

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengumpulan dan Determinasi Bahan

Penelitian ini bertujuan untuk membuat sediaan mikroemulgel dengan ekstrak etanol daun sirsak sebagai bahan aktif antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus*. Daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari perkebunan Manoko (Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung Barat). Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) (Lampiran 1).

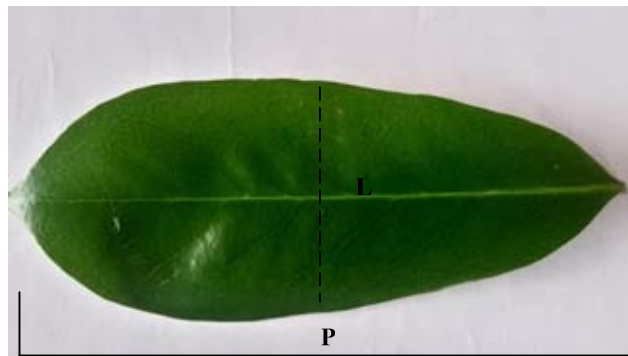
5.2 Uji Makroskopik

Dilakukan uji makroskopik terhadap daun sirsak yang digunakan pada penelitian ini. Berdasarkan pengujian makroskopik yang dibandingkan dengan pustaka Depkes RI (1989:41) bahwa tanaman yang digunakan terbukti kebenarannya yang merupakan daun sirsak. Hasil pemeriksaan makroskopik dapat dilihat pada **Tabel V.1**.

Tabel V.1 Hasil uji makroskopik daun sirsak

No	Uji Makroskopik	Hasil Pemeriksaan	Pustaka
1	Bentuk	lanset, ujung runcing	lanset
2	Ukuran	panjang = 12,4 cm lebar = 4,5 cm	panjang = 6-18 cm lebar = 2-6 cm
3	Warna	hijau muda-tua	kehijauan-hijau kecokelatan
4	Karakteristik Permukaan	tulang daun menyirip	tulang daun menyirip

*Pustaka: Depkes RI, 1989:41



Gambar V.1 Gambar contoh pengukuran daun sirsak

5.3 Pembuatan Simplisia

Tahapan pertama pada penelitian ini adalah pembuatan simplisia daun sirsak yang dilakukan di Laboratorium Riset Universitas Islam Bandung, dimulai dari pengumpulan daun sirsak, sortasi basah dengan tujuan memisahkan bagian yang tidak digunakan, kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada daun karena dapat mengganggu proses penetapan parameter standar simplisia, selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran untuk memperluas permukaan sehingga mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan yang dilakukan menggunakan lemari pengering pada suhu 42°C selama 48 jam. Daun yang telah kering kemudian diblender, proses ini bertujuan untuk membantu meningkatkan penarikan senyawa saat proses ekstraksi. Simplisia yang sudah diblender disimpan dalam wadah yang tertutup rapat untuk menghindari kontaminasi dari lingkungan. Hasil simplisia kering yang diperoleh dari 5 kg simplisia segar yaitu sebanyak 1,16 kg.

5.4 Penetapan Parameter Standar Simplisia

Karakterisasi simplisia meliputi penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol dan susut pengeringan, dilakukan dengan tujuan untuk menjamin keseragaman mutu simplisia agar memenuhi persyaratan standar simplisia dan ekstrak. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pemeriksaan karakteristik simplisia, diantaranya adalah bahan baku simplisia, cara pembuatan dan penyimpanan simplisia. Selain itu pemeriksaan ini juga menentukan jumlah cemaran dan pengotor yang terkandung pada simplisia. Berikut hasil pemeriksaan parameter standar simplisia dapat dilihat pada **Tabel V.2 dan Lampiran 2.**

Tabel V.2 Hasil pemeriksaan parameter standar simplisia

No	Parameter Standar Simplisia	Hasil Pemeriksaan (%)	Pustaka (%)
1	Kadar Air	4,6 ± 0,28	≤10
2	Kadar Abu Total	8,64 ± 0,03	≤6
3	Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,97 ± 0,11	≤1,5
4	Kadar Sari Larut Air	18,35 ± 0,07	≥18
5	Kadar Sari Larut Etanol	14,88 ± 2,18	≥12,5
6	Susut Pengeringan	1,52 ± 0,77	-

*Pustaka: Depkes RI, 1989:42

Penetapan kadar air simplisia sangat penting untuk memberikan batasan maksimal kandungan air di dalam simplisia, karena jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam simplisia (Depkes RI, 2000:15). Persyaratan kadar air simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 10%. Hasil pengujian kadar air untuk simplisia daun sirsak sebesar 4,6% menunjukkan bahwa simplisia tersebut telah memenuhi syarat standar kadar air.

Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia. Kadar abu total berkaitan dengan mineral baik senyawa organik maupun anorganik yang diperoleh secara internal maupun eksternal. Sedangkan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui jumlah abu yang diperoleh dari faktor eksternal, bersumber dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah silikat (Depkes RI, 2000:17).

Penetapan kadar sari larut air dan etanol dilakukan untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa yang dapat tersari dengan pelarut air dan etanol dari suatu simplisia (Depkes RI, 2000:31). Dari hasil pengujian menunjukkan kadar sari larut air daun sirsak memiliki nilai 18,35%, sedangkan kadar sari larut etanol sebesar 14,88%. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah senyawa polar yang dapat terlarut dalam air, lebih besar daripada jumlah senyawa kurang polar (semi polar maupun non polar) yang dapat terlarut dalam etanol. Hasil pengujian ini masih memenuhi syarat standar dalam pustaka.

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan (Depkes RI, 2000:13). Dari hasil pengujian diperoleh bahwa nilai susut pengeringan sebesar 1,52%. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah senyawa yang hilang (menguap) pada saat proses pengeringan hanya sebanyak 1,52%.

5.5 Ekstraksi

Untuk mendapatkan ekstrak daun sirsak pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi dengan cara maserasi. Ekstraksi ini bertujuan untuk melarutkan semua zat yang terkandung dalam sampel menggunakan pelarut yang sesuai. Keuntungan dari proses ekstraksi dengan maserasi adalah bahan yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam pelarut sampai meresap dan akan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan terlarut (Ansel, 1989:608). Simplisia sebanyak 1,16 kg dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 20 L selama 4 hari dan dilakukan penggantian pelarut setiap 24 jam sekali. Penggunaan pelarut etanol dikarenakan etanol sebagai pelarut organik universal yang aman, diharapkan dapat menarik senyawa polar, semi polar ataupun non polar. Penggantian pelarut bertujuan untuk mencegah terjadinya kejenuhan pada pelarut, sehingga tidak dapat melarutkan kembali senyawa yang diinginkan. Setelah itu dilakukan pemekatan ekstrak cair menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C. Pemekatan berarti peningkatan jumlah senyawa terlarut secara penguapan pelarut tanpa menjadi kondisi kering, maka ekstrak yang diperoleh hanya menjadi kental dan pekat (Depkes RI, 2000:10). Pada penelitian ini diperoleh rendemen ekstrak sebanyak 12,41%.

5.6 Penetapan Parameter Standar Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Setelah didapatkan ekstrak pekat, selanjutnya dilakukan penetapan parameter standar ekstrak yang meliputi parameter bobot jenis (BJ) dan uji

organoleptis. Tujuan dari penetapan BJ adalah untuk memberikan batasan besarnya massa per satuan volume (Depkes RI, 2000:14). Penentuan nilai BJ dilakukan dengan pengenceran ekstrak sebesar 1% yang kemudian diukur beratnya menggunakan piknometer. Hasil penetapan dapat dilihat pada **Tabel V.3** dan **Lampiran 3**.

Tabel V.3 Hasil penetapan parameter standar ekstrak

No	Parameter Standar Ekstrak	Hasil Pemeriksaan
1	Bobot Jenis	0,83
2	Organoleptis	
	<i>Bentuk</i>	kental dan pekat
	<i>Warna</i>	hitam kecokelatan
	<i>Bau</i>	berbau khas daun sirsak

5.7 Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak bertujuan untuk memastikan kandungan senyawa kimia yang terkandung didalam simplisia dan memastikan bahwa proses ekstraksi serta pemekatan ekstrak tidak merusak senyawa yang terkandung dalam simplisia. Hasil penapisan fitokimia pada simplisia dan ekstrak daun sirsak menunjukkan hasil yang sama, yaitu adanya kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, steroid, monoterpen/seskuiterpen dan polifenolat. Senyawa yang diduga sebagai antibakteri pada daun sirsak diantaranya, alkaloid, flavonoid dan polifenol (Sari *et al.*, 2010:237). Data penapisan fitokimia dapat dilihat pada **Tabel V.4**.

Tabel V.4 Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak daun sirsak

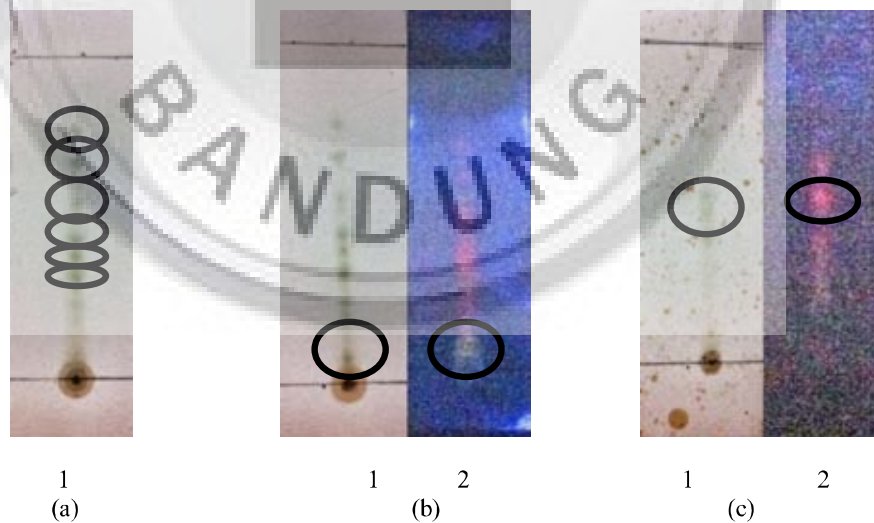
No	Golongan Senyawa	Simplisia		Ekstrak	
		(+)	(-)	(+)	(-)
1	Alkaloid	√	-	√	-
2	Flavonoid	√	-	√	-
3	Tanin	√	-	√	-
4	Kuinon	√	-	√	-
5	Triterpenoid&Steroid	√	-	√	-
6	Saponin	-	√	-	√
7	Monoterpenoid&Seskuiterpenoid	√	-	√	-
8	Polifenolat	√	-	√	-

Keterangan:

(+) = Terdeteksi (-) = Tidak terdeteksi

5.8 Pemantauan Ekstrak dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk pemantauan profil ekstrak dilakukan analisis kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak n-heksana:etilasetat (7:3), hasil pemantauan dapat dilihat pada Gambar V.8.



Gambar V.2 Kromatogram pemantauan ekstrak daun sirsak dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksana:etilasetat (7:3). a) penampak bercak asam sulfat metanol, b) penampak bercak sitroborat, c) penampak bercak FeCl₃. 1) Diamati pada sinar tampak, 2) diamati pada sinar UV 366 nm.

○ = senyawa target

Pola kromatogram yang terlihat dari hasil pemantauan KLT dengan penampak bercak universal asam sulfat metanol 10% menunjukkan adanya 6 bercak senyawa yang berwarna hijau dan kuning, dengan nilai Rf 0,3; 0,36; 0,4; 0,5; 0,66; 0,76 yang diamati pada sinar tampak. Pemantauan KLT dengan penampak bercak sitroborat untuk mendeteksi senyawa flavonoid pada ekstrak, terlihat saat diamati dibawah sinar UV 366 nm, berupa bercak berwarna kuning dengan nilai Rf sebesar 0,2. Sedangkan untuk pemantauan KLT dengan menggunakan penampak bercak FeCl₃ untuk mendeteksi senyawa fenol, menunjukkan hasil positif dengan adanya bercak berwarna hijau yang diamati dibawah sinar tampak dan berwarna merah muda saat diamati dibawah sinar UV 366 nm, dengan nilai Rf sebesar 0,4. (Wagner and Bladt, 1996:204, 347, 348; Merck, 1980:7, 37, 63).

5.9 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap Bakteri *P. acnes* dan *S. aureus*

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak dengan cara metode difusi agar, dilakukan dengan membandingkan ekstrak etanol daun sirsak dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Ekstrak etanol daun sirsak yang diuji sebelumnya telah diencerkan menggunakan pelarut etanol 95% yang merupakan pelarut saat digunakan pada proses ekstraksi, hal ini dikarenakan pada pelarut etanol 95% ekstrak dapat larut kembali. Kontrol negatif yang digunakan yaitu etanol 95%, karena untuk melihat apakah efektivitas dari ekstrak dipengaruhi dengan penggunaan etanol 95% sebagai pelarutnya. Untuk kontrol positif digunakan injeksi antibiotik oxytetrasiklin dengan konsentrasi 15 ppm,

karena bakteri *P. acnes* dan *S. aureus* telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik, sehingga diperlukan antibiotik berspektrum luas yang salah satunya adalah tetrasiklin (Jawetz *et al.*, 1995). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada beberapa variasi konsentrasi yang diujikan terdapat hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes* dan *S. aureus* yaitu ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar lubang media agar. Untuk kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona bening disekitar lubang, sehingga aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirsak tidak dipengaruhi oleh etanol 95% yang digunakan.

Hasil percobaan yang diamati dengan waktu inkubasi selama 14-20 jam, menunjukkan aktivitas bakteriostatik dari ekstrak etanol daun sirsak. Hal ini karena zona hambat yang terbentuk masih ditumbuhi sedikit koloni bakteri. Efek bakteriostatik dari senyawa kimia ekstrak etanol daun sirsak berbeda untuk tiap konsentrasi, dimana semakin tinggi konsentrasi maka efek bakteriostatiknya semakin besar.

Senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri diantaranya, flavonoid, polifenolat, tanin dan alkaloid. Terjadinya penghambatan bakteri tersebut karena adanya reaksi suatu senyawa kimia sebagai antibakteri. Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa kimia yang bersifat bakteriostatik, mekanisme kerjanya yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma (Pelzar *et al.*, 1998 dalam Aulia, 2008:4). Sedangkan alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerjanya adalah mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara

utuh (Sumarsih, 2003 dalam Lamapaha, 2008). Menurut Ajizah *et al.*, 2007:8) tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel, dimana rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri, dan pada akhirnya bakteri akan mati. Mekanisme polifenol sebagai senyawa antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri, selain itu polifenol dapat menginaktivkan enzim esensial didalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang rendah (Singh, 2005). Secara umum adanya kerja suatu bahan kimia sebagai antibakteri dapat mengakibatkan terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kerusakan hingga terhambatnya pertumbuhan sel bakteri tersebut.

Klasifikasi respon hambat menurut Greenwood (1995) dalam Rinawati (2014:3) dapat dilihat pada **Tabel V.5**. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada **Tabel V.6** dan **Lampiran 4**.

Tabel V.5 Klasifikasi respon hambat

Diameter zona bening (mm)	Respon hambatan pertumbuhan
≤ 10	Tidak ada
11 – 15	Lemah
16 – 20	Sedang
≥ 20	Kuat

Tabel V.6 Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak

No	Konsentrasi Ekstrak	Diameter Hambat (mm)	
		<i>P. acnes</i>	<i>S. aureus</i>
1	0,1 %	10	10
2	0,5 %	11	11
3	1 %	11	11
4	5%	15	14
5	Kontrol Positif	12	37
6	Kontrol Negatif	-	-

Berdasarkan data diatas diketahui bahwa aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirsak pada konsentrasi 0,1% memiliki diameter hambat sebesar 10 mm. Dan jika melihat klasifikasi respon hambatan, maka ekstrak etanol daun sirsak termasuk dalam kategori respon hambatan yang lemah. Untuk aktivitas antibakteri dalam suatu formulasi yang didapatkan lebih optimal, maka sebaiknya digunakan jumlah yang lebih besar dari konsentrasi terpilihnya, karena kemungkinan ada ekstrak yang terperap dalam basis. Namun dikarenakan sediaan yang dibuat berbentuk mikroemulgel dimana harus memiliki tampilan yang jernih dan transparan, maka konsentrasi yang dapat digunakan dalam formulasi adalah 0,1%.

5.10 Optimasi Basis Mikroemulsi dan Mikroemulgel

Sebelum dibuat formulasi sediaan mikroemulgel terlebih dahulu dilakukan orientasi basis mikroemulsi dengan variasi konsentrasi minyak, yaitu parafin cair. Parafin cair merupakan campuran hidrokarbon yang diperoleh dari minyak mineral (Rowe *et al.*, 2009:475). Parafin cair banyak digunakan sebagai pembawa dalam sediaan farmasi topikal karena kemampuannya sebagai emolien.

Selain itu dalam formulasi mikroemulsi diperlukan pemilihan surfaktan dan kosurfaktan yang tepat. Konsentrasi surfaktan yang tepat akan membentuk lapisan pada permukaan globul, sehingga globul yang dihasilkan stabil dan memiliki ukuran yang kecil. Untuk membuat sediaan mikroemulsi diperlukan konsentrasi surfaktan yang tinggi, karena globul pada mikroemulsi berukuran sangat kecil (10-140 nm) sehingga luas permukaan globul yang harus dilingkupi

sangat luas. Surfaktan yang digunakan yaitu tween 80 yang termasuk surfaktan nonionik. Surfaktan nonionik memiliki efek iritasi yang sangat rendah, sehingga cocok digunakan untuk pembuatan sediaan mikroemulsi dengan tujuan topikal. Selain itu, surfaktan nonionik dapat meningkatkan permeabilitas membran biologi, termasuk kulit (French *et al.*, 1993).

Penambahan kosurfaktan pada formulasi mikroemulsi adalah untuk menurunkan nilai tegangan permukaan sampai nilai yang mendekati nol dan juga menjamin fleksibilitas lapisan film antar muka air dan minyak. Kosurfaktan yang digunakan pada penelitian ini ada 2 jenis yaitu propilenglikol dan gliserin. Penggunaan propilenglikol dan gliserin dikarenakan resiko iritasi yang rendah dan dapat melembabkan kulit karena fungsinya sebagai humektan. Selain itu gliserin dapat juga digunakan sebagai kosolven yang akan membantu meningkatkan kelarutan bahan-bahan yang sukar larut dalam air.

Mikroemulsi dibuat dengan cara mencampurkan minyak, surfaktan dan kosurfaktan pada suhu sekitar 50°C. Selanjutnya dicampurkan dengan air yang sebelumnya sudah dipanaskan pada suhu yang sama dan diaduk menggunakan pengaduk mekanik dengan kecepatan 150 rpm selama 5 menit. Mikroemulsi akan terbentuk secara spontan sehingga tidak memerlukan energi yang besar pada saat proses pencampuran minyak dan air (Lawrence *et al.*, 2000:89-121). Pemanasan disini bertujuan untuk mempercepat proses pencampuran bahan, sehingga waktu pengadukan yang dibutuhkan lebih sebentar.

Optimasi basis mikroemulsi dibuat ke dalam 4 formula dengan variasi konsentrasi minyak. Hasil penelitian menunjukkan ke-4 formula basis

mikroemulsi memiliki tampilan yang jernih. Formula dapat dilihat pada **Tabel V.7** dan **Lampiran 5**.

Tabel V.7 Formula optimasi basis mikroemulsi

Bahan	Konsentrasi (%)			
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4
Parafin Cair	4	5	6	7
Tween 80	40	40	40	40
Propilenglikol	10	10	10	10
Gliserin	20	20	20	20
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100
Hasil	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih

Selain dilihat dari kejernihannya, juga dilakukan evaluasi uji sentrifugasi selama 5 jam untuk melihat kestabilan basis terhadap pengaruh gaya gravitasi. Diperoleh hasil yang stabil ditandai dengan tidak adanya pemisahan fasa air dan minyak pada basis setelah disentrifugasi hingga jam kelima pada putaran 2000 rpm (**Tabel V.8**) (**Lampiran 5**).

Tabel V.8 Hasil evaluasi sentrifugasi basis mikroemulsi

Jam Ke-	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4
1	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
4	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
5	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil

Untuk melihat kestabilan basis terhadap perubahan suhu ekstrim dilakukan evaluasi *freeze-thaw* pada suhu 4°C dan 40°C selama 5 siklus. Hasil menunjukkan bahwa basis stabil hingga akhir siklus kelima tanpa adanya pemisahan fasa. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan suhu ekstrim tidak mempengaruhi kestabilan basis (**Tabel V.9**) (**Lampiran 5**).

Tabel V.9 Hasil evaluasi *freeze-thaw* basis mikroemulsi

Siklus	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4
1	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
4	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
5	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil

Basis mikroemulsi yang dipilih yaitu formula 4 dengan konsentrasi minyak paling besar. Selanjutnya dilakukan optimasi basis mikroemulgel untuk melihat basis yang stabil secara fisik. Optimasi dilakukan dengan membuat variasi konsentrasi *gelling agent* yang digunakan yaitu hidroksipropilmetilselulosa (HPMC). *Gelling agent* sebelumnya dibuat dengan konsentrasi 2 dan 5%, dari konsentrasi tersebut, gel yang dimasukkan kedalam formula adalah sejumlah 10 dan 20%. Pembuatan basis mikroemulgel dilakukan dengan cara pengembangan gel HPMC terlebih dahulu selama 1 hari didalam lemari pendingin, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan basis mikroemulsi. Setelah terbentuk basis mikroemulsi, selanjutnya gel HPMC yang telah mengembang ditambahkan ke dalam basis mikroemulsi sejumlah konsentrasi yang dibutuhkan, diaduk menggunakan pengaduk mekanik selama 5 menit pada rpm 150. Formula dapat dilihat pada Tabel V.10.

Tabel V.10 Formula optimasi basis mikroemulgel

Bahan	Konsentrasi (%)			
	Formula 4A	Formula 4B	Formula 4C	Formula 4D
Parafin Cair	7	7	7	7
Tween 80	40	40	40	40
Propilenglikol	10	10	10	10
Gliserin	20	20	20	20
Gel HPMC 2%	10	20	-	-
Gel HPMC 5%	-	-	10	20
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Hasil secara organoleptis menunjukkan bahwa untuk gel HPMC 5% dengan konsentrasi 10% memiliki homogenitas yang lebih baik, sangat jernih dan busa yang terbentuk lebih sedikit dibanding dengan konsentrasi yang lain. Hasil dapat dilihat pada **Tabel V.11** dan **Lampiran 6**.

Tabel V.11 Hasil evaluasi organoleptis optimasi basis mikroemulgel

Organoleptis	Formula 4A	Formula 4B	Formula 4C	Formula 4D
Warna	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning
Bau	Khas Minyak	Khas Minyak	Khas Minyak	Khas Minyak
Kejernihan	Jernih	Jernih	Sangat Jernih	Jernih

Selain itu, juga dilakukan evaluasi sentrifugasi selama 5 jam, dilihat kestabilannya setiap 1 jam. Hasil pengujian menunjukkan bahwa formula 4C yang mengandung gel HPMC 5% konsentrasi 10% stabil hingga jam kelima. Hasil dapat dilihat pada **Tabel V.12** dan **Lampiran 6**.

Tabel V.12 Hasil evaluasi sentrifugasi optimasi basis mikroemulgel

Jam Ke-	Formula 4A	Formula 4B	Formula 4C	Formula 4D
1	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
2	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil
3	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil
4	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil
5	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil

Keterangan:

T. Stabil = Tidak Stabil (Fasa gel terpisah dibawah)

Untuk hasil *freeze-thaw* selama 5 siklus diketahui bahwa formula dengan menggunakan gel HPMC 5% konsentrasi 10% stabil hingga akhir siklus kelima. Hasil evaluasi dapat dilihat pada **Tabel V.13** dan **Lampiran 6**.

Tabel V.13 Hasil evaluasi *freeze-thaw* variasi *gelling agent*

Siklus Ke-	Formula 4A	Formula 4B	Formula 4C	Formula 4D
1	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil
2	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil
3	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil
4	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil
5	T. Stabil	T. Stabil	Stabil	T. Stabil

Keterangan:

T. Stabil = Tidak Stabil (Fasa gel terpisah dibawah)

Berdasarkan hasil evaluasi organoleptis, sentrifugasi dan *freeze-thaw* maka dipilih basis mikroemulgel dengan formula 4C yang mengandung gel HPMC 5% konsentrasi 10% untuk dibuat dalam sediaan.

5.11 Formulasi dan Pembuatan Sediaan Mikroemulgel yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan mikroemulgel yang mengandung ekstrak etanol daun sirsak, dengan penambahan pengawet dan antioksidan untuk menjaga kestabilan sediaan. Pengawet yang digunakan adalah kombinasi metil paraben dan propil paraben. Metil paraben memiliki aktivitas lebih baik pada kelompok jamur, sedangkan propil paraben memiliki aktivitas yang lebih baik pada kelompok bakteri. Sehingga kombinasi keduanya memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap kedua jenis mikroorganisme tersebut. Metil dan propil paraben aktif pada rentang pH 4-8 dan stabilitas optimumnya pada pH 3-6. Tokoferol ditambahkan kedalam sediaan sebagai antioksidan dengan tujuan untuk mencegah kemungkinan reaksi oksidasi dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak.

Pembuatan sediaan dilakukan dengan cara pengembangan gel HPMC 5% terlebih dahulu selama 1 hari yang disimpan didalam lemari pendingin, selanjutnya pembuatan basis mikroemulsi. Basis mikroemulsi yang telah terbentuk kemudian ditambahkan campuran yang terdapat gel HPMC 5% sebanyak 10%, sedangkan untuk ekstrak etanol daun sirsak, metil paraben, propil paraben, serta tokoferol yang terlebih dahulu dilarutkan dalam propilenglikol. Setelah larut kemudian campuran dicampurkan kedalam basis mikroemulgel diaduk selama 5 menit menggunakan pengaduk mekanik dengan rpm 150. Formula sediaan mikroemulgel dengan variasi jumlah ekstrak dapat dilihat pada **Tabel V.14.**

Tabel V.14 Formula sediaan mikroemulgel

Bahan	Konsentrasi (%)				
	F4C-1	F4C-2	F4C-3	F4C-4	F4C-5
Ekstrak Etanol Daun Sirsak	0,1	0,5	1	5	10
Parafin Cair	7	7	7	7	7
Tween 80	40	40	40	40	40
Propilenglikol	10	10	10	10	10
Gliserin	20	20	20	20	20
Gel HPMC 5%	10	10	10	10	10
Tokoferol	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Metilparaben	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Propilparaben	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100
Hasil	Jernih	Keruh		Sangat Keruh	

Dengan melihat penampilan dari kelima formula, maka dipilih formula 4C-1 yang menghasilkan sediaan yang jernih untuk selanjutnya di evaluasi.

5.12 Evaluasi Sediaan Mikroemulgel

Dilakukan pengamatan organoleptis terhadap sediaan meliputi bau, warna dan kejernihan. Hal ini dilakukan karena pengamatan organoleptis, merupakan ciri visual dan karakteristik fisik dasar yang dapat diamati secara langsung. Hasil evaluasi organoleptis dapat dilihat pada **Tabel V.15** dan **Lampiran 7**.

Tabel V.15 Hasil pengamatan organoleptis sediaan mikroemulgel

Formula	Pengamatan	Hasil Pengamatan Pada Hari Ke-				
		1	7	14	21	28
4C-1	Warna	KK	KK	KK	KK	KK
	Bau	BKM	BKM	BKM	BKM	BKM
	Kejernihan	J	J	J	J	J
	Homogenitas	H	H	H	H	H

Keterangan:

KK = Kuning Kehijauan. BKM = Bau Khas Minyak, J = Jernih, H = Homogen

Sediaan mikroemulgel di evaluasi meliputi uji sentrifugasi yang bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh gravitasi pada sediaan yang telah dibuat. Pengamatan pemisahan fasa menggunakan metode sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm dilakukan selama 5 jam dengan interval waktu 1 jam. Hasil dari pengujian ini menunjukkan bahwa sediaan mikroemulgel yang dibuat stabil. Hasil evaluasi dapat dilihat pada **Tabel V.16** dan **Lampiran 7**.

Tabel V.16 Hasil evaluasi sentrifugasi sediaan mikroemulgel

Formula	Jam Ke				
	1	2	3	4	5
4C-1	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil

Selanjutnya dilakukan uji stabilitas dipercepat pada sediaan dengan disimpan pada suhu 40°C. Pengamatan dilakukan selama 28 hari setiap minggu meliputi pengamatan hasil organoleptis, nilai pH dan viskositas. Hasil evaluasi organoleptis menunjukkan bahwa sediaan tidak mengalami perubahan warna, bau

dan kejernihan selama penyimpanan. Pengukuran pH dimaksudkan untuk memastikan kestabilan sediaan dan melihat kesesuaian dengan pH sediaan kosmetika yakni 5-9,2 (Yati, 2011). Hasil pengukuran pH untuk sediaan mikroemulgel yang dibuat yaitu 7 dan stabil selama penyimpanan 28 hari pada suhu 40°C, dimana pH tersebut termasuk pada rentang pH sediaan topikal. Hasil pengukuran pH dapat dilihat pada **Tabel V.17**.

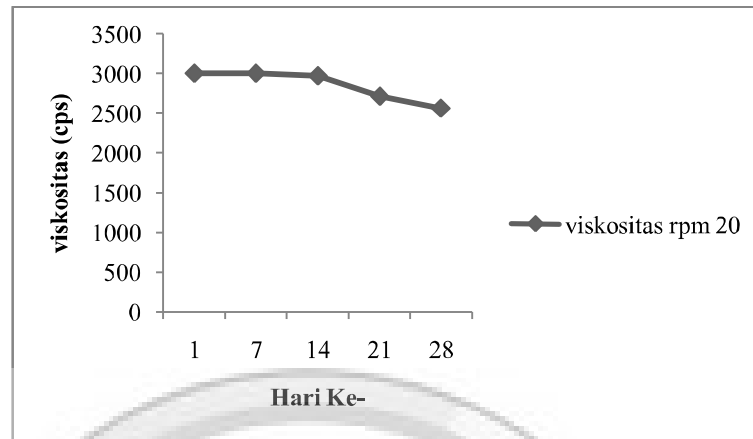
Tabel V.17 Hasil evaluasi pH sediaan mikroemulgel

Evaluasi	Hasil Pengamatan Pada Hari Ke- (rata-rata ± SD)				
	1	7	14	21	28
pH	7,0±0	7,0±0	7,0±0	7,0±0	7,0±0

Evaluasi viskositas dilakukan untuk mengetahui konsistensi mikroemulgel dan kestabilan sediaan terhadap penyimpanan di suhu tinggi. Selain itu tujuan pengujian viskositas juga untuk menggambarkan aliran cairan dan menyatakan tahanan dari suatu cairan untuk mengalir (Martin *et al.*, 1993: 1077). Viskositas sediaan relatif stabil selama 28 hari masa penyimpanan pada suhu 40°C, hasil dapat dilihat pada **Tabel V.18** dan **Gambar V.3**.

Tabel V.18 Hasil evaluasi viskositas sediaan mikroemulgel

Kecepatan Spindel (rpm)	Hasil Pengamatan Pada Hari Ke- (rata-rata ± SD) (cps)				
	1	7	14	21	28
10	3200 ± 424,26	3075 ± 106,07	2985 ± 565,69	2775 ± 106,07	2620 ± 120,21
20	3000 ± 0	3000 ± 176,78	2970 ± 530,33	2712,5 ± 123,74	2565 ± 53,03
50	2785 ± 91,92	2985 ± 148,49	2900 ± 466,69	2730 ± 141,42	2362,5 ± 152,0
100	2737,5 ± 10,60	2875 ± 113,14	2765 ± 360,62	2685 ± 169,71	2180 ± 28,28



Gambar V.3 Evaluasi viskositas sediaan mikroemulgel (F 4C-1) pada suhu 40°C

5.13 Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Mikroemulgel Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap *P. acnes* dan *S. aureus*

Selanjutnya, terhadap sediaan mikroemulgel ekstrak etanol daun sirsak dilakukan uji aktivitas antibakteri untuk memastikan apakah sediaan memiliki aktivitas antibakteri atau tidak. Kontrol positif yang digunakan pada uji ini adalah sediaan gel antijerawat yang ada dipasaran, sedangkan sebagai kontrol negatif digunakan basis mikroemulgel. Hasil dari uji aktivitas antibakteri sediaan mikroemulgel terhadap *P. acnes* dan *S. aureus* menghasilkan zona hambat yang dapat dilihat pada Tabel V.19 dan Lampiran 8.

Tabel V.19 Hasil uji aktivitas antibakteri sediaan mikroemulgel

Sampel Uji	Diameter Hambat (mm)	
	<i>P. acnes</i>	<i>S. aureus</i>
Sediaan	15,5 ± 0,71	16,5 ± 2,12
Basis	10 ± 0	12 ± 0
Kontrol Positif	10,5 ± 0,71	47 ± 4,24

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa sediaan mikroemulgel memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. acnes* dengan diameter hambat sebesar

15,5±0,07 mm, sedangkan untuk bakteri *S. aureus* diameter hambatnya sebesar 16,5±0,21 mm. Dengan melihat klasifikasi respon hambat pada **Tabel V.5**, maka aktivitas antibakteri sediaan termasuk ke dalam kategori lemah hingga sedang, dikarenakan adanya pengaruh dari basis. Untuk basis yang digunakan sebagai kontrol negatif menghasilkan diameter hambat, karena mengandung metil dan propil paraben didalam formulanya, tetapi nilai diameter hambatnya tidak lebih besar dibandingkan dengan sediaan mikroemulgel. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dari sediaan mikroemulgel tidak saja dipengaruhi dengan adanya metil dan propil paraben, tetapi dikarenakan adanya senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirsak.

