebih banyak dibandingkan dengan gel. Selain itu, hand sanitizer berbentuk cair lebih cepat kering dan tidak lengket jika digunakan

2.7 Uji Mutu Fisik Sediaan

Uji organoleptis dilakukan unutk mengamati kestabilan fisik sediaan dengan mengamati perubahan bentuk, warna dan bau yang mungkin terjadi selama penyimpanan. Bau untuk mengidentifikasi aroma atau bau sediaan dengan cara mencium aroma sediaan, warna untuk menentukan warna dari sediaan, bentuk untuk menentukan bentuk sediaa, kekentalan dilakukan dengan dirasakan konsistensi dari sediaan (Prayoga and Mujtahid 2020).

Uji homogenitas bertujuan untuk melihat dan mengetahui tercampurnya bahan-bahan sediaan. Prinsip dari uji homogenitas yaitu sebagian sampel diamati pada *objek glass* (Tantiningrum 2019). Uji homogenitas ini penting karena sangat mempengaruhi keefektifan formula *spray* gel *hand sanitizer*. Jika formulasi *spray* gel *hand sanitizer* homomgen, bahan aktif dapat dianggap homomgen atau identik ketika digunakan (Y.P.M and Azizah 2021)

Uji pH dilakukan untuk mengukur pH (derajat keasaman) sediaan dan untuk menguji apakah sediaan sudah memenuhi persyarat pH berdasarkan kondisi pH kulit. Syaratan hasil uji pH adalah kisaran pH yang baik untuk sediaan *spray hand sanitizer* adalah antara 4,5-7,0 (Kresnawati *et al.* 2022).

Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan alat viscometer Cup and Bob. Viskositas dibaca pada skala dari rotor yang digunakan. Satuan yang digunakan menurut JLS 28809 standar viskositas yang telah dikalibrasi adalah desipaskal-second (d Pas). Tujuan uji viskositas dilakukan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan (Cahyaningsih, 2018). Persyaratan viskositas yang baik untuk spray hand sanitizer berada di kisaran 200-300 cPs (Kresnawati et al. 2022)

Uji pola penyemprotan dilakukan secara visual dengan *stopwatch dan penggaris* yang disemprotkan pada mika plastik dengan beberapa jarak. Uji pola penyemprotak dilakukan untuk mengetahui diameter pola penyemrpotan, banyaknya sediaan yang keluar (gram) dan kecepatan waktu mengering. Definisi kering adalah sediaan tersebut tidak lengket, tidak basah, tidak ada airnya lagi. Uji pola penyemprotan dipengarui oleh konsentrasi *gelling agent* yang digunakan, tekanan dari penyemprotan, jarak penyemrpotan dan viskositas sediaan. Selain itu, ekstrak juga dapat mempengaruhi proses penguapan semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin lama waktu mengering sediaan (Ariani & Niah, 2020).

2.8 Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Angka lempeng total adalah jumlah mikroba aerob mesofilik per gram atau per milliliter yang ditentukan melalui metode standart. Metode yang sering digunakan untuk uji angka lempeng total yaitu hitung cawan. Prinsip dari metode hitung cawan adalah sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, kemudian akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan kemudian dihitung tanpa menggunakan mikroskop. Kelebihan dari metode hitung cawan yaitu sensitive untuk menghitung mikroba, karena hanya sel yang masih hidup yang dihitung, ada beberapa jenis mikroba yang dapat dihitung sekaligus, serta dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba, karena koloni yag terbentuk mungkin berasal dari mikroba yang mempunyai penampakan spesifik. Sedangkan kekurangan dari penggunakan metode hitung cawan yaitu hasil perhitungan yang tidka menunjukan jumlah sel mikroba yang sebenarnya,

dapat menghasilkan nilai yang berbeda karna medium dan kondisi inkubasi yang berbeda, membutuhkan persiapan dan waktu inkubasi yang lama hingga pertumbuhan koloni dapat dihitung (Waluyo, 2016).

Metode hitung cawan dibedakan dibedakan atas dua cara, yaitu metode tuang (pour plate) dan metode permukaan (spread plate). Metode pour plate biasanya digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme dalam sampel campuran, yang ditambhan kedalam media agar cair sebelum media memadat. Sehingga proses ini menghasilkan koloni yang tersebar merata di selururh media padat. Sedangkan metode spread plate biasanya digunakan untuk memisahkan mikroorganisme yang terkandung dalam jumlah volume sampel yang kecil, sehingga menghasilkan pembentukan koloni diskrit yang terdistribusi secara merata di seluruh permukaan dan dapat mempermudah jumlah koloni yang tumbuh. Perhitungan dilakukan pada cawan petri yang memiliki jumlah koloni 25-250 bakteri (Rahayu dan Nurwitri, 2019).

2.9 Bakteri Escherichia coli

Escherichia coli atau biasa disingkat E. coli adalah bakteri yang banyak ditemukan pada manusia dan hewan berdarah panas, terutama pada saluran pencernaan. Bakteri ini akan menjadi patogen apabila jumlahnya meningkat pada saluran pencernaan atau apabila bakteri ini berada diluar usus (Sanjaya, 2013). Escherichia coli adalah keluarga dari Enterobacteriaceae. Sel berbentuk variasi dari seperti cocus hingga membentuk sepanjang ukuran filamentous. Tidak ditemukan spora. Escherichia coli adalah basil Gram-negatif. Sel dapat hidup

sendiri-sendiri, berpasangan, dalam rantai pendek, biasanya tanpa kista, dan suhu optimum pertumbuhan adalah 37°C. Bakteri mikrobiologi yang diuji antara lain *E.coli* yang dapat mempengaruhi kesehatan yang dapat menyebabkan penyakit diare dan menghasilkan racun yang melemahkan dinding usus kecil. Selain itu, bakteri ini juga lebih tahan dari patogen dan lebih mudah diisolasi dan tumbuh. *E.coli* dapat tahan berbulan-bulan pada tanah dan di dalam air, tetapi dapat di matikan dengan pemanasan 60°C selama 20 menit. Namun seringkali menyebabkan infeksi jika jumlahnya terlalu banyak. Penyakit yang ditimbulkan dari tercemarnya bakteri ini yaitu pneumonia, infeksi saluran kemih, dan infeksi luka terutama di dalam perut (Suparyanto 2015 dan Rosad 2020).

2.10 Simplex Lattice Design (SLD)

Optimasi merupakan salah satu metode eksperimental yang diguanakn untuk membantu dalam mempersingkat waktu suatu percobaan. Sifat formulasi obat dapat dioptimalkan dengan menggunakan metode Simplex Lattice Design (SLD). Simplex Lattice Design merupakan suatu metode optimasi formula dengan jumlah total bahan yang dipertimbangkan harus konstan dan sama. Bahan yang dioptimalkan kemudian dicampur dalam proporsi yang berbeda untuk memperoleh produk akhir. Tujuan penggunaan metode Simplex Lattice Design adalah untuk menentukan distribusi gelling agent dan alkalizing agent untuk formulasi spray gel sesuai parameternya. Keuntungan menggunakan metode ini adalah sederhana, cepat dan praktis. Selain itu, metode ini dapat digunakan untuk menentukan faktor mana yang signifikan dan lebih dominan dalam respon.

48

Metode ini didasarkan pada 2 variabel independen (A dan B). Dengan

pendekatan ini, konsentrasi dipilih dan respon yang dihasilkan diamati. Respon

yang diperoleh harus mendekati target yang telah ditentukan sebelumnya.

Persamaan empiris digunakan untuk menunjukkan pola respons di wilayah

simpleks. Formulasi optimum dapat ditentukan dengan melihat nilai Y dari

analisis data persentase efektivitas masing-masing spray gel menggunakan

persamaan:

$$Y = a (A) + b (B)$$
(Persamaan 1)

Keterangan:

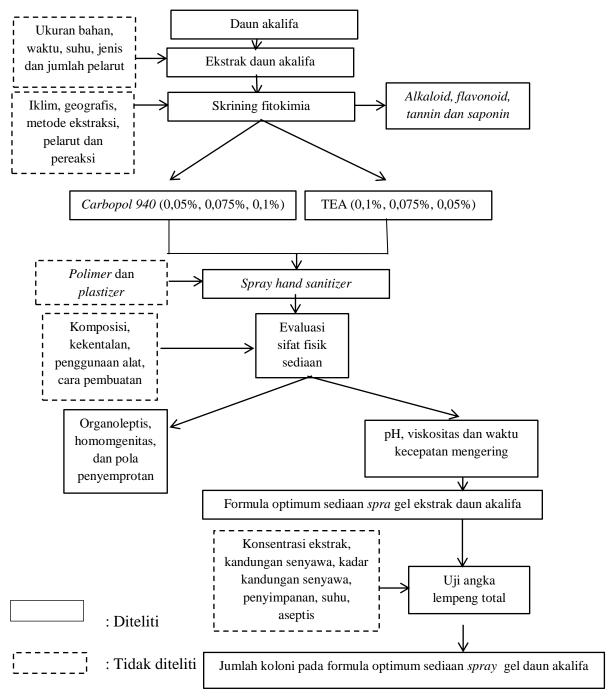
Y = Respon Efektivitas

a, b = Koefisien

(A), (B) = konsentrasi (proporsi) bahan A dan B (Yohana et al. 2020).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual *Spray* Gel Ekstrak Daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

3.2 Hipotesis

Hipotesis berasal dari bahasa Yunani *hypo* yang berarti di bawah dan *thesis* yang berarti pendirian, pendapat yang ditegakkan, kepastian. Hipotesis adalah suatu pernyataan sementara yang diajukan untuk memecahkan suatu masalah, atau untuk menerangkan suatu gejala yang kebenarannya harus diuji secara empiris. Hipotesis digunakan untuk menentukan arah penelitian, identifikasi variable yang digunakan, menentukan desain penelitian, dan petunjuk jenis analisis statistik yang digunakan. Ciri-ciri hipotesis yang baik yaitu hipotesis harus menyatakn hubungan, sesuai dengan fakta, berhubungan dengan ilmu, dan sesuai dengan tumbuhnya ilmu pengetahuan, dapat diuji, sederhana, dan bisa menerangkan fakta (Sadarwan. 2022).

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hipotesis kerja dan hipotesis statistik. Hipotesis kerja yaitu hipotesis yang sebenarnya merupakan sintesis dari hasil kajian teoritis, disingkat H1 atau H3. Hipotesis statistic atau biasa disebut hipotesis nol adalah lawan dari hipotesis kerja, biasa disingkat dengan H0 (Sarwono. 2020).

Berdasarkan permasalahan, tujuan penelitian, penelitian terdahulu, kajian teoritis, dan kerangka pikir sebagai kaitan keseluruhan, maka dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

- 1. H0: Tidak terdapat kandungan senyawa kimia *flavonoid, tannin* dan *saponin* pada ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).
 - H1: Terdapat kandungan senyawa kimia *flavonoid, tannin* dan *saponin* pada ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).

- 2. H0: Tidak terdapat pengaruh *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan TEA sebagai *alkalizing agent* terhadap karakteristik sifat fisik *spray* gel esktrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*)
 - H1: Carbopol 940 sebagai gelling agent dan TEA sebagai alkalizing agent berpengaruh terhadap karakteristik sifat fisik dan aktivitas antibakteri spray gel esktrak daun akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).
- 3. H0: Tidak terdapat konsentrasi *carbopol 940* dan TEA yang menghasilkan formula optimum sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) yang menghasilkan *desirability* 1.
 - H1 : Terdapat konsentrasi *carbopol 940* dan TEA yang menghasilkan formula optimum sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa yang memiliki *desirabilily* 1 .
- **4.** H0 : Tidak terdapat aktivitas antibakteri formula optimum sediaan *spray* gel esktrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) membandingkan kontrol positif dan kontrol negatif terhadap *Escherichia Coli*.
 - H1: Terdapat aktivitas antibakteri formula optimum sediaan *spray* gel esktrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) membandingkan kontrol positif dan kontrol negatif terhadap *Escherichia Coli*.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan desain penelitian yaitu *Simplex Lattice Design* (SLD).

4.2 Populasi Dan Sampel

Populasi dan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *ekstrak* daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) dengan penambahan *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan TEA sebagai *alkalizing agent* dalam sediaan *spray* gel.

4.3 Varibel Penelitian

a. Variable bebas (*variable independent*)

Variable bebas pada penelitian ini yaitu kandungan senyawa ekstrak daun akalifa serta konsentrasi *carbopol 940* sebagai *gelling agent*, konsentrasi TEA sebagai *alkalizing agent* dan konsentrasi ekstrak daun akalifa.

b. Variable terikat (*variable dependent*)

Variable terikat pada penelitian ini yaitu sifat fisik sediaan *spray* ekstrak daun akalifa, formula optimum sediaan *spray* ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*), dan aktivitas antibakteri pada formula optimum sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa terhadap *Escherichia Coli*.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember, Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Biologi Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksakan pada bulan Maret-Mei 2023.

4.6 Definisi Operasional

Table 4.1 Definisi Operasional

Variable	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Kandungan senyawa fitokimia ekstrak daun akalifa	Senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun akalifa yang memiliki aktivitas antibakteri	Skrining fitokimia	pereaksi mayer, pereaksi dragendorf, HCL 2N, serbuk Magnesium (teknis), HCL pekat, besi (III) klorida 10%	Nominal	Alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin
Konsentrasi carbopol 940 dan TEA	Jumlah konsentrasi dari Carbopol 940 0,05%, 0,075% dan 0,1% sedangkan TEA 0,1%, 0,075 dan 0,05%	Dari Jumlah total sediaan sebayak 100 gram dihitung carbopol dan TEA sesuai jumlah prosentase masing-masing bahan.	Timbangan analitik	Interval	%

Sifat fisik sediaan <i>spray</i> gel esktrak daun akalifa	Parameter yang digunakan untuk mengukur kualitas sediaan spray gel esktrak daun akalifa yang telah diformulasikan	Organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, dan pola penyemprotan	Visual, object glass, pH meter, Viscometer rion, botol semprot100 mL, stopwatch	Interval	Memenuhi persyarata n evaluasi karakterist ik sedian spray
Formula optimum spray gel ekstrak daun akalifa	Konsentrasi Carbopol 940 dan TEA menghasilkan sifat fisik yang optimal.	Hasil data nilai pH, Viskositas, dan pola penyemprotan	software design Expert versi 13.	Interval	%
Aktivitas antibakteri formula optimum sediaan <i>spray</i> gel ekstrak daun akalifa	Jumlah mikroba aerob mesofilik per gram atau per mililiter yang terdapat pada formula optimum sediaan <i>spray</i> gel ekstrak daun akalifa	Metode uji angka lempeng total dengan metode hitung cawan menggunakan alat hitung coloni counter	Coloni counter	Interval	<1x10 ⁷ CFU/mL

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Alat Dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah oven (Memmert), cawan porselen (Iwaki), kaca arloji stangkup, gelas ukur (Iwaki), erlenmeyer (Iwaki), beakerglass (Iwaki), corong kaca 75mm (pyrex), waterbath (Memert), blender, neraca analitik (Ohaus), incubator, tabung reaksi, mortir, stamper, rak tabung reaksi, ayakan mesh no. 60, plat tetes, viskometer rion vt-06,

object glass, Uni pH Testa, lempeng kaca, cawan petri, autoklaf, LAF, vortex, Lglas, mikropipet, tip miropipet, botol semprot 100mL, hot plate stirrer, bunsen, Stopwatch, coloni counter, mika plastik, penggaris.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antar lain adalah daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*), etanol 70% teknis (CV Makmur Sejati Jember), *carbopol 940* teknis (CV Nurra Gemilang), *triethanolamine* (TEA) teknis (CV Aloin Labora), gliserin teknis (CV Nurra Gemilang), *methylparaben* teknis (CV Nurra Gemilang), aquadest teknis (CV Makmur Sejati Jember), pereaksi *mayer*, pereaksi *dragendorf*, HCL 2N, serbuk *Magnesium*, HCL pekat, besi (III) klorida 10%, alkohol 70%, Barium Clorida 1% teknis (CV Makmur Sejati Jember).

4.7.2 Mengidentifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Ekstrak Daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).

4.7.2.1 Determinasi

Determinasi tanaman daun akalifa dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa semua bagian dari tanaman. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut benarbenar spesies dari wilkesiana.

4.7.2.2 Pembuatan Simplisia Dan Serbuk

Daun akalifa dikumpulkan dari Kelurahan Baratan, Kecamatan Patrang, Kabupaten Jember. Daun dicuci dengan air suling dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C (Gotep *et al.*, 2010). Daun kering dihaluskan dengan cara simplisia yang sudah dikeringkan dihaluskan dengan suatu alat tanpa merusak dan

tanpa kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak untuk mendpatkan serbuk yang halus. Kehalusan serbuk simplisia yang akan diekstraksu adalah simplisia halus dengan nomor saringan pengayak 60 (Depkes RI, 1995).

4.7.2.3 Ekstraksi

Pembuatan ekstrak daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) dibuat dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ditimbang serbuk simplisia daun akalifa sebanyak 500 gram di maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1500 mL. perendaman dilakukan selama Maserasi 1x24 jam. Maserat yang dihasilkan ditampung, residunya dilakukan perendaman atau remaserasi 2 kali pengulangan. Gabungan hasil maserat ditampung lalu diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental daun akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*) (Oluduro 2011).

4.7.2.4 Skrining Fitokimia

a. Alkaloid

Sebanyak 2 gram ekstrak ditambahkan dengan 5 mL HCl 2N lalu dipanaskan diatas penangas air lalu didinginkan. Setelah dingin, larutan disaring kemudian larutan dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung ke-1 Blanko. Tabung ke-2 ditambahkan 3 tetes pereaksi *dragendorf*. Tabung ke-3 ditambahkan 3 tetes pereaksi *mayer* (melalui dinding tabung). Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan kuning pada tabung ketiga menunjukan adanya *alkaloid* (La Elisabeth, 2020).

b. Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol daun akalifa kental dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan air panas, lalu disaring. Filtrat ditambahkan serbuk Magnesium 0,1 gram dan 5 tetes larutan HCl pekat. Apabila terjadi perubahan warna menjadi jingga maka ekstrak positif mengandung *flavonoid* (Pujiastuti, 2021).

c. Tannin

Sebanyak 1 mL larutan uji ditambahkan dengan larutan besi (III) klorida 1% jika warnanya menunjukan hitam kehijauan maka mengandung tannin (La Elisabeth, 2020).

d. Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak kental daun akalifa dilarutkan dengan 10 mL aquadest larutan uji dipanaskan kemudian dikocok selama 10 detik akan timbul busa. Busa akan bertahan selama 10 menit kemudian diteteskan dengan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (La Elisabeth, 2020).

4.7.3 Mengidentifikasi Pengaruh Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Dan TEA Sebagai Alkalizing Agent Terhadap Karakteristik Sifat Fisik Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).

4.7.3.1 Formulasi Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

a. Rancangan metode Simplex Lattice Design (SLD)

Penggunaan bahan *gelling agent* dan *alkalizing agent* yang dipilih sebagai dua faktor dalam penelitian ini yaitu *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan TEA sebagai *alkalizing agent*. Komposisi dari *gelling agent* dan *alkalizing agent* tersebut didasarkan pada rancangan metode *Simplex Lattice Design* yang dapat ditunjukkan pada tabel 4.2 dibawah ini.

Table 4.2 Rancangan Formula Simplex Lattice Design

Formula	Porposi A	Porposi B	
F1	0,05	0,1	
F2	0,075	0,075	
F3	0,1	0,05	

Keterangan : A (konsentrasi *carbopol 940*) dan B (konsentrasi TEA)

b. Penentuan formula

Formula yang ditentukan dalam penelitian ini adalah untuk memperoleh sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa yang baik. Penggunaan pendekatan metode *simplex lattice design* dilakukan dengan membuat tiga formulasi dengan konsentrasi pada *gelling agent* dan *alkalizing agent* yaitu *carbopol 940* dan TEA. Berikut merupakan orientasi formulasi sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa pada Tabel 4.3 dibawah ini

Table 4.3 Formula Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa

Bahan	Fungsi bahan	Konsentrasi (%)		
Danan	Fungsi bahan	F1	F2	F 3
Ekstrak daun akalifa	Bahan aktif	2	2	2
Carbopol 940	Gelling agent	0,05	0,075	0,1
Triethanolamine (TEA)	Alkalizing agent	0,1	0,075	0,05
Gliserin	Humektan	5	5	5
Methylparaben	Pengawet	0,1	0,1	0,1
Aquadest	Pelarut	86,8	86,8	86,8

4.7.3.2 Pembuatan Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

Pembuatan spray gel dilakukan dengan mendispersikan carbopol 940 dengan aquadest dingin dan ditambahkan aquadest panas hingga carbopol 940 terdispersi seluruhnya. Selanjutnya TEA ditambahkan kedalam carbopol 940 diaduk sampai homogen dan terbentuk massa spray gel yang transparan. Methylparaben dilarutkan dengan aquadest panas sebanyak 15 mL diaduk sampai larut, lalu ditambahkan kedalam massa spray gel dan diaduk sampai homogen. Gliserin dan ekstrak daun akalifa ditambahkan kedalam masa spray gel diaduk sampai homogen. Ditambahkan sisa aquadest sambil digerus ad homogen. Setelah homogen spray gel dimasukkan kedalam wadah dan dilakukan evaluasi (Ofori et al., 2020).

4.7.3.3 Evaluasi Fisik Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

a. Uji Organoleptis

Uji organileptis *spray* gel meliputi pengujian bentuk, warna, bau, dan konsistensi *spray* gel untuk mengetahui kondisi fisik (Ismulyani 2020). *Spray* gel yang dihasilkan harus memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan, dan konsistensi yang cukup agar nyaman digunakan (Fery Yuniarto *et al.* 2014).

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas *spray* gel dilakukan dengan menimbang 0,5 gram kemudian diletakkan diatas *object glass* dan ditutup dengan *coverglass* sehingga membentuk permukaan yang rata kemudian diamati apakah ada partikel yang sedikit lebih besar dari yang lain dibawa cahaya. Sediaan harus memiliki komposisi yang seragam, tidak ada partikel kasar dan warna yang seragam (Depkes RI, 1995).

c. Uji Pola Penyemprotan

1. Diameter pola penyemprotan

Evaluasi diameter pola penyemprotan dilakukan secara visual. Pengujian dilakukan dengan cara menyemprotkan sekali semprot sediaan *spray* gel pada selembar mika plastik. Uji pola penyemrpotan dilakukan dengan beberapa jarak yaitu 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm. setelah disemprotkan pola yang terbentuk pada mika

plastik diukur diamternya menggunakan penggaris. Pengujian setiap jarat dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

2. Bobot berat sediaan yang keluar

Evaluasi bobot berat sediaan yang keluar ketika penyemprotan dilakukan secara visual. Pengujian dilakukan dengan cara menyemprotkan sekali semprot sediaan *spray* gel pada selembar mika plastik yang telah ditimbang. Uji pola penyemrpotan dilakukan dengan beberapa jarak yaitu 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm. Setelah sediaan disemprotkan kemudian ditimbang, pengujian setiap jarak dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Pada pengujian ini yang diamati banyaknya sediaan yang keluar (gram). Pola penyemprotan yang baik yaitu menyemprot keluar seragam dalam bentuk partikel kecil, menyebar merata dan cepat mengering (Suyudi, 2014).

d. Uji pH

Pemeriksaan ini dilakukan dengan pH meter. Alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan *buffer* pH 4 dan pH 7. Elektroda dibilas dengan air suling dan dikeringkan. Pengukuran pH dilakukan dengan cara timbang sediaan sebanyak 1 gram sediaan, ditambahkan aquadest sebanyak 10 mL ke dalam wadah yang sesuai. Dicelupkan elektroda ke dalam wadah, angka yang tertera pada pH meter merupakan nilai pH dari *spray gel* (Depkes RI, 1995). Rentang pH yang baik pada sediaan *spray* gel adalah 4,5 – 7,0.

e. Uji Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan dengan menggunakan alat viscometer rion. Pengujian viskositas dilakukan dengan cara sediaan spray gel dimasukkan ke dalam wadah viscometer sampai spindel terendam. Kecepatan spindel yang akan digunakan diatur lalu viscometer dijalankan. Nilai viskositas dilihat menggunakan viscometer rheosys (Maulidya et al. 2020). Rentang viskositas yang diinginkan yaitu 200 cPs-300 cPs (Martin et al., 1993).

f. Uji Waktu Kecepatan Mengering

Evaluasi waktu kecepatan mengering dilakukan secara visual. Pengujian dilakukan dengan cara menyemprotkan sekali semprot sediaan *spray* gel pada mika plastik, kemudian dihitung waktu yang dibutuhkan oleh *spray* gel untuk mengering dengan menggunakan stopwatch (Fauziyah, 2020).

4.7.4 Menganalisa Konsentrasi *Carbopol 940* Dan TEA Yang Dapat Menghasilkan Formula Optimum *Spray* Gel Ekstrak Daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).

4.7.4.1 Penentuan Formula Optimum

Penentuan formula optimum dilakukan dengan metode *Simplex Lattice Design* (SLD). Metode ini disesuaikan dengan tahap awal mengoptimasi formula sediaan yang memiliki perbedaan jumlah total bahan yang kemudian dibuat sama dalam satu bagian. Respon (Y) yang berperan dalam mengetahui hasil evaluasi

dari *spray hand sanitizer* yaitu pH, viskositas, dan waktu kecepatan mengering. Faktor yang digunakan adalah proposri *carbopol 940* dan TEA.

Hasil analisis yang didapat berupa persamaan empiris dari *software design*Expert versi 11. Persamaan umum dari SLD yaitu sebagai berikut:

$$Y = Ba(A) + Bb(B)...$$
 Persamaan 1

Keterangan:

Y : Respon hasil (sifat yang diamati)

Ba, Bb : Koefisien

A, B : Proporsi (komposisi komponen formula)

Kemudian dihitung nilai Ba dan Bb agar diketahui hasil percobaan terhadap respon yang diharapkan yang ditunjukkan pada table 4.4 dibawah ini.

Table 4.4 Kriteria respon untuk formula

Respon	Setting goal	Hasil nilai yang diharapkan
pН	In range	4,5-7,0
Viskositas	In range	200-300 cPs
Waktu mengering	In range	0-3 menit

4.7.4.2 Verifikasi Formula Optimum

Uji verifikasi formula optimum digunakan untuk menentukan kesesuaian antara prediksi nilai respon yang dihasilkan dari sofware Design Expert dengan nilai respon sebenarnya dari formula optimum. Uji verifikasi dilakukan menggunakan One Sample T-test dengan tingkat kepercayaan 99.99%. Uji normalitas terhadap masing-masing data respon dengan menggunakan uji One Simple T-test. Data dikatan terdistribusi normal apabila p-value >0,05. Setelah uji normalitas, dilakukan dengan uji One Simple T-test untuk membandingkan data nilai hasil evaluasi dengan test value berupa nilai prediksi Simple Lattice Design. Hasil percobaan dan prediksi dianggap berbeda secara bermakna apabila p-value

<0.05. Sebaliknya, hasil dianggap tidak berbeda secara bermakna apabila nilai p-value > 0.05.

4.7.5 Menganalisa Aktivitas Antibakteri Formula Optimum Sediaan Spray Gel Esktrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) Membandingkan Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif Terhadap Escherichia Coli.

a. Pembuatan media *Nutrient agar* (NA)

Media NA 2 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 mL lalu dihomogenkan dengan *stirrer*. Selanjutnya dipanaskan hingga mendidih dan ditunggu selama 1 menit lalu disterilisasi dengan *autoclave* dengan suhu 116°C-121°C selama 15 menit. Setelah media di sterilkan dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 20 mL dan didiamkan hingga memadat (Fauziyah, 2020).

b. Pembuatan larutan uji

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan memipet sediaan formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa sebanyak 0,2 mL lalu dilarutkan dengan aquadest ad 10 mL. Kontrol positif menggunakan alkohol 70% (onemade) dan kontrol negatif menggunakan basis sediaan formula optimum *spray* gel tanpa penambahan ekstrak daun akalifa. Sedangkan pembuatan larutan kontrol negatif dilakukan dengan mengambil basis sebanyak 0,2 mL lalu dilarutkan dengan aquadest ad 10 mL.

c. Pembuatan larutan Mcfarland

Larutan standar *McFarland* digunakan sebagai perbandingan jumlah koloni bakteri yang akan digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri pada medum cair dengan range kepadatan koloni tertentu. Kekeruhan dari larutan standar 0,5 *McFarland* sebanding dengan jumlah koloni sel sekitar 1,5 x 10⁸ CFU/mL. Cara pembuatan larutan standar 0,5 *McFarland* dengan mencampurkan larutan Barium Clorida (BaCl2) 1% sebanyak 0,05 mL dalam Asam Sulfat (H2SO4) 1% sebanyak 9,95 mL. larutan kemudian disimpan pada tempat yang terhindar dari cahaya matahari langsung (Angka *et al.*, 2019).

d. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat *ose* steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 10 mL larutan NaCl 0,9% lalu dihomogenkan dan dibandingkan kekeruhannya dengan larutan standar 0,5 *McFarland* hingga diperoleh kekeruhan yang sama.

e. Pengenceran larutan uji

Pengenceran larutan uji sampel sediaan formula optimum *spray* gel esktrak daun akalifa, kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan dengan memipet suspensi bakteri sebanyak 1 mL lalu dicampurkan dengan 10 mL sampel yang akan diuji lalu dihomogenkan. Setelah homogen larutan sampel yang akan diuji dipipet sebanyak 1 mL dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 9 mL lalu dihomogenkan. Proses pengenceran dilakukan hingga 10⁻⁶.

f. Uji ALT

Sediaan formula optimum *Spray* gel esktrak daun akalifa terdapat tiga kelompok uji yang dapat dilihat pada tabel 4.5 dibawah ini.

Table 4.5 Kelompok Uji Angka Lempeng Total

Kontrol positif	Alkohol 70%
Kontrol negatif	Basis
Kelompok perlakuan	Formula optimum

Pengenceran sampel yang telah dibuat dipipet sebanyak 0,1 mL dimasukkan kedalam cawan petri lalu di *spread* pada medium agar yang telah memadat. Proses ini dilakukan untuk masing-masing sampel dan dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Seluruh cawan petri diinkubasi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung (Kusumaningsih, 2020).

4.8 Teknik Analisis Data

Hasil data penelitian daya hambat bakteri selanjutnya diolah menggunakan aplikasi SPSS versi 26.0 dengan taraf kepercayaan 95%. Data diuji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal dan memiliki varian homogen yang ditunjukkan dengan nilai signifikasi (p>0,05) untuk dilajutkan uji *One Way* ANOVA. Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dapat dilihat dari signifikasi nilai *p-value* (<0,05), maka dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc* yaitu uji LSD.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

Bab ini akan menguraikan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, meliputi hasil determinasi tanaman akalifa, ekstraksi daun akalifa, skrining ekstrak daun akalifa, evaluasi karakteristik fisik *spray* gel ekstrak daun akalifa, optimasi jumlah optimum *carbopol 940* dan TEA terhadap pH, viskositas dan kecepatan waktu mengering setelah disemprotkan, karakteristik formula optimum berupa pH, viskositas, kecepatan waktu mengering setelah disemprotkan, serta uji angka lempeng total formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa.

5.1 Mengidentifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Ekstrak Daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).

5.1.1 Determinasi Tanaman Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

Identifikasi tumbuhan dilakukan untuk menyamakan ciri-ciri morfologi tumbuhan untuk digunakan dalam penelitian. Hasil identifikasi daun akalifa yang dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember menunjukkan tanaman yang digunakan sudah sesuai dengan tanaman yang dimaksutkan yaitu daun akalifa dari spesies *Acalypha wilkesiana*, *M.A* dengan kunci identifikasi 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, ...162a seperti yang tertuang pada lampiran 1.

5.1.2 Ekstraksi Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

Ekstrak daun akalifa yang diperoleh dengan metode perendaman menggunakan pelarut etanol 70% selama 1x24 jam dan remaserasi sebanyak 2

kali adalah 143,79 gram. Hasil rendemen ekstraksi ditunjukkan pada tabel 5.1 dibawah ini.

Table 5.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Akalifa

I	Rendemen ekstrak daun aka	lifa
Berat simplisia	Berat ekstrak	% Rendemen
500 gram	143,79 gram	28,75%

5.1.3 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang akan digunakan penelitian berupa alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin yang terkandung dalam ekstrak daun akalifa. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun akalifa dapat dilihat pada tabel 5.2 dibawah ini.

No	Skrining	Keterangan	Hasil
	fitokimia	Ç	
1.	Uji alkaloid		-
	Mayer	Perubahan warna menjadi jingga	
	Dragendroff	Perubahan warna menjadi kuning	
		keorenan.	
2.	Uji flavonoid	Perubahan warna menjadi jingga	+
3.	Uji tannin	Perubahan warna menjadi hijau	+
		kehitaman	
4.	Uji saponin	Terdapat busa setelah dilakukan	+
	_	penggojokan	

5.2 Mengidentifikasi Pengaruh Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Dan TEA Sebagai Alkalizing Agent Terhadap Karakteristik Sifat Fisik Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).

5.2.1 Uji Organoleptis

Uji organoleptis sediaan *spray* dilakuakan untuk mengetahui bentuk, warna, dan bau dari sediaan yang dibuat menggunakan panca indera. Hasil pengujian organoleptis dapat dilihat pada gambar 5.1 dibawah ini.



Gambar 5.1 Uji Organoleptis Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa

5.2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas sediaan *spray* dilakukan dengan cara mengamati sediaan menggunakan *objectglass. Spray* dikatakan homogen jika tidak terdapat butiran kasar dan warnanya merata. Hasil uji homogenitas ditunjukkan pada tabel 5.4 dibawah ini.



Gambar 5.2 Hasil Uji Homogenitas

Table 5.3 Hasil Evaluasi Uji Homogenitas Spray Gel Ekstrak daun Akalifa

Uji homogenitas	Hasil
F1	Homogen
F2	Homogen
F3	Homogen

5.2.3 Uji Pola Penyemprotan

Pola penyemprotan merupakan salah satu faktor penting untuk mengevaluasi kualitas alat semprot yang digunakan. Hal yang dapat mengevaluasi pola semprot adalah karakteristik dari formula sediaan. Uji pola penyemprotan dilakukan untuk melihat diameter pola penyemprotan dan bobot sediaan yang keluar setelah sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa disemprotkan pada mika plastik. Uji pola semprot terdiri dari dua uji yaitu diameter pola penyemrpotan dan bobot sediaan yang keluar setelah sediaan *spray* gel di semprotkan. Hal ini dilakukan agar dapat mengetahui sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa dapat menyebar merata ketika digunakan. Berikut merupakan hasil evaluasi uji diameter pola semprot dan uji bobot sediaan yang keluar *spray* gel ekstak daun akalifa dapat dilihat pada tabel 5.4 dan 5.5 dibawah ini.

A. Diameter Pola Penyemprotan (cm)

Table 5.4 Hasil Evaluasi Diameter Pola Penyemprotan *Spray* Gel Ekstrak Daun Akalifa

Panlikasi -		Formula	
Керпказі	F1	F2	F3
1	8.5	8.25	7.6
2	8.75	8.3	7.7
3	8.6	8.28	7.5
ı-rata±SD	8.62 ± 0.13	8.28 ± 0.023	7.6±0.1
1	8	8.5	8.4
2	8.75	8	8.6
3	8.4	8.6	8.2
ta-rata±SD	8.38 ± 0.36	8.37 ± 0.32	8.4±0.2
1	11.5	9	9
2	11.75	9.5	9.2
	3 n-rata±SD 1 2 3 ta-rata±SD	1 8.5 2 8.75 3 8.6 1-rata±SD 8.62±0.13 1 8 2 8.75 3 8.4 ta-rata±SD 8.38±0.36 1 11.5	Replikasi F1 F2 1 8.5 8.25 2 8.75 8.3 3 8.6 8.28 3-rata±SD 8.62±0.13 8.28±0.023 1 8 8.5 2 8.75 8 3 8.4 8.6 ta-rata±SD 8.38±0.36 8.37±0.32 1 11.5 9

	3	11.3	9.2	9
Rata-	rata±SD	11.52±0.23	9.23±0.25	9.07±0.13
	1	11.25	12.5	9
15cm	2	12.5	11.2	9.5
	3	11.4	12.2	9
Rata-	rata±SD	11.72±0.68	11.97±0.68	9.17±0.29

B. Berat Sediaan Yang Keluar Setelah Penyemprotan (gram)

Table 5.5 Hasil Evaluasi Berat Sediaan Yang Keluar Setelah Penyemprotan *Spray* Gel Ekstrak Daun Akalifa

		Daum / Ikami	•	
			Formula	
Jarak	Replikasi	F1	F2	F3
	1	0.35	0.33	0.41
	2	0.32	0.35	0.39
3cm	3	0.31	0.34	0.4
rata	a-rata±SD	0.37±0.03	0.34 ± 0.01	0.4±0.01
	1	0.23	0.29	0.39
	2	0.25	0.3	0.35
5cm	3	0.24	0.31	0.37
rata	a-rata±SD	0.24 ± 0.01	0.3±0.01	0.37±0.02
	1	0.16	0.25	0.35
	2	0.18	0.24	0.32
10cm	3	0.17	0.24	0.33
rata	a-rata±SD	0.17 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.33±0.02
	1	0.14	0.39	0.3
	2	0.15	0.35	0.29
15cm	3	0.14	0.37	0.29
rata-rata±SD		0.14 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.37±0.01

5.2.4 Uji pH

Uji pH dilakukan untuk melihat seberapa asam sediaan *spray* gel untuk memastikan sediaan *spray* gel tidak mengiritasi kulit akibat pH yang terlalu rendah (asam) atau terlalu tinggi (basa). Indicator pH sediaan *spray* gel setara dengan pH fisiologis kulit yaitu 4,5-7,0. Pada penelitian ini pH diukur dengan pH meter. Hasil uji pH pada sediaan *spray* gel esktrak daun akalifa dapat dilihat pada tabel 5.6 di bawah ini.

Table 5.6 Hasil Evaluasi Uji pH *Spray* Gel Ekstrak Daun Akalifa

Formula	Replikasi			Rata-rata ± SD
	1	2	3	_
F1	5.27	5.26	5.27	5,27±0.01
F2	5.20	5.21	5.19	$5,2\pm0.01$
F3	4.59	4.59	4.59	4.59 ± 0

5.2.5 Uji Viskositas (cPs)

Viskositas atau kekentalan adalah suatu istilah dari resistensi zat cair. Semakin tinggi viskositas aliran akan semakin besar resistensinya. Viskositas pada sediaan spray gel menunjukkan mudah atau tidaknya spray gel dihantarkan melalui aplikator semprot atau dituangkan pada wadah. Hasil uji viskositas dapat dilihat pada tabel 5.7 dibawah ini.

Table 5.7 Hasil Evaluasi Uji Viskositas Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa

Formula —	Replikasi			- Rata-rata ±SD
	1	2	3	Rata-tata ±SD
F1	180	190	185	185±5
F2	210	230	229	223±11.27
F3	250	251	250	250,4±0.58

5.2.6 Kecepatan Waktu Mengering (Menit)

Uji kecepatan waktu mengering dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan mengering yang dibutuhkan sediaan spray gel ekstrak daun akalifa setelah di semprotkan pada mika plastik. Uji dilakukan sebanyak tiga kali dengan jarak yang sama yaitu 5 cm. berikut hasil uji kecepatan waktu mengering dapat dilihat pada tabel 5.8 dibawah ini.

Table 5.8 Hasil Evaluasi Kecepatan Mengering Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa

Formula _	Replikasi			Rata-rata ±SD
	1	2	3	_
F1	1,62	1,50	2,00	0.71±0.26
F2	3,31	3,35	3,40	3.35 ± 0.05
F3	4,57	4,50	5,00	4.69 ± 0.27

5.3 Menganalisa Konsentrasi *Carbopol 940* Dan TEA Yang Dapat Menghasilkan Formula Optimum *Spray* Gel Ekstrak Daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).

5.3.1 Prediksi Respon Formula Optimum

Penentuan formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa dilakukan menggunakan *software design expert 13* dengan metode *Simplex Lattice Design*. Data hasil evaluasi *spray* gel ekstrak daun akalifa berupa respon nilai pH, viskositas, dan kecepatan waktu mengering yang telah diperoleh kemudian dianalisis untuk mendapat formula optimum. Berikut merupakan hasil solusi formula optimum dan prediksi repon formula optimum berdasarkan metode *Simplex Lattice Design* dapat dilihat pada tabel 5.9 dibawah ini.

Table 5.9 Hasil Prediksi Formula Oprimum Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa

Carbopol 940 (%)	TEA (%)	Viskositas (cPs)	рН	Kecepatan mengering (menit)	Desirability
0.075	0.075	219.33	5.02	2.92	1.000

5.3.2 Verifikasi Formula Optimum

Verifikasi formula optimum digunakan untuk menentukan kesesuaian antara prediksi nilai respon yang dihasilkan dari software *Design Expert* dengan respon

percobaan sebenaranya. Model persamaan dari *Software Design Expert* dapat dikatakan valid dan dapat memberikan gambaran pengarub proporsi *carbopol 940* dan TEA. Hasil vrifikasi formula optimum *spray* gel esktrak daun akalifa dapat dilihat pada tabel 5.10 dibawah ini.

Table 5.10 Hasil Verifikasi Formula Optimum Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa

Respon	Hasil	Ha	– P value		
Respon	prediksi	R1	R2	R3	- 1 vaiue
Viskositas	219.33	210	230	229	0,13
(cPs)					
Ph	5,02	5,20	5,21	5,19	0,06
Waktu	2.92	3,31	3,35	3,40	0,85
kecepatan					
mengering					
(menit)					

5.4 Menganalisa Aktivitas Antibakteri Formula Optimum Sediaan Spray Gel Esktrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) Membandingkan Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif Terhadap Escherichia Coli.

Uji antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode angka lempeng total (ALT) terdapat tiga perlakuan yaitu formula optimum *spray* gel ektrak daun akalifa, kontrol positif menggunakan alkohol 70%, dan kontrol negatif menggunakan basis formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa. Bakteri yang digunakan adalah *Escheria coli* dibuktikan dengan surat keterangan yang ada pada lampiran 13. Hasil uji angka lempeng total terhadap bakteri *Escherichia coli* pada tabel 5.11 dibawah ini.

Table 5.11 Hasil Perhitungan Pertumbuhan *E.coli* Uji Angka Lempeng Total

	Jumlah koloni bakteri (CFU/mL)			
Replikasi	Formula optimum	Kontrol		
cawan ke-	spray gel ekstrak daun akalifa 2%	K+	K-	
1.	$1.06 \text{x} 10^6$	5.1×10^6	$2.43x10^6$	
2.	$1.08 \text{x} 10^6$	$5.2x10^6$	2.40×10^6	
3.	$1.04 \text{x} 10^6$	$5.3x10^6$	2.42×10^6	
Rata-rata ±SD	$1.06 \times 10^6 \pm 2000$	$51.67 \times 10^6 \pm 1000$	$2.41 \times 10^6 \pm 1527.53$	

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Mengidentifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).

Identifikasi kandungan senyawa kimia dalam ekstrak daun akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun akalifa. Skrining fitokimia yang dilakukan berupa identifikasi flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin.

6.1.1 Ekstraksi Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).

Ekstraksi adalah teknik pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut yang terlarut. Pada umumnya, zat terlarut yang diekstrak tidak larut atau sedikit larut dalam satu pelarut tetapi mudah larut dalam pelarut lain (Asih, 2020). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi atau perendaman. Maserasi adalah proses perendaman bahan tanaman (kasar atau bubuk) dengan pelarut dalam wadah tertutup dan dibiarkan pada suhu ruang selama >3 hari, sesekali dipengaduk dan terlindung dari cahaya. Hal ini dilakukan untuk melembutkan dan memecah dinding sel tanaman untuk melepaskan fitokimia yang larut. Setelah 3 hari, campuran tersebut ditekan atau disaring dengan penyaringan. Dalam metode ini, pelarut yang digunakan dalam proses perendaman mempunyai peran penting (Anjasmara *et al.* 2018). Metode maserasi ini dipilih karena mudah, cepat, peralatan sederhana dan dapat menghindari rusaknya senyawa yang mungkin tidak stabil. Pelarut yang

digunakan adalah etanol 70%. Etanol digunakan karena merupakan pelarut universal, dapat mengekstrak sebagian besar senyawa polar, semi-polar, non-polar, aman digunakan dan tidak beracun.

Penelitian ini menggunakan daun akalifa sebagai bahan aktif untuk sediaan spray gel. Daun akalifa diperoleh dari Desa Baratan, Kecamatan Patrang, Kabupaten Jember. Daun akalifa yang digunakan adalah daun tua dengan 5 sampai 10 ruas yang berwarna merah berbintik hijau. Selanjutnya daun akalifa disortasi basah dan dicuci dengan air bersih mengalir untuk membersihkan daun akalifa dari kotoran-kotoran yang terdapat pada daun.



Gambar 4.1 Daun akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).

Daun yang sudah dibersihkan lalu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Simplisia kering dari daun akalifa selanjutnnya dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 60 sehingga diperoleh serbuk simplisia dan dilakukan ekstraksi. Metode yang digunakan yaitu maserasi. Maserasi dilakukan berulang (remaserasi) sebanyak dua kali. Remaserasiatau perendaman ulang dilakukan untuk menarik kandungan senyawa yang tertinggal pada perendaman pertama (Selfiana, 2019). Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya diupakan menggunakan *watherbath* dengan suhu 50°C hingga

diperoleh ekstrak kental daun akalifa dan diketahui hasil rendemennya. Hasil rendemen sampel diperlukan untuk menentukan jumlah ekstrak yang diperoleh selama ekstraksi. Selain itu, hasil rendemen berkaitan dengan senyawa aktif dari sampel, jika jumlah rendemen yang dihasilkan banyak maka senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga banyak.

Hasil rendemen ekstrak etanol daun akalifa yang peroleh sebesar 28,75%. Hasil rendemen ekstrak daun akalifa yang diperoleh dari proses ekstraksi maserasi dengan remaserasi dua kali dapat dikatakan baik karena hasil rendemennya lebih dari 10%. Berdasarkan hasil penelitian wardaningrum pada tahun 2019 menyatakan bahwa rendemen dikatakan baik apabila memiliki nilai lebih dari 10%. Hasil rendemen ekstrak etanol yang dilakukan dengan metode maserasi dan remaserasi lebih tinggi dari hasil rendemen metode ekstraksi maserasi tanpa remaserasi dan metode lainnya, karena semakin lama waktu kontak antara pelarut dengan bahan sehingga akan memperbanyak sel yang pecah dan bahan aktif yang terlarut (Wahyuni and Widjanarko, 2015). Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Daniel pada tahun 2019 dan Madziga HA et al pada tahun 2010 yang menyatakan bahwa hasil rendemen ekstrak daun akalifa menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol sebesar 7.0% tanpa dilakukan remaserasi, sedangkan menggunakan pelarut aceton menghasilkan rendemen sebesar 9.00%. dan bahwa hasil rendemen ekstrak daun akalifa menggunakan metode ekstraksi refluk dengan pelarut air suling sebesar 22.85% b/b.

Pada saat pembuatan simplisia dilakukan proses pengiringan menggunakan oven dengan suhu 50°C. Tujuan dilakukan pengeringan pada saat

pembuatan slimplisia adalah untuk mengurangi kadar air yang terkandung didalam daun akalifa. Kadar air yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan jamur pada ekstrak. Pengeringan pada suhu 50°C bertujuan untuk menjaga kandungan senyawa dari daun akalifa. Suhu yang terlalu tinggi pada saat proses pengeringan dapat merusak kandungan zat aktif yang terdapat pada simplisia sehingga dapat menurunkan aktivitas dari simplisia.

Hasil rendemen dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu durasi perendeman. Semakin lama waktu perendaman maka semakin lama kontak antara pelarut dan bahan untuk memperbanyak sel yang rusak dan zat aktif terlarut. Selain itu, ukuran bahan yang akan di ekstraksi juga dapat mempengaruhi hasil ekstraksi, karena luas permukaan yang besar mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut. Semakin kecil ukuran partikel, semakin besar luas bidang kotak antara bahan dan solven serta semakin pendek jalur difusinya yang menjadikan laju transfer massa semakin tinggi. Frekuensi pengadukan dapat mempengaruhi hasil rendemen karena pengadukan yang ada akan merussak dinding sel sampel tanaman sehingga dapat memebantu pelepasan zat fitokimia dalam sel (Rahayu *et al.* 2016). Pelarut yang digunakan juga mempengaruhi hasil rendemen. Pelarut etanol termasuk pelarut polar yang dapat menarik metabolit sekunder *fenol*, *flavonoid*, *saponin* dan *tannin* karena mempunyai gugus hidroksil sehingga mudah terdegradasi dan mengikuti prinsip kerja ekstraksi yaitu *like dissolve like*.

6.1.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun akalifa. Skrining fitokimia yang dilakukan berupa identifikasi flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin. Penentuan senyawa kimia flavonoid dalam ekstrak etanol daun akalifa dilakukan dengan penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat. Hasil positif mengandung flavonoid dalam penelitian ini apabila terbentuk warna jingga. Penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis *flavonoid* menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat dapat menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol (Robinson, 1995). Flavonoid dapat menyebabkan kerusakan dan *xanton* permeabilitas pada dinding sel bakteri karena membentuk senyawa kompleks dengan protein serta mampu menghambat proses metabolisme bakteri dengan menghambat penggunaan oksigen sehingga sel mengalami kematian (Ozçelik B et al. 2011).

Penentuan senyawa *alkaloid* dari ekstak etanol daun akalifa dilakukan dengan menggunakan pereaksi *mayer* dan *dagendroff*. Daun akalida dikatakan positif mengandung *alkaloid* jika terbentuk endapan setelah penambahan pereaksi, terbentuk endapan jingga bila direaksikan dengan pereaksi *dragendroff*, endapan tersebut merupakan *alkaloid kalium*. Selama pembentukan pereaksi *dragendroff*, *bismuth nitrat* dilarutkan dalam HCl untuk mencegah terjadinya hidrolisis karena

garam *bismuth* mudah terhidrolisis membentuk *bismuth* (BiO+) dan terbentuk endapan kuning atau putih ketika bereaksi dengan pereaksi *mayer* (La Elisabeth, 2020). Pada uji *alkaloid* sejumlah ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditetesi dengan HCl 2 N bertujuan untuk menarik *alkaloid* dari dalam simplisia, *alkaloid* bersifat basa sehingga dengan penambahan HCl akan terbentuk garam, lalu dipanaskan dengan tujuan memecahkan ikatan antara *alkaloid* yang bukan dalam bentuk garamnya, lalu didinginkan, kemudian dilakukan reaksi pengendapan dengan menggunakan dua pereaksi. Pada uji *alkaloid* dengan pereaksi *Mayer*, diperkirakan nitrogen pada *alkaloid* akan bereaksi dengan ion logam K+ dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-*alkaloid* yang mengendap (Marliana *et al*, 2005).

Identifikasi senyawa metabolit sekunder berupa *tannin* pada ekstrak etanol daun akalifa dilakukan dengan penamabahan larutan besi (III) klorida 1%. Hasil dikatakan positif apabila terdapat perubahan warna menjadi hitam kehijauan. Uji fitokimia menggunakan FeCl3 dapat menunjukkan adanya gugus *fenol*, apabila terdapat senyawa *fenol* maka dimungkinkan juga terdapat *tannin*, karena *tannin* merupakan senyawa *polifenol*. Perubahan warna hijau kehitaman terjadi akibat pembentukan senyawa komplek antara *tannin* dengan FeCl3 (La Elisabeth, 2020). Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl3 karena *tannin* akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe3+. Mekanisme kerja *tannin* sebagai antibakteri adalah dengan melisiskan sel *porphyromonas gingivalis*. Hal ini terjadi karena *tannin* tertarget pada dinding *polipeptida* dinding sel bakteri, sehingga pembentukan dinding sel menjadi tidak

sempurna dan sel bakteri mati. Prinsip kerja *tannin* yaitu dengan cara membentuk kompleks dengan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh patogen atau dengan mengganggu proses metabolisme patogen tersebut (Cordoves *et al*, 2001).

Identifikasi senyawa metabolit sekunder berupa *saponin* pada ekstrak daun akalifa dilakukan dengan penggojokan selama 10 detik. Daun akalifa positif mengandung senyawa saponin apabila timbul busa dan bertahan selama 10 menit (La Elisabeth, 2020). Busa yang ditimbulkan saponin karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogen nonpolar dan rantai samping polar yang larut air. Sehingga busa bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm. Busa yang dihasilkan saponin tidak terpengaruh oleh asam sehingga setelah ditambah HCl 2 N tetap stabil dan busa tidak hilang (Cordoves et al, 2001). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan mendenaturasi protein. Karena surfaktan saponin mirip dengan detergen, saponin dapat digunakan sebagai agen antibakteri ketika tegangan permukaan dinding sel bakteri berkurang dan permeabilitas membran bakteri terganggu. Bakteri akan tergangu akibat rusaknya membran sel. Kemudian saponin akan berdifusi melalui membran sitoplasma sehingga menyebabkan kestabilan membran terganggu, menyebabkan sitoplasma lepas dan keluar dari sel sehingga menyebabkan kematian sel (Nurfadilah et al., 2021).

Hasil pengujian identifikasi senyawa kimia berupa *flavonoid* menunjukkan hasil positif mengandung senyawa *flavonoid* dikarenakan larutan berubah menjadi jingga (Lampiran 3). Sedangkan hasil identifikasi senyawa kimia *alkaloid* menunjukkan hasil yang negatif, hal ini ditunjukan dengan perbedaan perubahan

warna. Ekstrak etanol daun akalifa bereaksi dengan pereaksi *mayer* berubah warna menjadi jingga dan berubahan warna menjadi kuning setelah bereaksi dengan pereaksi *dragendroff* (Lampiran 3). Hasil pengujian identifikasi senyawa *tannin* dan *saponin* menunjukkan hasil yang positif. Hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna larutan ekstrak daun akalifa yang semula berwarna merah pekat berubah menjadi warna hitam kehijauan setelah ditambahkan FeCl3 yang menandakan ekstrak daun akalifa mengandung senyawa *tannin* (Lampiran 3). Sedangkan hasil uji positif mengandung senyawa *saponin* ditunjukkan dengan timbulnya busa setelah larutan ekstrak daun akalifa dilakukan penggojokan dan busa bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 3cm setelah ditambahakn HCl 2N.

Hasil yang diperoleh tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa daun akalifa memiliki kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, korilagin, flavonoid, tanin, saponin, asam galat, monoterpen, seskuiterpen, triterpen, polifenol, glikosida, steroid, flobatanin, antrakuinon, dan geranin (Adesina, et al., 2000; Oladunmoye, 2006; Madziga, et al., 2010). Namun hasil penelitian ini sudah sesuai dengan hasil penelitian Gotep pada tahun 2010 yang mengatakan bahwa ekstrak etanol daun akalifa memiliki kandungan senyawa metabolit sekuder berupa flavonoid dan steroid yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap Escherichia coli (Gotep et al., 2010). Perbedaan hasil uji skrining ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu perbedaan cuaca atau iklim dari setiap tempat pertumbuhan tanaman akalifa yang akan diteliti, perbedaan letak geografis dari tumbuhnya tanaman akalifa, perbedaan

pengambilan daun akalifa yang akan digunakan, perbedaan metode ekstraksi dan suhu ketika melakukan proses ektraksi, beserta pelarut yang digunakan ketika proses ekstraksi.

6.2 Mengidentifikasi Pengaruh Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Dan TEA Sebagai Alkalizing Agent Terhadap Karakteristik Sifat Fisik Spray Gel Ekstrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.).

Dalam penelitian ini dilakukan formulasi sediaan *spray* gel yang stabil dengan adanya komponen ekstrak etanol daun akalifa sebagai zat aktif sediaan. Pembuatan *spray* gel pada penelitian ini menggunakan *gelling agent* berupa *carbopol 940* dan *alkalizing agent* berupa TEA.

Carbopol 940 dipilih karena memiliki bentuk basis yang bening transparan dengan tekstur lebih baik dari CMC-Na, memiliki stabilitas baik karena mengikat air dengan cepat sedangkan pelepasan cairannya lambat serta memiliki nilai viskositas paling baik, tidak mengiritasi kulit, memiliki karakteristik fisik dan stabilitas yang terbaik dalam formulasi sediaan. TEA dipilih sebagai alkalizing agent dalam formula spray gel esktrak daun akalifa. Penambahan TEA penting sebagai penstabil pH sediaan sehingga tidak mempengaruhi stabilitas kimia sediaan selama masa penyimpanan.

Pembuatan sediaan *spray* gel dibuat konsentrasi *carbopol 940* yang memiliki fungsi sebagai *gelling agent* atau bahan pembentuk gel dengan tiga variasi yaitu 0,05%, 0,075% dan 0,1%. Pembuatan sediaan *spray* gel dibuat konsentrasi TEA yang memiliki fungsi sebagai *alkalizing agent* dengan tiga

variasi yaitu 0,1%, 0,075% dan 0,05% Perbedaan konsentrasi TEA sebagai bahan pembasa ditujukan untuk menjaga pH sediaan tetap dalam kisaran pH kulit, yaitu 4,5-7,0.

Perbedaan konsentrasi *carbopol 940* sebagai bahan pembentuk gel mempengaruhi kekentalan atau viskositas sediaan, sehingga didapatkan konsistensi sediaan yang berbeda-beda. Hal ini ditujukan untuk mengetahui pada formula berapa diperoleh viskositas sediaan yang optimal, dimana viskositas yang dihasilkan tetap rendah sehingga dapat disemprotkan dari aplikator semprot atau sesuai dengan kisaran viskositas untuk sediaan *spray* gel yang stabil baik secara fisik maupun kimia. *Carbopol 940* cenderung bersifat asam dan TEA bersifat basa. Interaksi antara kedua komponen akan mengurangi nilai pH. Penelitian yang dilakukan Rahayu *et al* pada tahun 2016 menunjukkan bahwa faktor yang berpengaruh dalam mengubah nilai pH adalah TEA dibandingkan *carbopol 940*.

Uji sifat fisik bertujuan untuk melihat kualitas dari sediaan dan menjamin bahwa sediaan tersebut memiliki karakteristik yang sesuai dengan persyaratan sediaan *spray* gel yang baik, aman, dan *acceptable*. Uji evaluasi mutu fisik sediaan meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pola penyemprotan, uji pH, uji viskositas, dan uji kecepatan waktu mengering setelah disemprotkan. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dan rata-rata hasilnya.

6.2.1 Uji Organolepis

Uji organoleptis merupakan salah satu yang menentukan kualitas sediaan topikal terutama *spray* gel, dengan mengamati karakteristik fisik berupa warna, bau dan bentuk dari sediaan *spray* gel. Uji organoleptis dilakukan dengan pancainda

yang diamati secara visual meliputi perubahan warna, bau (ketengikan), dan bentuk. Bau untuk mengenali aroma atau bau sediaan dengan mencium aroma sediaan, warna untuk mengetahui warna dari sediaan, bentuk untuk mengenali bentuk dari sediaa (Prayoga and Mujtahid 2020). Kriteria yang baik berdasarkan standar persyaratan organoleptis untuk sediaan *spray* gel yaitu hasil yang bening, tidak keruh dan tidak ada gelembung udara (Anindhita *et al.*, 2020). Kriteria sediaan *spray* gel menurut Ariani *et al.*, pada tahun 2020 yaitu bening, tidak keruh, dan memberikan penampilan yang menarik.

Pemeriksaan *spray* gel ekstrak daun akalifa dari ketiga formula memiliki kesamaan pada warna dapat dilihat pada tabel 5.3 Sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa memiliki warna merah kecoklatan dan jernih, baunya khas daun akalifa. Bentuk sediaan ketiga formula memiliki perbedaan, pada formula satu memiliki bentuk cair, sedangkan pada formula kedua sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa memiliki bentuk cair sedikit kental, dan pada formula ketiga memiliki bentuk yang lebih kental dari formula 1 dan formula 2 (Lampiran 5).

Warna sediaan *spray* gel pada penelitian ini memiliki warna merah kecoklatan yang terang hal ini disebabkan karena warna bahan aktif ekstrak etanol daun akalifa berwarna merah yang sangat pekat. Terdapat pigmen klorofil b (hijau muda), pigmen klorofil a (hijau tua), *xantofil* (kuning) dan ungu (*anthosianin*) pada daun akalifa sehingga menyebabkan warna sediaan *spray* gel menjadi merah, tidak berwana putih jernih seperti pada umumnya. Selain itu warna sediaan dipengaruhi oleh banyaknya konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin banyak ekstrak daun akalifa maka sediaan akan semakin berwarna merah coklat pekat. Namun hal ini tidak berpengaruh terhadap pemakaian pada kulit, karna warna

yang merah kecoklatan tidak membekas di kulit setelah diaplikasikan pada permukaan kulit.

Perbedaan bentuk sediaan dari ketiga formula ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu setiap formula memiliki perbedaan konsentrasi *carbopol 940* sebagai *gelling agent* dan TEA sebagai *alkalizing agent*. Semakin sedikit konsentrasi *carbopol 940* yang digunakan maka sediaan tersebut akan memiliki bentuk yang lebih cair. Selain itu, ekstrak daun akalifa memiliki sifat asam dengan nilai pH 3, sehingga penambahan ekstrak daun akalifa dapat menyembabkan sediaan menjadi lebih cair, semakin banyak jumlah ekstrak yang digunakan maka sediaan akan menjadi semakin cair. Hal ini terjadi karena pada saat jumlah fraksi mencapai maksimum maka molekul pada *carbopol 940* tidak dapat mengembang lagi dan hanya menekan antar molekul sehingga dapat menurunkan viskositas sediaan (Johan & Kromo, 2020).

Hasil uji organoleptis *spray* gel sudah memenuhi persyaratn organoleptis yang baik yaitu memiliki kesamaan warna seperti zat aktif yaitu merah kecoklatan, jernih atau bening, aroma khas dari zat aktif yaitu seperti daun akalifa dan penampilan cair sedikit kental dan tidak keruh.

6.2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas sediaan topikal *spray* gel ekstrak daun akalifa dilakukan dengan tujuan untuk melihat keseragaman partikel *spray* gel, sehingga mencapai kualitas yang maksimal saat digunkana. Prinsip uji homogenitas adalah sebagian dari sampel diamati pada objek glass (Tantiningrum 2019). Homogenitas sangat penting karena dapat berkaitan antara keseragaman dengan jumlah zat aktif dalam

setiap penggunaan. Homogenitas suatu sediaan menandakan bahwa bahan yang digunakan dalam formula sediaan telah tercampur dengan baik.

Hasil pengujian homogenitas pada sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa parameter fisik dari ketiga formulasi tersebut menunjukkan hasil yang konsisten, ditandai dengan semua partikel pada objectglass tersebut merata dan tidak menngumpal disatu sisi. *Carbopol 940* sebagai *gelling agent* terdispersi dan mengembang sempurna kedalam pelarut aquadest sedangka ekstrak daun akalifa sebagai zat aktif terdispersi dan tercampur baik dengan bahan tambahan lainnya. Homogenitas sediaan akan menghasilkan sediaan yang baik karena zat aktif yang terkandung dalam sediaan terdispersi dengan bahan lain dalam formula sehingga sediaan mengandung bahan aktif dengan jumlah yang sama.

6.2.3 Uji Pola Penyemprotan

Pola penyemprotan merupakan salah satu faktor yang digunakan untuk mengetahui aplikator *spray* yang digunakan efektif menghantarkan sejumlah *spray* gel pada saat digunakan. Pengujian ini dilakukan dengan cara menyemprotkan sekali semprot sediaan *spray* gel pada selembar mika plastik yang telah ditimbang. Uji pola penyemprotan dilakukan dengan beberapa jarak yaitu 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm. Setelah sediaan disemprotkan kemudian ditimbang, pengujian setiap jarak dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Pada uji pola penyemprotan yang diamati yaitu diameter yang terbentuk pada mika plastik setelah sediaan disemprotkan dan berat sediaan yang keluar setiap jarak tertentu (Suyudi. 2014)

Ketiga formula *spray* gel menghasilkan pola penyemprotan yang menyebar. F3 dan F2 memiliki viskositas yang tinggi sehingga memiliki diameter pola penyemprotan yang kecil dan hanya pada satu titk lurus semprotan. F1 memiliki nilai viskositas yang paling rendah sehingga dapat disempeotkan dengan mudah dan dinyatakan memenuhi standart pola penyemprotan yang baik yaitu sediaan dapat disemprotkan dengan baik dan partikel menyebar merata. Hasil analisis data diameter pola penyemprotan diuji statistik menggunakan *One way ANOVA*.

Hasil analisis data diameter pola penyemprotan dan bobot sediaan yang keluar setelah disemprotkan diuji statistik menggunakan *One way ANOVA*. Berdasarkan hasil analisis data statistik yang telah dilakukan pada ketiga formula dengan jarak 3 cm, 5cm, 10 cm, dan 15 cm penyemprotan dihasilkan data pada F1 F2 dan F3 bersitribusi normal dan homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*. Pada lampiran 6 dan lampiran 7 hasil analisis data *one way ANOVA* pada jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm dapat diketahui bahwa F1, F2, dan F3 signifikan (p<0,05). Dari hasil tersebut maka dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil uji LSD dapat diketahui bahwa dari jarak 3 cm, 5 cm, dan 10 cm F1 signifikan terhadap F2 dan F3 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna. Namun pada hasil uji LSD pada diameter pola penyemprotan jarak 15 cm pada F1 tidak signifikan terhadap F2 yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antara F1 dan F2 pada jarak 15 cm. Hal ini dikarenakan hasil evaluasi nilai diameter pola penyemprotan dan nilai viskositas F1 dan F2 padak 15 cm memiliki selisih yang sedikit.

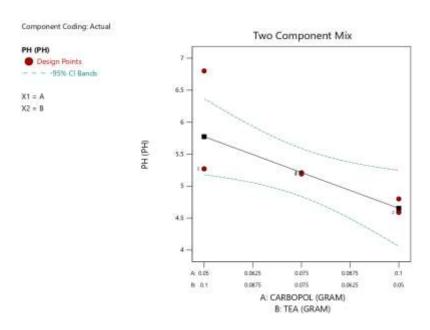
Perbedaan konsentrasi carbopol 940 dan TEA pada setiap formulasi berpengaruh terhadap pola penyemprotan yaitu pada diameter penyemprotan dan berat sediaan yang keluar. Viskositas sediaan mempengaruhi jumlah bobot *spray* gel yang keluar setelah disemprotkan. Viskositas yang tinggi akan menyebabkan tekanan yang digunakan untuk menyemprotkan sediaan akan semakin besar, sehingga akan membuat spray gel sulit disemprotkan dari aplikator. Pada saat pengujian, tekanan yang diperlukan untuk melakukan penyemprotan pada F1 lebih kecil dibandingkan dengan F2 dan F3 dikarenakan viskositas F1 lebih kecil, sehingga berat sediaan yang keluar pada saat penyemprotan menjadi sedikit. Berdasarkan hasil penelitian Kurnia pada tahun 2020 menyatakan bahwa jarak penyemprotan berpengaruh terhadap diameter pola penyemprotan. Jarak penyemprotan yang semakin jauh akan menghasilkan diameter penyemprotan yang semakin luas. Semakin luas diameter pola penyemprotan maka kontak bahan aktif terhadap kulit akan semakin banyak dan merata.

6.2.4 Uji pH

Uji pH dilakukan untuk melihat tingkat keasaman sediaan *spray* gel, untuk memastikan bahwa sediaan *spray* gel tidak menyebabkan iritasi pada saat diaplikasikan akibat pH yang terlalu rendah atau pH yang terlalu tinggi. Syarat hasil uji pH adalah kisaran pH yang baik untuk sediaan spray hand sanitizer adalah antara 4,5 dan 7,0. Pada penelitian ini pengukuran pH sediaan dilakuakn dengan menggunakan pH meter. Uji pH dilakukan untuk mengukur pH (derajat keasaman) sediaan dan untuk menguji apakah sediaan sudah memenuhi syarat pH yang sesuai dengan kondisi pH kulit.

Hasil uji nilai pH pada ketiga formula sediaan *spray* gel dapat dilihat pada tabel 5.5. Hasil tesebut menunjukkan bahwa semua formula memiliki nilai pH yang memenuhi rentang persyaratan pH kulit. Nilai pH dipengaruhi oleh konsentrasi *carbopol 940* dan TEA dengan nilai pH 10. TEA sebagai *alkalizing agent* dimana mampu menstabilkan dan menetralkan pH yang bersifat asam (Rowe, 2009). Hasil penelitian ini sudah sesuai dengan hasil penelitian Salwa pada tahun 2020 yang menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi TEA yang ditambahkan maka semakin besar pula pH *spray* gel yang diihasilkan (Salwa *et al.*, 2020).

Hasil penelitian selanjutnya dianalisis menggunakan perangkat lunak software design expert 13 untuk mengetahui efek dari carbopol 940 dan TEA dan interaksi keduanya. Hasil analisis ANOVA pada model berupa p-value <0,05 menunjukkan bahwa model yang dibuat oleh software Design Expert memberikan pengaruh signifikan terhadap respon pH. Model persamaan yang diperoleh dari analisis ANOVA yaitu persamaan linier dan tidak terdapat faktor interaksi antar carbopol 940 dan TEA terhadap respon pH. Nilai Lack of Fit menunjukkan hasil tidak signifikan dengan p-value >0,05 yang berarti terdapat kesesuaian antara model dengan data respon yang diperoleh. Grafik faktor terhadap pH dapat dilihat pada grafik 6.1 Hasil analissi respon pH pada software design expert 13.0 dapat dilihat pada lampiran 7.



Grafik 6.1 Faktor Terhadap Respon pH

Berdasarkan grafik 6.1 semakin besar nilai konsentrasi TEA maka semakin besar pula respon pH yang di dapatkan. Pengaruh nilai konsentrasi carbopol 940 dan TEA terhadap respon pH spray gel ekstrak daun akalifa dapat digambarkan dalam bentuk persamaan Terms of L-Pseudo Components yang ditunjukkan melalui persamaan 6.1 pesamaan Terms of L-Pseudo Components dapat menentukan dampak relatif suatu faktor terhadap respon pH spray gel dengan membandingkan koefisien faktor. Final Equation in Terms of L-Pseudo Components:

$$Y = +4.65333 * A + 5.77333 * B....(Persamaan 6.1)$$

Keterangan:

Y = Respon pH

A = Proporsi *carbopol 940*

B = Proporsi TEA

Persamaan *L_Pseudo Components* menunjukkan bahwa koefisien *carbopol 940* dan TEA bernilai positif yaitu +4.65333 dan +5.77333. Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan proporsi *carbopol 940* dan TEA dapat meningkatkan nilai respon pH. Apabila dilihat dari nilai koefisiennya, nilai koefisien TEA lebih besar dibandingkan nilai koefisien *carbopol 940* yang menunjukkan bahwa efek faktor TEA lebih dominan dalam meningkatkan nilai pH. Hal ini disebabkan karena TEA sebagai penstabil pH sediaan dibandingkan dengan *carbopol 940*. TEA bersifat basa dengan nilai pH 10 *dan carbopol 940* bersifat asam. Semakin tinggi konsentrasi TEA maka sediaan nilai pH akan semakin besar.

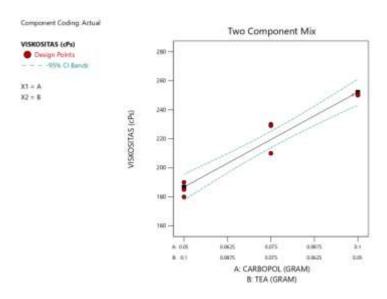
6.2.5 Uji Viskositas

Viskositas merupakan syrata penting dalam sediaan *spray* gel karena sediaan *spray* gel yang memiliki nilai viskositas yang tinggi, bentuk sediaan akan lebih kental dan tidak dapat disemprotkan dan diaplikasikan. Viskositas sediaan *spray* gel tergantung pada struktur berat molekul dari bahan basis *spray* gel yang digunakan. Viskositas yang terlalu encer akan menurunkan daya lekat *spray* gel pada kulit dan viskositas yang terlalu kental akan menimbulkan ketidaknyamanan saat sediaan digunakan (Nisak, Khoirun 2016).

Penelitian ini menggunakan viscometer rotor VT-06 no.03 dengan kecepatan 100 rpm. Hasil pengujian viskositas dapat dilihat pada tabel 5.6. berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa F1 memiliki nila viskositas yang rendah dan tidak memenuhi persyaratan, tepatnya pada kisaran 200-300 cPs. Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa F1 memiliki nilai viskositas.

Hasil penelitian uji viskositas selanjutnya diolah kembali menggunakan *software* design expert 13 dengan tingkat kepercaan yang digunakan yaitu 99,99%.

Hasil analisis ANOVA pada model berupa *p-value* <0,05 menunjukkan bahwa model yang dibuat oleh *software Design Expert* memberikan pengaruh signifikan terhadap respon viskositas. Model persamaan yang diperoleh dari analisis ANOVA yaitu persamaan linier dan tidak terdapat faktor interaksi antar *carbopol 940* dan TEA terhadap respon viskositas. Nilai *Lack of Fit* menunjukkan hasil tidak signifikan dengan *p-value* >0,05 yang berati terdapat kesesuaian antara model dengan data respon yang diperoleh. Grafik faktor terhadap respon viskositas dapat dilihat pada grafik 6.2. Hasil analisis respon viskositas pada *software Design Expert 13.0* dapat dilihat pada lampiran 6.



Grafik 6.2 Faktor Terhadap Respon Viskositas

Berdasarkan grafik 6.2, semakin besar konsentrasi proporsi *carbopol 940* maka semakin besar pula hasil respon nilai viskositas yang akan didapat. Pengaruh proporsi *carbopol 940* dan TEA terhadap respon viskositas *spray* gel

95

ekstrak daun akalifa dapat digambarkan dalam bentuk persamaan *Terms of L-Pseudo Components* yang ditunjukkan melalui persamaan 6.2. Persamaan *Terms of L-Pseudo Components* dapat menentukan dampak relatif suatu faktor terhadap

Persamaan *Final Equation in Terms of L_Pseudo Components* yang didapat untuk viskositas adalah sebagai berikut:

respon viskositas dengan membandingkan koefisien faktor.

$$Y = +252.111 * A + 186.778 * B....(Persamaan 6.2)$$

Keterangan:

Y = Respon viskositas (cPs)

A = Proporsi *Carbopol 940*

B = Proporsi TEA

Persamaan *L-Pseudo Components* menunjukkan koefisien *carbopol 940* dan TEA bernilai positif yaitu +252.111 dan +186.778. Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan proporsi TEA dan *carbopol 940* dapat meningkatkan viskositas. Apabila dilihat dari nilai koefisiannya, nilai koefisien dari *carbopol 940* lebih besar dibandingkan dengan *TEA* yang menunjukkan bahwa efek faktor *carbopol 940* lebih dominan dalam meningkatkan viskositas. Hal ini disebabkan oleh polimer *carbopol 940* dalam bentuk *flokulat* terdiri dari partikel utama tidak dapat dipisahkan, yang mengandung jaringan dari rantai *cross-linked* polimer. Ketika kontak dengan air dan menjadi pH netral, *flokul* dapat mengembang hingga 1000 kali dari volume yang dapat dianggap sebagai partikel gel yang mengembang.

Variasi konsentrasi carbopol 940 dan TEA berpengaruh terhadap nilai viskositas, pengurangan konsentrasi TEA akan menurunkan nilai viskositas sediaan spray gel, dan penambahan konsentrasi carbopol 940 akan menaikkan nilai viskositas dari sediaan. Carbopol 940 akan berfungsi dengan baik jika polimer-polimer penyusunnya uncoiled. Mekanismenya yaitu menetralkan gugus asam karboksilat pada polimer dengan basa yang sesuai akan mengakibatkan terbentuknya muatan negatif di sepanjang rantai polimer, penetralan dilakukan dengan penambahan TEA. Adanya gaya tolak menolak antara gugus karboksil yang terionisasi pada saat dinetralkan dengan basa, menyebabkan ikatan hydrogen pada gugus karboksilnya menjadi meregang sehingga terjadi peningkatan viskositas. Polimer carbopol 940 akan terjalin satu sama lain dengan membentuk ikatan silang sehingga menghasilkan matrik tiga dimensi untuk membentuk spray gel yang sangat kental dalam waktu seketika sehingga semakin tinggi viskositas maka tingkat kekentalan spray gel semakin tinggi pula karena jumlah polimer yang mengalami ikatan silang membentuk basis spray gel semakin banyak (Zafarani, 2020).

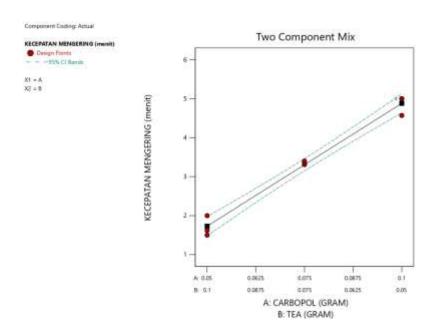
6.2.6 Uji Waktu Kecepatan Mengering

Uji waktu kering dilakukan untuk menentukan rentang waktu pengeringan setelah sediaan disemprotkn atau diaplikasiana pada kulit. Persyaratan secara umum untuk kecepatan waktu mengering sediaan *spray* gel *hand sanitizer* adalah dalam kisaran 0-3 menit. Teknik yang digunakan adalah dengan memperhatikan waktu yang dibutuhkan untuk kering, yaitu waktu dari saat sediaan diaplikasikan

pada kulitat atau disemprotkan pada kulit sampa kering. Definisi kering adalah sediaan tersebut tidak lengket, tidak basah, tidak ada airnya lagi.

Hasil uji waktu kecepatan mengering dapat dilihat pada tabel 5.7 berdasarkan tabel hasil pemeriksaan waktu kecepatan mengering terhadap ketiga formula terjadi kenaikan pada setiap formula. Berdasarkan hasil pameriksaan waktu kecepatan mengering sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa terhadap ketiga formula memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 3 menit. F1 memiliki nilai viskositas yang rendah dengan bentuk sediaan yang lebih cair dari ketiga formula, sehingga menghasilkan semprotan yang keluar seperti embun dan menyebabkan sediaan lebih cepat kering. Hasil penelitian selanjutnya diolah menggunakan *software Design expert 13* yangan tingkat kepercayaan yang digunakan 99.99%.

Hasil analisis ANOVA pada model berupa *p-value* <0,05 menunjukkan bahwa model yang dibuat oleh *software Design Expert* memberikan pengaruh signifikan terhadap respon viskositas. Model persamaan yang diperoleh dari analisis ANOVA yaitu persamaan linier dan tidak terdapat faktor interaksi antar *carbopol 940* dan TEA terhadap respon kecepatan waktu mengering. Nilai *Lack of Fit* menunjukkan hasil tidak signifikan dengan *p-value* >0,05 yang berati terdapat kesesuaian antara model dengan data respon yang diperoleh. Grafik faktor terhadap respon kecepatan waktu mengering dapat dilihat pada grafik 6.3. Hasil analisis respon wajtu kecepatan mengering pada *software Design Expert 13.0* dapat dilihat pada lampiran 6.



Grafik 6.3 Faktor Terhadap Respon Waktu Kecepatan Mengering

Berdasarkan grafik 6.3, semakin besar konsetrasi proporsi *gelling agent* maka semakin besar pula respon waktu kecepatan mengering yang akan didapat. Kenaikan waktu mengering dikarenakan bertambahnya konsentrasi *carbopol 940* sebagai *gelling agent*, hal ini dikarenakan meningkatnya konsentrasi *carbopol 940* yang akan mempengaruhi viskositas sediaan *spray* gel. Pengaruh proporsi *carbopol 940* dan TEA terhadap respon waktu kecepatan mengering *spray* gel esktrak daun akalifa dapat digambarkan dalam bentuk persamaan *Terms of L_Pseudo Components* yang ditunjuukan melelui persamaan 6.3. Persamaan *Terms of L_Pseudo Components* dapat menentukan dampak relatif suatu faktor terhadap respon waktu kecepatan mengering dengan membandingkan koefisien faktor.

Persamaan yang didapat untuk kecepatan mengering adalah sebagai berikut :

$$Y = +4.88056 * A + 1.73056 * B(Persamaan 6.3)$$

Keterangan:

Y = Respon waktu kecepatan mengering

A = Proporsi *carbopol 940*

B = Proporsi TEA

Persamaan *Terms of L_Pseudo Components* menunjukkan bahwa koefisien *carbopol 940* dan TEA bernilai positif yaitu +4.88056 dan +1.73056. Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan proporsi *carbopol 940* dan TEA dapat meningkatkan waktu kecepatan mengering. Apabila dilihat dari nilai koefisiennya, nilai koefisien *carbopol 940* lebih besar dari nilai koefisien TEA yang menunjukkan bahwa efek faktor *carbopol 940* lebih dominan dalam meningkatkan waktu kecepatan mengering. Hal ini disebabkan karena *carbopol 940* dapat meningkatkan viskositas sediaan, semakin tinggi nilai viskositas maka waktu kecepatan mengering akan semakin lama. Penelitian yang dilakukan oleh Nisak pada tahun 2016 menyatakan bahwa viskositas yang tinggi dapat menyebabkan waktu kecepatan mengering menjadi semakin lama.

6.3 Menganalisa Konsentrasi *Carbopol 940* Dan TEA Yang Dapat Menghasilkan Formula Optimum *Spray* Gel Ekstrak Daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana Müell. Arg.*).

6.3.1 Prediksi Respon Formula Optimum

Penentuan formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa dilakuakn menggunakan *software Design Expert 13.0* dengan metode *Simplex Lattice Design*. Data hasil evaluasi *spray* gel ekstrak daun akalifa berupa respon pH, viskositas dan waktu kecepatan mengering yang telah diperoleh kemudian

dianalisis untuk mendapatkan formula yang optimum. Target respon pH, viskositas, dan kecepatan mengering di pilih *in range*. Derajat kepentingan (importance) yang dipilih untuk pH, viskositas dan kecepatan waktu mengering dipilih (+++) yaitu level 3. *Importance* menyatakan seberapa penting komponen atau respon tersebut untuk dioptimasi dibandingkan komponen atau respon lainnya. Semakin tinggi nilai *importance* (mendekati 5) maka semakin penting komponen atau respon tersebut. Tahap selanjutnya, kriteria-kriteria yang dipilih digunakan untuk menentukan nilai optimum yang dinyatakan oleh nilai *desirability*. Nilai *desirability* menunjukkan seberapa telah terpenuhinya prediksi yang dihasilkan software dengan kriteria yang diinginkan. Semakin tinggi nilai desirability (mendekati nilai 1), maka kriteria yang diinginkan semakin dapat tepenuhi (Shafira *et al.*, 2015).

Software design expert 13.0 menampilkan solusi berupa satu formula optimum yang dapat memberikan respon optimum sesuai dengan kriteria respon yang diinginkan. Formula optimum yang diperoleh dari software Design Expert memiliki desirability index sebesar 1,00. Nilai desirability yang diperoleh telah sesuai dengan nilai yang diharapkan yakni 1. Hasil solusi formula optimum beserta grafik prediksi respon formula optimum berdasarkan metode Simplex Lttice Design dapat dilihat pada lampiran 11.

Berdasarkan hasil optimasi, formula optimum yang dipilih memiliki komposisi *carbopol 940* sebanyak 0,075% dan TEA sebanyak 0,075% sesuai dengan proporsi pada formula F2. Formula optimum tersebut diprediksi memiliki nilai viskositas sebesar 219,33 cPs, nilai pH 5,02 dan nilai waktu kecepatan

mengering yaitu 2,92 menit. Komposisi formula optimum sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa yang terpilih dapat dilihat pada tabel 5.9.

6.3.2 Verifikasi Formula Optimum

Verifikasi formula optimum digunakan untuk menentukan kesesuaian antara prediksi nilai respon yang dihasilkan dari software Design Expert dengan respon hasil percobaan yang sebenarnya. Data nilai respon hasil percobaan dengan nilai respon prediksi dari software Design Expert dianalisis menggunakan One Sample T-test dengan taraf kepercayaan 99.99%. Hasil uji One Sample T-test menghasilakn p-value pada respon viskositas, pH dan waktu kecepatan mengering yaitu >0,05 yang berati tidak ada perbedaan yang signifikan antara hasil respon percobaan dengan nilai respon prediksi software Design Expert. Model persamaan dari software Design Expert dapat dikatakan valid dan memberikan gambaran pengaruh proporsi carbopol 940 dan TEA terhadap respon viskositas, pH dan waktu kecepatan mengering. Hasil verifikasi formula optimum spray gel ekstrak daun akalifa dapat dilihat pada tabel 5.10.

6.4 Menganalisa Aktivitas Antibakteri Formula Optimum Sediaan Spray
Gel Esktrak Daun Akalifa (Acalypha wilkesiana Müell. Arg.)
Membandingkan Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif Terhadap
Escherichia Coli.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri yang terdapat pada formula optimum sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media agar. Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri formula optimum sediaan

spray gel esktrak daun akalifa yaitu metode angka lempeng total (ALT). Angka lempeng total yaitu angka yang menunjukkan jumlah koloni bakteri mesofil pada tiap 1 mL atau 1 gram sampel yang akan diuji. Prinsip kerja angka lempeng total yaitu menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media setelah sempel ditanam lalu diinkubasi terbalik selama 24-48 jam pada suhu 35-37°C (Sundari & Fadhliani, 2019).

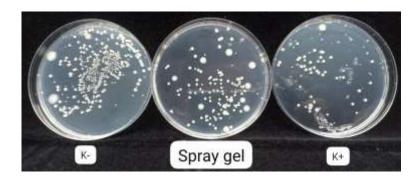
Metode ALT dipilih karena lebih efektif untuk mengetahui aktivitas antibakteri dengan bahan pembanding alkohol. Medium yang digunakan dalam pengujian ini adalah media *Nutrient Agar. Nutrient agar* digunakan sebagai media karena media yang umum dan mengandung nutrisi yang diperlukan oleh berbagai jenis bakteri untuk tumbuh. Suhu yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 37°C merupakan suhu normal manusia. Bakteri mesofil merupakan jenis bakteri yang banyak dijumpai sebagai patogen didalam tubuh manusia, 37°C merupakan suhu yang optimum untuk pertumbuhan bakteri *E.coli*.

Peralatan yang digunakan disterilkan terlebih dahulu menggunakan pemanasan basah dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk menghindari kontaminasi mikroba, untuk pertumbuhan bakteri yang tepat dari sampel yang akan diuji. Pada uji aktivitas antibakteri terdapat tiga perlakuan yaitu kontrol positif alkohol 70%, kontrol negatif basis *spray* gel formula optium, dan perlakuan sampel dengan formula optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa.

Pengenceran dilakukan untuk mengurangi kandungan mikroba di dalam sampel agar dapat mengamati dan mengetahui jumlah koloni secara spesifik dan lebih mudah menghitungnya. Pengenceran dilakukan dengan aquadest dengan seri

pengenceran 10⁻⁶. Suspensi bakteri dipipet sebanyak 1 mL lalu dicampur dengan 10 mL sampel uji dan dihomogenkan. Setelah homogen larutan sampel yang akan diuji dipipet sebanyak 1 mL dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 9 mL lalu dihomogenkan. Proses ini dilakukan sampai 10⁻⁶.

Pengujian angka lempeng total dilakukan karena sediaan *spray* gel terbuat dari ekstrak etanol daun akalifa yang diperoleh dari alam sehingga memungkinkan mikroba yang dapat mempengaruhi stabilitas dan *acepteble* sediaan. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode ALT dilakukan dengan metode *spread plate* atau metode permukaan. Hasil dari analisa ini dapat digunakan sebagai indikator untuk menggambarkan derajat kontaminasi dari suatu sediaan farmasi. Analisa ini dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri ke dalam suatu media di cawan petri.



Gambar 6.2 Pengujian Angka Lempeng Total

Pada gambar 6.2 diatas hasil uji cemaran bakteri metode ALT menunjukkan adanya bakteri yang tumbuh pada media. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya koloni putih setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Hasil yang diperoleh diatas jelas menunjukkan perbedaan antara sampel, kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol negatif menumbuhkan lebih banyak bakteri daripada

ssampel dan control positif. Media yang ditumbuhi koloni bakeri selanjutnya dapat langsung diamati dan dihitung.

Hasil pengujian ALT formula optimum spray gel ekstrak daun akalifa dilakukan 3x replikasi menunjukkan hasil bahwa terdapat cemaran bakteri kurang dari 10^7 koloni/gram memenuhi batas persyaratan. Persyaratan standarisasi cemaran mikroba untuk uji ALT yang terkemas dalam bentuk sediaan semi padat adalah $\leq 10^7$ koloni/gram. Hal tersebut dapat disebabkan karena ekstrak etanol daun akalifa mengandung senyawa-senyawa yang bersifat sebagai antibakteri yaitu flavonoid, tannin dan saponin, hal ini diperkuat dengan hasil skrining fitokimia bahwa esktrak daun akalifa positif mengandung senyawa flavonoid, tannin dan saponin.

Berdasarkan tabel 5.11 diperoleh hasil pada kontrol negatif menunjukkan nilai tertinggi adanya cemaran bakteri *E.coli* yaitu senilai 2,4 x 10⁶ CFU/mL. Hasil terendah terdapat pada kontrol positif yaitu alkohol 70% yaitu 5,2 x 10⁵ CFU/mL. sedangkan hasil uji angka lempeng total terhadap formula optimum sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa yaitu 1,06x10⁶ CFU/mL. Semakin banyak jumlah koloni semakin banyak cemaran bakteri *E.coli* yang terdapat pada sediaan atau sampel uji. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan koloni bakteri pada uji angka lempeng total yaitu konsentrasi bahan aktif antimikroba, semakin tinggi jumlah konsentrasi bahan aktif yang digunakan maka jumlah koloni bakteri yang tumbuh akan semakin sedikit. Faktor yang kedua yaitu tingkat aseptistis pada saat proses penelitian dari ekstraksi sampai uji ALT. Faktor yang ketiga yaitu stabilitas dan penyimpanan sampel uji kontrol negatif dan sampel perlakuan. Pada kontrol

negatif jumlah koloni yang tumbuh pada media lebih banyak dari kontrol positif dan sampel, hal ini dikarenakan kontrol negatif tidak mengandung bahan aktif sebagai antimikroba.

Berdasarkan hasisl analisis statistik terhadap data yang dilakukan, data memiliki distribusi normal dan seragam, sehingga dapat dilanjutkan pengujian *one way ANOVA*. Pada lampiran 14, hasil analisis data *one way ANOVA* menunjukkan bahwa setiap perlakuan terhadap jumlah bakteri E.coli signifikan (p<0.05) atau berpegaruh signifikan dengan nilai sig 0.000. dari hasil terseut terlihat adanya perbedaan antara kelompok perlakuan. Untuk mengathui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan dilakukan uji SLD.

Hasil uji LSD dapat diketahui bahwa kontrol positif signifikan terhadap kontrol negatif dan sampel uji formula optimum sediaan *spray* gel esktrak daun akalifa yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini dikarenakan jumlah koloni bakteri *E.coli* yang tumbuh pada kontrol positif paling sedikit. Kontrol positif yang digunakan adalah alkohol dengan kadar 70%, lebih besar dari kadar konsentrasi sampel. Fungsi kontrol positif yaitu sebagai pembanding jumlah koloni yang dihasilkan sampel uji. Kontrol negatif yang digunakan adalah basis kosong tanpa adanya penambahan ekstrak. Alkohol juga sudah diketahui efektivitasnya sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai bahan aktif *hand sanitizer*. Alkohol memiliki aktivitas sebagai antiseptik dengan cara melepas ikatan asam nukleat pada struktur protein bakteri dan membentuk suatu masa yang solid.

Formula optimum *spray* gel esktrak daun akalifa menggunakan konsentrasi ekstrak daun akalifa sebagai bahan aktif sebesar 2%. Berdasarkan hasil studi pendahuluan yang telah dilaksanakan semakin banyak ekstrak yang digunakan maka akan mempengaruhi karakteristik sifat fisik sediaan berupa organoleptis dan viskositas. Konsentrasi ekstrak daun akalifa yang terlalu tinggi maka akan mempengaruhi sifat organoleptis berupa warna, yaitu akan memberikan warna merah kecoklatan dan gelap. Ekstrak daun akalifa juga dapat mempengaruhi viskositas sediaan menjadi lebih cair sehingga akan berpengaruh pada daya lekat *spray* gel estrak daun akalifa ketika digunakan. Kontrol positif berbeda bermakna dengan sampel uji formula optimum *spray* gel esktrak daun akalifa, namun *spray* gel esktrak daun akalifa bisa digunakan sebagai *spray* gel *hand sanitizer* karna telah memenuhi persyaratan yaitu jumlah koloni yang tumbuh <1x10⁷.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- 1. Ekstrak daun akalifa memiliki kandungan senyawa berupa *flavonoid, tannin* dan *saponin*.
- 2. Carbopol 940 sebagai gelling agent dominan dalam mempengaruhi respon viskositas dan waktu kecepatan mengering sedangkan TEA sebagai alkalizing agent dominan dalam mempengaruhi respon pH sedian spray gel esktrak daun akalifa.
- Diperoleh konsentrasi optimum carbopol 940 sebagai gelling agent yaitu
 0,075% dan TEA sebagai alkalizing agent yaitu 0,075% dengan nilai
 Desirability 1.
- 4. Formula optimum sediaan spray gel esktrak daun akalifa mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli dengan jumlah ALT 1,06x10⁶ CFU/mL berbeda signifikan dengan kontrol positif dan kontrol negatif.

7.2 Saran

1. Menggunakan *n-heksan* sebagai pelarut ketika proses ekstraksi daun akalifa untuk menghilangkan pigmen yang terdapat pada daun akalifa.

- 2. Meningkatkan konsentrasi bahan aktif sehingga menghasilkam aktivitas antibakteri yang tinggi namun tetap mempertimbangkan sifat karakteristik sediaan.
- 3. Melakukan uji stabilitas dan uji hendonik sediaan *spray* gel ekstrak daun akalifa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesina, S. K., 2000. Antimicrobial Constituents of the Leaves of Acalypha wilkesiana and Acalypha hispida. Journal of Crude Drug Research, Volume 18, pp. 45-48.
- Anjasmara, Enggartiyasto, Adib Suyanto, and Siti Hani Istiqomah. 2018. Pemanfaatan Hand Sanitizer Sebagai Pemutus Rantai COVID-19. Handsanitizer, 1. Ansel, H. C; Allen, L. V; Popovich, N. G. 2011. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug System, 9th Edition. Wolters Kluwer, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore.
- Arda, D., Hartaty, H., & Hasriani, H. (2020). Studi Kasus Pasien dengan Diare Rumah Sakit di Kota Makassar. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), 461–466.
- Ardiati, Kusuma Nastiti. 2018. Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Lidah Mertua (Sansivieria Trifasciata) Dengan Gelling Sgent Karbopol 934 Dan Uji Aktivitas Antibakteri Secara In Vitro Terhadap Staphylococcus Epidermidis. Universitas Muhammadiyah Surakarta 1 (1): 1–21.
- Arisandy. 2015. Pengaruh Penambahan Asam Tartrat Terhadap Penetrasi Perkutan Gel Kafein secara In Vitro. Skripsi. Universitas Jember.
- Asih, Yuni. 2020. Formulasi Dan Uji Daya Hambat Spray Hand Sanitizer Dari Air Perasan Jeruk Nipis (Citrus Aurantiifolia (Christm.) Swingle)
 Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus. Universitas Perintis Indonesia Skripsi: 7.
- Aswir, and Hasanul Misbah. 2018. Cahyaningsih, N. (2018). Formulasi dan evaluasi sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut (Citrus hystrix DC.) dengan basis HPMC sebagai antibakteri terhadap Staphylococcus aureus. Program studi farmasi fakultas farmasi universitas muhammadiyah Surakarta
- Barel, A. O., M. Paye, dan H. I. Maibach. 2009. *Handbook of Cosmetic Science and Technology. Third Edition. Informa Healthcare USA, Inc. New York*. 233, 261-262.
- Depkes RI. 1995. Farmakope Indonesia Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI, 1979, Farmakope Indonesia Edisi III, 378, 535, 612. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama, 3-11, 17-19, Dikjen POM*, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Profil kesehatan Indonesia 2007*. Jakarta : Depkes RI Jakarta

- Din, W. et al., 2013. Antioxidant and Cytoprotective Effects of An Ethanol Extract of Acalypha wilkesiana Var. Macafeana from Malaysia. Natural Product Communications, 8(3), pp. 375-380.
- Endarini, L.H., 2016, *Farmakognosi dan Fitokimia, Ebook*, Pusat Pendidikan SDM Kesehatan, Jakarta.
- Fauziyah, Dona. 2020. formula dan uji daya hambat mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (Citrus x Microcarpa Bunge) sebagai spay hand sanitizer terhadap bakteri Staphylococcus Aureus, 1–83.
- Fery Yuniarto, Prayoga, Endang Sri Rejeki, and Dewi Ekowati. 2014. Optimasi Formula Gel Buah Apel Hijau (Pyrus Malus L.) Sebagai Antioksidan Dengan Kombinasi Basis Carbopol 940 Dan Gliserin Secara Simplex Lattice Design Optimation of Formula of Green Apple (Pyrus Malus L.) an Antioxidant with Carbopol 940 and Glyceri. Universitas Setia Budi 11 (2): 130–38.
- Gotep, J. G., G. O.A. Agada, D. S. Gbise, and S. Chollom. 2010. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Acalypha Wilkesiana Leaves Growing in Jos, Plateau State, Nigeria. Malaysian Journal of Microbiology 6 (1): 69–74.
- Holifah, Yani Ambari, Arista Wahyu Ningsih, Butet Sinaga, and Iif Hanifa Nurrosyidah. 2020. efektivitas antiseptik gel hand sanitizer ekstrak etanol pelepah pisag kepok (*Musa Paradisiaca L.*) terhadap bakteri Staphylococcus Aureus dan *Escherihia Coli. Jurnal Ilmiah Medicamento* 6 (2): 123–32.
- Hutasoit, Dion Pardameian. 2020. Pengaruh Sanitasi Makanan Dan Kontaminasi Bakteri *Escherichia Coli* Terhadap Penyakit Diare. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada* 12 (2): 779–86.
- Ida Ayu Raka Astiti Asih, Wiwik Susanah Rita, I Gusti Bagus Teguh Ananta, Ni Kadek Dyan Mustika Sri Wahyuni. 2018. aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Pisang (Musa Sp.) Terhadap Escherichiacoli Dan Staphylococcus Aureus Serta Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. Cakra Kimia 6 (Mic): 56–63.
- Igwe, K. K. et al., 2016. Studies on the Medicinal Plant Acalypha wilkesiana Ethanol Extract Phytocomponents by GCMS Analysis. *Global Journal of Science Frontier Research*, 16(1), pp. 49-55
- Ikewuchi, Jude C., Eugene N. Onyeike, Augustine A. Uwakwe, and Catherine C. Ikewuchi. 2011. Effect of Aqueous Extract of the Leaves of Acalypha Wilkesiana 'Godseffiana' Muell Arg (Euphorbiaceae) on the Hematology, Plasma Biochemistry and Ocular Indices of Oxidative Stress in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Journal of Ethnopharmacology* 137 (3): 1415–24.

- Ikewuchi, C. C., 2009. Comparative Study on the Vitamin Composition of Some Common Nigerian Medicinal Plants. Pac. J. Sci. Technol, Volume 10, pp. 367-371.
- Ikewuchi, J., Augustine, A. U., Eugene & Catherine, 2011. Hepatoprotective Effect of An Aqueous Extract of The Leaves of Acalypha wilkesiana 'godseffiana' muell arg (Euphorbiaceae) Against Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury in Rats. EXCLI Journal, Volume 10, pp. 280-289.
- Ikewuchi, J. & Ikewuchi, C., 2010. Hypocholesterolaemic Effect of Aqueous Extract of Acalypha wilkesiana 'Godseffiana' Muell Arg on Rats Fed Egg Yolk Supplemented Diet: Implications for Cardiovascular Risk Management.. Research J. Science and Tech, 2(4), pp. 78-81.
- Ryan Ismulyani. 2020. Uji Sifat Fisik Gel Spray Cangkang Telur Ayam Dan Telur Puyuh Terhadap Efek Koagulasi Luka Sayat Pada Kelinci.
- Hutapea JR dkk. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid II*. Departemen Kesehatan R.I. Balitbang Kesehatan, Jakarta.
- Johan, D W I, and Sono Kromo. 2020. formula dan uji sifat fisik hand sanitizer dari kombinasi ektrak kulit pisang raja (Musa Sapientum L.) dan ekstrak lidah buaya (Aloe Vera L.).
- Kamishita, Takuzo., Takashi Miyaaki, and Yoshihide Okunp. 1992. Spray Gel Base and Spray Gel Preparation Using Thereof. United State Patent Application Publication 99 (1): 283.
- Kemenkes RI. 2018. *Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018*. Kementrian Kesehatan RI 53 (9): 1689–99.
- Kingsley, O., Marshall, A. A., Inegbenoseb, I.I.& I,A.M., 2013. *Phytochemical, Proximate and Elemental Analysis of Acalypha wilkesiana Leaves. Scientific Journal of Pure and Applied Sciences*, 2(9), pp. 323-331.
- Kresnawati, Yani, Sri Fitrianingsih, Cucuk Puji Purwaningsih, Fakultas Farmasi, Sekolah Tinggi, Ilmu Farmasi, and Yayasan Pharmasi. 2022. Formulasi Dan Uji Potensi Sediaan Spray Gel Niasiamida Dengan Propilenglikol Sebagai Humektan 1,3 6 (2): 281–90.
- Lamarre, Alain, and J Talbot. 1989. Effects of aqueous leaf extract of Acalypha wilkesiana on semen morphology and characteristics in male Wistar albino rats.Nig. J. Anim. Prod. 2019, 46(2):47 54 Nigerian Journal of Animal Production ©Nigerian
- La Elisabeth, O.J., Sawiji, R.T., Yuliawati, A.N. 2020. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product.* 03 (01):2656-3215
- Lailatul, M. (2013). Ketersediaan Sarana Sanitasi Dasar, Personal Hygiene Ibu dan Kejadian Diare. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(2), 167-73

- Madziga, H. A., Sanni, S. & Sandabe, U. K., 2010. Phytochemical and Elemental Analysis of Acalypha wilkesiana Leaf.. *Journal of American Science*, 6(11), pp. 510-514.
- Maria U Ade. 2017. Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt) Pada Pemisahan Ambroksol Hcl Dalam Sediaan Obat Sirup Merek X', *Jurnal Analis Farmasi*, 2(3), Pp. 214–220
- Maulidya, Fika Aryati, and Yurika Sastyarina. 2020. Optimasi Formula Spray Gel Ekstrak Bawang Tiwai (Eleutherine Americana (Aubl) Merr). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 135–38.
- Novia Agustina, Yekti Asih Purwestri, Laurentius Hartanto Nugroho. 2016. Antioxidant Activity and Histochemical Analysis of Acalypha indica L. and Acalypha wilkesiana Muell. Arg. Vegetative and Generative Organs, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8(10); 1657-1662.
- Nurhayati, Lilih Siti, Nadhira Yahdiyani, and Akhmad Hidayatulloh. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi* Hasil P
- Ofori, D. A., P. Anjarwalla, L. Mwaura, R. Jamnadass, P. C. Stevenson, P. Smith, Wojciech Koch, et al. 2020. antibacterial effect of extract of acalypha wilkesiana on gastrointestinal tract pathogens and bacteria causing skin infections in neonates: 1–12.
- Okoye, E.I, and Amadi. 2019.Preliminary Study on He Pharmaceutical Constituents of Acalypha Wilkesiana and Production of Phytodrug for the Treatment of Skin Infection. *Chemistry Resrarch Journal*. 4 (3): 111–16.
- Oladunmoye, M., 2006. Comparative Evaluation of Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Two Varieties of Acalypha Wilkesiana.. *International Journal of Tropi*
- Oluduro, Ife. 2011. Antibacterial Effect of Extracts Of 13 (2): 371–81.
- Oyebode, Olajumoke A., Ochuko L. Erukainure, Neil A. Koorbanally, and Md Shahidul Islam. 2018. Acalypha Wilkesiana 'Java White': *Identification of Some Bioactive Compounds by Gc-Ms and Their Effects on Key Enzymes Linked to Type 2 Diabete. Acta Pharmaceutica* 68 (4): 425–39.
- Pujiastuti, E., El'Zeba, D. 2021. Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Dan 96% Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) Dengan Spektrofotometri. *Cendekia Journal of Pharmacy*. 5 (1):2599-2155.

- Putra, I Made Agus Sunadi. 2020. uji aktivitas antibakteri ektrak etanol daun sirsak (*Annonae Muricata L*.) dengan metode difusi agar cakram terhadap Escherichia Coli. *Jurnal Ilmiah Medicamento* 1 (1): 15–19.
- Quds, T. et al., 2012. Antiemetic Activity of Acalypha fimbriata Schumach. & Thonn., Acalypha ornata Hochst., and Acalypha wilkesiana cv. godseffiana Muell Arg.. *Phytopharmacology*, 3(2), pp. 335-340.
- Rahayu, Titis, Achmad Fudholi, and Annisa Fitria. 2016. Optimasi Formulasi Gel Ekstrak Daun Tembakau (Nicotiana Tabacum) Dengan Variasi Kadar Karbopol940 Dan Tea Menggunakan Metode Simplex Lattice Design (Sld). *Jurnal Ilmiah Farmasi* 12 (1): 22–34.
- Santoso, Joko, and Heru Nurcahyo. 2021. Optimasi Gel Hand Sanitizer Oleum Citri Dengan Kombinasi Carbopol, Lidah Buaya Dan Tea Menggunakan Simplex Lattice Design. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): *Ilmu Farmasi Dan Kesehatan 6* (1): 21–28.
- Shafira, Ulfa, Amila Gadri, and Lertari Fetri. 2015. Formulasi Sediaan Spray Gel Serbuk Getah Tanaman Jarak Cina (Jatropha Multifida Linn.) Dengan Variasi Jenis Polimer Pembentuk Film Dan Jenis Plasticizer. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*, 562–67.
- Shah, Heeshma, Ankitkumar Jain, Geetanjali Laghate, and Divya Prabhudesai. 2020. Pharmaceutical Excipients. Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 633–43.
- Syakira, Sarjana Farmasi, and Fakultas Ilmu Kesehatan. 2022. optimasi konsentrasi gelling agent dan humektan terhadap karakteristik fisik sediaan gel daun beluntas(Pluchea Indica L).
- Suhesti, Tuti Sri, M. Mudrik H. Rohman, and Sunarto Sunarto. 2022. Formulation of Gel Hand Sanitizer of Nagasari Leaf Extract (Mesua Ferrea L.). Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology 1 (1): 31. Suparyanto dan Rosad (2015. 2020. Suparyanto Dan Rosad (2015. 5 (3): 248–53.
- Suparyanto dan Rosad (2015. 2020). optimasi kombinasi karbopol 940 dan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) terhadap efektivitas gel antiseptik fraksi etil asetat daun kesum(Polygonum minus Huds.) dengan metode Simplex lattice Design Suparyanto Dan Rosad (2015 5 (3): 248–53.
- Troy, Holland, Hassan Chaouk, Bruktawit Aswaf, Stephen Goodrich, Adrian Hunter, and Vimala Ffancis. 2002. *Spray Hydrogel Wound Dressing*.
- Tsabitah, Amira Fawwaz, Abdul Karim Zulkarnain, Mae Sri Hartanti Wahyuningsih, and Dwi Aris Agung Nugrahaningsih. 2020. *Optimasi Carbomer, Propilen Glikol, Dan Trietanolamin Dalam Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan* (Tithonia Diversifolia). Majalah Farmaseutik 16 (2): 111.

- Vrushabendra, *, Swamy Bm, Jayaveera Kn, and Vrushabendra Swamy. 2007. Pharmacologyonline 3: 505-510 (2007) *Swamy and Jayaveera Antimicrobial Properties of Momordica Cymbalaria Hook*. F 510: 505–10.
- Wahyuni, Lara SofhyStudi. 2014. (*Brassica Oleracea L . Var . Capitata L .) terhadap bakteri Escherichia Coli*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Yohana Chaerunisaa, Anis, Patihul Husni, and Fairuzati Anisah Murthadiah. 2020. Modifikasi Viskositas Kappa Karagenan Sebagai Gelling Agent Menggunakan Metode Polymer Blend. Journal of The Indonesian Society of Integrated Chemistry 12 (2): 73–83.
- Zafarani, Welly. 2020. Spray Hand Sanitizer Dari Ekstrak Daun Jambu Biji (
 Psidium Guajava L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Skripsi
 Oleh: Welly Zafarani.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Derminasi Tanaman Daun Akalifa



Kede Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI

POLITEKNIK NEGERI JEMBER

UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU

Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531

E-mail: Politei@polite.ac.ld Web Site: http://www.Polite.ac.ld

Lampiran : 1 Berkas

Perihal : Identifikasi Kalsifikasi dan Morfologi Akafila sebagai Kajian Skripsi

Nama Peneliti : Galuh Maulidatin Nufus (Universitas dr. Soebandi)

Judul Skripsi : Optimasi Formula Spray Ekstrak Daun Acalypha wilkesiana Muell. Agr dan Uji

Aktivitas antibakteri in vitro terhadap Escherichia coli.

Pengidentifikasi: Ujang Tri Cahyono, SP.MM

Hasil Identifikasi Klasifikasi Tanaman Akafila

Hasifikasi Tanaman Akafila:

Kingdom/Regnum : Plantae

Divisio : Spermatophyta Sub Divisio : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)

Ordo : Euphorbiales
Famili : Euphorbiaceae
Genus : Acalypha

Spesies : Acalypha wilkesiana, M.A

Kunci Determinasi Tanaman Akafila

Kunci Determinasi		Keterangan
1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b,13b, 14a, 15a, 109b, 119b, 120b,	16	Tumbuh-tumbuhan dengan bunga sejati. Sedikit-dikitnya dengan benang sari dan atau putik. Tumbuh-tumbuhan berbunga2
128b, 129b, 135b, 136b, 139b, 140b, 142b, 143b, 146b, 154b, 155b, 156b,	2b	Tidak ada alat pembelit. Tumbuh-tumbuhan dapat juga memanjat atau membelit (dengan batang,poros daun atau tangkai daun)3
162a (67) Family: Euphorbiaceae, 1b, 3a, 4b, 5b, 6b,	3b	Daun tidak berbentuk jarum atau tidak terdapat dalam berkas tersebut diatas4
7b, 9b (9) genus: Acalypha, spesies: Acalypha wilkesiana, M.A	4b	Tumbuh-tumbuhan tidak menyerupai bangsa rumput. Daun dan atau bunga berlainan dengan yang diterangkan diatas
ruxesiana, St.A	6b	Dengan daun yang jelas7

76	Bukan tumbuh-tumbuhan bangsa palem atau yang menyerupainya
96	Tumbuh-tumbuhan tidak memanjat dan tidak membelit10
105	Daun tidak tersusun demikian rapat menjadi roset
1115	Tidak demikian. Ibu tulang daun dapat dibedakan jelas dari jaring urat daun dan dari anak cabang tulang daun yang kesamping dan serong keatas12
126	Tidak semua daun dalam karangan. Atau tidak ada daun sama sekali
136	Tumbuh-tumbuhan berbentuk lain14
14a	Daun tersebar, kadang-kadang sebagaian berhadapan15
15a	Daun tunggal, tetapi tidak berbagi menyirip rangkap sampai bercangap menyirip rangkap (golongan 8)
1096	Tanaman daratan (atau tumbuh) di antara tanaman bakau119
1196	Tanaman lain120
1206	Tanaman tanpa getah128
128b	Daun lain. Bukan rumput-rumputan yg merayap, dan mudah berakar129
1296	Tidak ada upih daun yg jelas, paling-paling pangkal daun sedikit atau banyak mengelilingi batang135
135Ь	Daun tidak berbentuk kupu-kupu berlekuk dua136
136b	Susunan tulang daun menjari atau menyirip139
139ь	Tidak ada bekas berbentuk cincin yang melingkar pada cabang140
1406	Kelopak tanpa kelenjar demikian142
142b	Cabang tidak demikian143
143b	Sisik demikian tidak ada146
146b	Tanaman tidak berduri atau tidak berduri tempel (buah diabaikan)154
154b	Bunga tidak dalam bongkol dengan daun pembalut sedemikian155
155b	Bunga tidak tertanam pada tangkai daun156
156b	Bakal buah menumpang162
162a	Tangkai daun pada ujungnya dengan 1-2 kelenjar yang menonjol, di dekat pangkal sering ada daun penumpu yg

16	Bunga tidak dalam cyathia3
3a	Daun majemuk menjari, atau berbagi menjari, atau jelas bertulang daun menjari (kerapkali daun hanya pada pangkalnya yang bertulang daun menjari, selainnya itu bertulang daun menyirip. Juga tanaman semacam ini dimaksudkan di atas)4
4b	Daun tidak majemuk5
5b	Tanda bekas tidak bentuk cincin6
6Ь	Tanaman lain7
7ь	Daun belah ketupat bentuk telur, dengan keliling rata9
9ь	Karangan bunga sebagaian besar di ketiak daun. Tidak ada kelenjar jelas pada ujung tangkai daun
	spesies: Acalypha wilkestana, M.A

REFERENSI

C.G.G.J. Van Steenis, G. Den Hoed, S. Bloembergen, dan P.J. Eyma. 2005. Flora. PT. Pradnya Paramita: Jakarta.

C.G.G.J. Van Steenis. 2010. Flora Pegunungan Jawa (The Mountain Flora of Java). Pusat Penelitian Biologi-LIPI: Bogor.

Muzayyinah. 2008. Terminologi Tumbuhan. LPP UNS dan UNS Press: Surakarta.

Rosanti, D. 2013. Morfologi Tumbuhan. Penerbit Erlangga: Jakarta.

Tjitrosoepomo, G. 2007. Morfologi Tumbuhan. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.

Mengetahui, Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu

Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM NIP. 197106212001121001 Jember, 03 April 2023

Dibuat oleh

Ujang Tri Cahyono, S.P,M.M NIP. 198107082006041003

Lampiran 2 Proses Ekstraksi Daun Akalifa



Proses pengeringan daun akalifa dengan oven pada suhu 50°C



Proses penghalusan simplisia daun akalifa



Proses ekstraksi maserasi dan remaserasi serbuk simplisia daun akalifa



Proses penyaringan setelah ekstraksi



Proses penguapan ekstrak cair daun akalifa dengan waterbath



Hasil ekstrak kental daun akalifa

Lampiran 3 Skrining Fitokimia Daun Akalifa



Blanko sampel ektrak daun akalifa



Hasil identifikasi flavonoid ekstrak daun akalifa



Hasil identifikasi *tannin* ekstrak daun akalifa



Hasil identifikasi saponin ekstrak daun akalifa



Hasil identifikasi *alkaloid* ekstrak daun akalifa



Reagen Mayer, serbuk Magnesium, reagen Dragendroff, FeCl3 10%, HCl 2N, HCl pekat

Lampiran 4 Bahan-Bahan Pembuatan Hand Sanitizer Spray



Bahan pembuatan formula *hand* sanitizer spray



Carbopol 940



Trietanolamin (TEA)



Gliserin

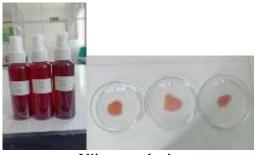


Aquadest



Ekstrak kental daun akalifa

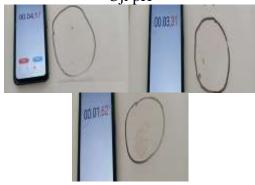
Lampiran 5 Evaluasi Sediaan Hand sanitizer Spray







Uji pH



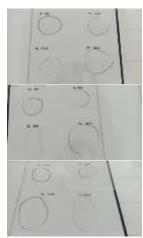
Uji kecepatan mengering



Uji homogenitas



Uji viskositas



Uji pola penyemprotan (diameter pola penyemprotan)



Uji pola penyemprotan (bobot sediaan yang keluar)

Lampiran 6 Hasil Analisis Respon Pola Penyemprotan (bobot sediaan) pada Anova

a. Jarak 3 cm

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a				Shapiro-Wilk		
	3CM	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HASIL	F1	,292	3		,923	3	,463
	F2	,175	3		1,000	3	1,000
	F3	,175	3		1,000	3	1,000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HASIL	Based on Mean	1,730	2	6	,255
	Based on Median	,444	2	6	,661
	Based on Median and with	,444	2	3,176	,676
	adjusted df				
	Based on trimmed mean	1,612	2	6	,275

ANOVA

HASIL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,009	2	,005	21,684	,002
Within Groups	,001	6	,000		
Total	,010	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HASIL

		Mean Difference			95% Confide	ence Interval
(I) 3CM	(J) 3CM	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	-,01333	,01186	,304	-,0424	,0157
	F3	-,07333*	,01186	,001	-,1024	-,0443
F2	F1	,01333	,01186	,304	-,0157	,0424
	F3	-,06000*	,01186	,002	-,0890	-,0310
F3	F1	,07333*	,01186	,001	,0443	,1024
	F2	,06000*	,01186	,002	,0310	,0890

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

b. Jarak 5 cm

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a				Shapiro-Wilk		
	5CM	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HASIL	F1	,175	3		1,000	3	1,000
	F2	,175	3		1,000	3	1,000
	F3	,175	3		1,000	3	1,000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HASIL	Based on Mean	,667	2	6	,548
	Based on Median	,667	2	6	,548
	Based on Median and with	,667	2	4,000	,562
	adjusted df				
	Based on trimmed mean	,667	2	6	,548

ANOVA

HASIL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,025	2	,013	63,500	,000
Within Groups	,001	6	,000		
Total	,027	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HASIL

		Mean Difference			95% Confidence Interval	
(I) 5CM	(J) 5CM	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	-,06000*	,01155	,002	-,0883	-,0317
	F3	-,13000 [*]	,01155	,000	-,1583	-,1017
F2	F1	,06000*	,01155	,002	,0317	,0883
	F3	-,07000*	,01155	,001	-,0983	-,0417
F3	F1	,13000*	,01155	,000	,1017	,1583
	F2	,07000*	,01155	,001	,0417	,0983

 $[\]ensuremath{^{*}}.$ The mean difference is significant at the 0.05 level.

c. Jarak 10 cm

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a					Shapiro-Wilk	
	10CM	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HASIL	F1	,175	3		1,000	3	1,000
	F2	,253	3		,964	3	,637
	F3	,253	3		,964	3	,637

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HASIL	Based on Mean	1,217	2	6	,360
	Based on Median	,600	2	6	,579
	Based on Median and with	,600	2	4,545	,587
	adjusted df				
	Based on trimmed mean	1,172	2	6	,372

ANOVA

HASIL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,040	2	,020	164,273	,000
Within Groups	,001	6	,000		
Total	,041	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HASIL

LOD							
	Mean Difference				95% Confidence Interval		
(I) 10CM	(J) 10CM	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound	
F1	F2	-,07333*	,00903	,000	-,0954	-,0512	
	F3	-,16333*	,00903	,000	-,1854	-,1412	
F2	F1	,07333*	,00903	,000	,0512	,0954	
	F3	-,09000*	,00903	,000	-,1121	-,0679	
F3	F1	,16333*	,00903	,000	,1412	,1854	
	F2	,09000*	,00903	,000	,0679	,1121	

 $[\]ast$. The mean difference is significant at the 0.05 level.

d. Jarak 15 cm

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a				Shapiro-Wilk			
	15CM	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
HASIL	F1	,253	3		,964	3	,637	
	F2	,175	3		1,000	3	1,000	
	F3	,253	3		,964	3	,637	

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HASIL	Based on Mean	1,684	2	6	,263
	Based on Median	1,500	2	6	,296
	Based on Median and with	1,500	2	4,000	,327
	adjusted df				
	Based on trimmed mean	1,687	2	6	,262

ANOVA

HASIL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,080,	2	,040	256,357	,000
Within Groups	,001	6	,000		
Total	,081	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HASIL

	Mean Difference				95% Confidence Interval		
(I) 15CM	(J) 15CM	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound	
F1	F2	-,22667*	,01018	,000	-,2516	-,2017	
	F3	-,15000 [*]	,01018	,000	-,1749	-,1251	
F2	F1	,22667*	,01018	,000	,2017	,2516	
	F3	,07667*	,01018	,000	,0517	,1016	
F3	F1	,15000*	,01018	,000	,1251	,1749	
	F2	-,07667*	,01018	,000	-,1016	-,0517	

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 7 Hasil Analisis Respon Pola Penyemprotan (diameter pola penyemprotan) pada Anova

a. Jarak 3 cm

Tests of Normality

]	Kolmogorov-Smirnov ^a				Shapiro-Wilk		
	DIAMETER3CM	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
HASIL	F1	,219	3		,987	3	,780	
	F2	,219	3		,987	3	,780	
	F3	,175	3		1,000	3	1,000	

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HASIL	Based on Mean	1,594	2	6	,279
	Based on Median	1,152	2	6	,377
	Based on Median and with adjusted df	1,152	2	3,910	,404
	Based on trimmed mean	1,567	2	6	,283

ANOVA

HASIL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,607	2	,804	91,082	,000
Within Groups	,053	6	,009		
Total	1,660	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HASIL

(I)	(J)	Mean			95% Confide	ence Interval
DIAMETER3C	DIAMETER3C	Difference	Std.		Lower	Upper
M	M	(I-J)	Error	Sig.	Bound	Bound
F1	F2	,34000*	,07669	,004	,1523	,5277
	F3	1,01667*	,07669	,000	,8290	1,2043
F2	F1	-,34000 [*]	,07669	,004	-,5277	-,1523
	F3	,67667*	,07669	,000	,4890	,8643
F3	F1	-1,01667 [*]	,07669	,000	-1,2043	-,8290
	F2	-,67667 [*]	,07669	,000	-,8643	-,4890

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

b. Jarak 5 cm

Tests of Normality

		Koln	nogorov-Smir	nov ^a		Shapiro-Wilk	:
	DIAMETER5CM	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HASIL	F1	,184	3		,999	3	,927
	F2	,328	3		,871	3	,298
	F3	,175	3		1,000	3	1,000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HASIL	Based on Mean	,588	2	6	,584
	Based on Median	,236	2	6	,797
	Based on Median and with adjusted df	,236	2	4,668	,799
	Based on trimmed mean	,559	2	6	,599

ANOVA

DIAMETER

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15,824	2	7,912	136,282	,000
Within Groups	,348	6	,058		
Total	16,172	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DIAMETER

		Mean Difference			95% Confide	ence Interval
(I) 5CM	(J) 5CM	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	2,35000 [*]	,19673	,000	1,8686	2,8314
	F3	3,11667*	,19673	,000	2,6353	3,5981
F2	F1	-2,35000 [*]	,19673	,000	-2,8314	-1,8686
	F3	,76667*	,19673	,008	,2853	1,2481
F3	F1	-3,11667*	,19673	,000	-3,5981	-2,6353
	F2	-,76667 [*]	,19673	,008	-1,2481	-,2853

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

b. Jarak 10 cm

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a				Shapiro-Wilk	: !		
	10CM	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.		
DIAMETER	F1	,196	3		,996	3	,878		
	F2	,175	3		1,000	3	1,000		
	F3	,219	3		,987	3	,780		

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DIAMETER	Based on Mean	,101	2	6	,905
	Based on Median	,046	2	6	,955
	Based on Median and with adjusted df	,046	2	5,706	,955
	Based on trimmed mean	,098	2	6	,908

ANOVA

DIAMETER

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15,622	2	7,811	151,995	,000
Within Groups	,308	6	,051		
Total	15,930	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DIAMETER

LSD

		Mean Difference			95% Confide	ence Interval
(I) 10CM	(J) 10CM	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	3,11667*	,18509	,000	2,6638	3,5696
	F3	2,28333*	,18509	,000	1,8304	2,7362
F2	F1	-3,11667*	,18509	,000	-3,5696	-2,6638
	F3	-,83333*	,18509	,004	-1,2862	-,3804
F3	F1	-2,28333*	,18509	,000	-2,7362	-1,8304
	F2	,83333*	,18509	,004	,3804	1,2862

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

c. Jarak 15 cm

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a				Shapiro-Wilk	
	10CM				Statistic	df	Sig.
DIAMETER	F1	,345	3		,839	3	,210
	F2	,301	3		,912	3	,424
	F3	,175	3		1,000	3	1,000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DIAMETER	Based on Mean	3,116	2	6	,118
	Based on Median	,404	2	6	,684
	Based on Median and with adjusted df	,404	2	4,079	,691
	Based on trimmed mean	2,717	2	6	,144

ANOVA

DIAMETER

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23,784	2	11,892	36,811	,000
Within Groups	1,938	6	,323		
Total	25,722	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DIAMETER

		Mean Difference			95% Confide	ence Interval
(I) 10CM	(J) 10CM	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	3,11667*	,18509	,000	2,6638	3,5696
	F3	2,28333*	,18509	,000	1,8304	2,7362
F2	F1	-3,11667*	,18509	,000	-3,5696	-2,6638
	F3	-,83333*	,18509	,004	-1,2862	-,3804
F3	F1	-2,28333*	,18509	,000	-2,7362	-1,8304
	F2	,83333*	,18509	,004	,3804	1,2862

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 8 Hasil Analisis Respon pH pada Software Design Expert

ANOVA for Linear model Response ti PH Sourie Squares of Mean Freque produce Model Las 1 Las 8.26 0.0037 segritures "Invest Minimum 1.88 1 Las 8.26 0.0037 segritures "Invest Minimum 1.88 1 Las 8.26 0.0037 segritures "Invest Minimum 1.88 1 0.000 0.0030 0.0000 rept significant Lack of 91 0.000 1 0.0000 0.0030 0.0000 rept significant Lack of 91 0.0000 1 0.0000 0.0030 0.0000 rept significant For Tetal 3.47 9 Minimum 2.500 segritures the model is significant. There is only a 2.37% chance that on F-value this large could occur due to notice. Pivalues less than 0.0000 indicate model terms are significant. Values greater than 0.1000 indicates the model terms are not significant if there are many insignificant model remm are not significant. If there are many insignificant model remm are not significant. If there are many insignificant model remm are not significant. If there are many insignificant model remm are not significant. If there are many insignificant model remm are not significant. If there are many insignificant model remms price to course greater than 1.0000 indicate model terms are not significant. If there are many insignificant model remms price occurring these required to support hierarchy, model reduction may improve your model.

ANNOVA for Linear Model Coefficients in Terms of Coded Factors

The Lack of Fit F-value of 0.00 implies the Lack of Fit is not significant retains to the pure error. There is a 95,00% chance that a Lack of fit F-value this large could occur due to noise. Faor-significant fack of fit is 9000 — we want the model to fit.

Component	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
A-CARBOPOL	4,65	-1	0.2513	4.06	5.25	1.04
E-TEA	5.77	1	0.2513	5.18	6.37	1.04

The coefficient estimate represents the expected change in response per unit change in factor value when all remaining factors are held constant. The intercept in an orthogonal design is the overall average response of all the runs. The coefficients are adjustments around that average based on the factor settings. When the factors are orthogonal the VIFs are 1; VIFs greater than 1 indicate multi-colinearity, the higher the VIF the more severe the correlation of factors. As a rough rule, VIFs less than 10 are tolerable.

Coefficients in Terms of Coded Factors

Final Equation in Terms of Real Components

Transport of the last of the l
+3.53333 * CARBO

Final Equation in Terms of Real Components

Fit Statistics

Std. Dev.	0.4767	R*	0.5418
Mean	5.21	Adjusted R	0.4764
C.V. %	9.14	Predicted R ⁴	0.1216
		College of the Colleg	
e Predicte	d R* of 0.1218	Adeq Precision	

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 4,964 indicates an

Fit statistic

adequate signal. This model can be used to navigate the design

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components

PH	=
+4.65	* A
+5.77	* B

The equation in terms of coded factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. By default, the high levels of the mixture components are coded as +1 and the low levels are coded as 0. The coded equation is useful for identifying the relative impact of the factors by comparing the factor coefficients.

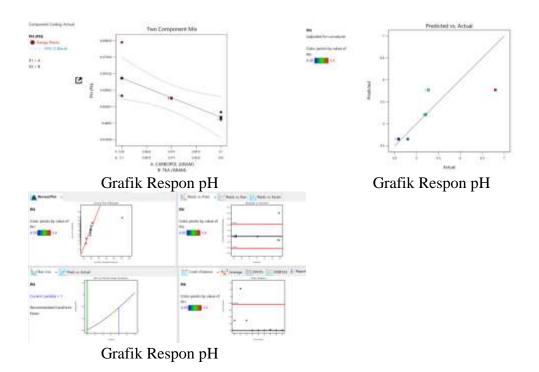
Final Equation in Terms of L_Pseudo Components

Final Equation in Terms of Actual Components

+23.55556 * CARBOR	PO

The equation in terms of actual factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. Here, the levels should be specified in the original units for each factor. This equation should not be used to determine the relative impact of each factor because the coefficients are scaled to accommodate the units of each factor and the intercept is not at the center of the design space.

Final Equation in Terms of Actual Components



Lampiran 9 Hasil Analisis Respon Viskositas pada Software Design Expert

ANOVA for Linear model

Response 2: VISKOSITAS

Source	Sum of Squares	cf	Mean Siguare	F-value	p-value	
Model	6402.67	1	6402.67	123.96	< 0.0001	significant
111 Linear Mixture	6402.67	1	6402.67	123.96	< 0.0001	
Residual	361,56	7	51.65			
Lack of Fit	56.89	1	56.89	1.12	0.3306	not significan
Pure Error	304.67	ñ	50.78			
Cor Total	6764.22	8				

Therence for linear mixtures uses Type I nums of squares.

Mixture Component coding is L_Pseudo. Sum of squares is Type III - Partial

The **Model F-value** of 123.95 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that an F-value this large could occur due to noise.

P-values less than 0.0500 indicate model terms are significant. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant, if there are many magnificant model terms (not counting those required to support tierrarchy), model reduction may improve your model.

The Lack of Fit F-value of 1.12 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 33,00% chance that a Lack of Fit F-value this large could occur due to noise. Non-agnificant lack of fit is good — we want the model to Fit.

ANNOVA for Linear Model

Coefficients in Terms of Coded Factors

Component	Coefficient Estimate	đf	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIE
A-CARBOPOL	252.11	1	3.79	243.15	261.07	1.04
B-TEA	186.78	1	3.79	177.82	195.73	1,04

The coefficient estimate represents the expected change in response per unit change in factor value when all remaining factors are held constant. The intercept in an orthogonal design is the overall average response of all the runs. The coefficients are adjustments around that average based on the factor settings. When the factors are orthogonal the VIFs are 1; VIFs greater than 1 indicate multi-colinearity, the higher the VIF the more severe the correlation of factors. As a rough rule, VIFs less than 10 are tolerable.

Coefficients in Terms of Coded Factors

Final Equation in Terms of Real Components

VISKOSITAS	=
+317.44444	* CARBOPOL
+121,44444	* TEA

Final Equation in Terms of Real Components

Fit Statistics

Std. Dev.	7.19	9 2	0.9465
Mean	219.44	Adjusted R ²	0.9389
C.V. %	3.28	Predicted R ²	0.9305
C.V. 76	3.28	Adeq Precision	19,2842

The **Predicted R²** of 0.9256 is in reasonable agreement with the **Adjusted R²** of 0.9389; i.e. the difference is less than 0.2.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 19.284 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Fit statistic

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components

īv	SKOSITAS	4
r	A75711	+ 8

The equation in terms of coded factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. By default, the high levels of the minture components are coded as +1 and the low levels are coded as 0. The coded equation is useful for identifying the relative impact of the factors by comparing the factor coefficients.

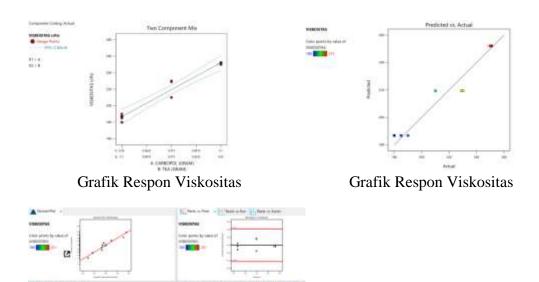
Final Equation in Terms of L_Pseudo Components

Final Equation in Terms of Actual Components

VISKOSITAS :	
+2116 29630	* CARBOPOL

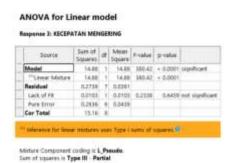
The equation in terms of actual factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor, ever, the levels should be specified in the original units for each factor. This equation should not be used to determine the relative impact of each factor because the coefficients are scaled to accommodate the levels of each factor and the intercept is not at the center of the design space.

Final Equation in Terms of Actual Componen



Grafik Respon Viskositas

Lampiran 10 Hasil Analisis Respon Kecepatan Mengering pada Software Design Expert

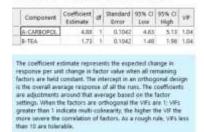


The **Model F-value** of 380.42 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that an F-value this large could occur due to noise.

P-values less than 0.0500 indicate model terms are significant. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there a many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The Lack of Fit F-value of 0.23 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 64.59% chance that a Lack of Fit F-value this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good — w want the model to fit.

ANNOVA for Linear Model



Coefficients in Terms of Coded Factors

Final Equation in Terms of Real Components



Final Equation in Terms of Real Components

Fit Statistics

Std. Dev.	0.1978	R ²	0.9819
Mean	3.31	Adjusted R ²	0.9794
C.V. %	5.98	Predicted R ²	0.9658
		Adeq Precision	33,7825

The **Predicted R²** of 0.9658 is in reasonable agreement with the **Adjusted R²** of 0.9794; i.e. the difference is less than 0.2.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio, A rabo greater than 4 is desirable. Your ratio of 33,783 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Fit statistic

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components



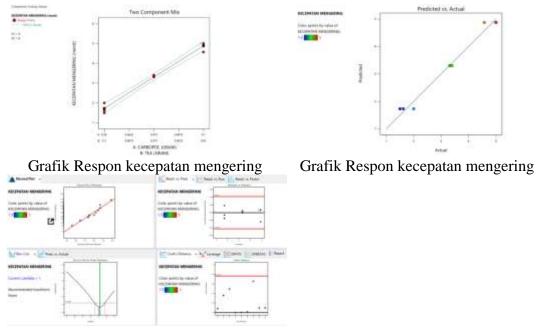
The equation in terms of coded factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. By default, the high levels of the mixture components are coded as +1 and the low levels are coded as 0. The coded equation is useful for identifying the relative impact of the factors by comparing the factor coefficients.

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components Final Equation in Terms of Actual

Components

The equation in terms of actual factors can be used to make predictions, about the response for given levels of each factor. Here, the levels should be specified in the original unity for each factor. This equation should not be used to determine the relative impact of each factor because the coefficients are scaled to accommodate the units of each factor and the intercept is not at the center of the design space.

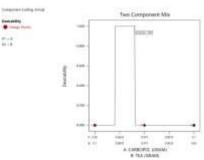
Final Equation in Terms of Actual Components



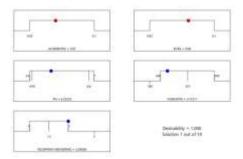
Grafik Respon kecepatan mengering

Lampiran 11 Hasil Optimasi Formula Optimum

1. Hasil Solusi Formula Optimum



Grafik Hubungan Faktor Terhadap Desirability Index



Hasil Solusi Formula Optimum

Lampiran 12 Verifikasi Formula Optimum *spray* gel ekstrak daun akalifa (Hasil *One Sample T-test* pH Formula Optimum)

Tests of Normality

	Kolr	nogorov-Smir	nov ^a		Shapiro-Wilk	
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
рН	,246	3		,970	3	,669

a. Lilliefors Significance Correction

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	
pН	3	6,7200	3,01511	1,74078	

One-Sample Test

Test	Value =	0
1000	, ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	~

				est varae – o		
					95% Confidenc	e Interval of the
				Mean	Difference	
	t	df	Sig. (2-tailed)	Difference	Lower	Upper
pН	3,860	2	,061	6,72000	-,7700	14,2100

Lampiran 13 Verifikasi Formula Optimum spray gel ekstrak daun akalifa (Hasil One Sample T-test viskositas Formula Optimum)

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
viskositas	,213	3		,990	3	,809

a. Lilliefors Significance Correction

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
viskositas	3	372,0000	251,75583	145,35130

One-Sample Test

				Т	est Value = 0		
						95% Confidence	e Interval of the
					Mean	Differ	rence
_		t	df	Sig. (2-tailed)	Difference	Lower	Upper
7	viskositas	2,559	2	,125	372,00000	-253,3962	997,3962

Lampiran 14 Verifikasi Formula Optimum *Spray* gel ekstrak daun akalifa (Hasil *One Sample T-test* Waktu Kecepatan Mengering Formula Optimum)

Tests of Normality

	Koln	nogorov-Smir	mov ^a		Shapiro-Wilk	
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KECEPATANMENGERING	,309	3		,900	3	,387

a. Lilliefors Significance Correction

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KECEPATANMENGERING	3	4,4300	2,38703	1,37815

One-Sample Test

Test Value -

		Test Value = 0						
					95% Confider	nce Interval of		
			Sig. (2-	Mean	the Dif	ference		
	t	df	tailed)	Difference	Lower	Upper		
KECEPATANMENGE	3,214	2	,085	4,43000	-1,4997	10,3597		
RING								

Lampiran 15 Uji Aktivitas Antibakteri







Mc farland

Standart mc farland







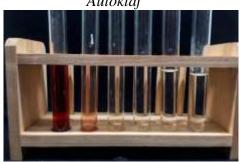
Sterilisasi

Inkubator

Autoklaf







Peralatan uji ALT

Inkubasi

Pengenceran sampel spray gel esktrak daun akalifa







Surat pernyataan pembelian bakteri

Aquadest

Alkohol 70% (kontrol negatif







Hasil uji angka lempeng total

Lampiran 16 Analisis Data

1. Uji normalitas

Tests of Normality

	DAYAHAMBA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	T	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
HASIL	K+	,175	3		1,000	3	1,000	
	K-	,253	3		,964	3	,637	
	Sampel	,175	3		1,000	3	1,000	

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HASIL	Based on Mean	,483	2	6	,639
	Based on Median	,375	2	6	,702
	Based on Median and with adjusted df	,375	2	4,923	,705
	Based on trimmed mean	,476	2	6	,643

3. Uji ANOVA

ANOVA

HASIL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57294,889	2	28647,444	11719,409	,000
Within Groups	14,667	6	2,444		
Total	57309,556	8			

4. Uji Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HASIL

~						
(I)	(J)	Mean			95% Confidence Interval	
DAYAHAMBA	DAYAHAMBA	Difference (I-			Lower	
T	T	J)	Std. Error	Sig.	Bound	Upper Bound
K+	K-	278,33333 [*]	4,86103	,000	266,4388	290,2278
	SAMPEL	414,00000*	4,86103	,000	402,1055	425,8945
K-	K+	-278,33333*	4,86103	,000	-290,2278	-266,4388
	SAMPEL	135,66667*	4,86103	,000	123,7722	147,5612
SAMPEL	K+	-414,00000*	4,86103	,000	-425,8945	-402,1055
	K-	-135,66667 [*]	4,86103	,000	-147,5612	-123,7722

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.