

Aktivitas Penyembuhan Luka Infeksi Krim Kombinasi Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dan Daun Sirih (*Piper betle* L.) Dengan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Punggung Kelinci *New Zealand White* Secara *In Vivo*

Indah Ana Resti^{1*}, Dwi Ningsih²

¹Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Adila, Bandar Lampung, Indonesia

²Universitas Setia Budi

Article info	Abstract
History Submission: 12-03-2022 Review: 02-05-2022 Accepted: 23-08-2022 *Email: indahanaresi1@gmail.com DOI: 10.33096/jffi.v9i2.897 Keywords: soursop (<i>Annona muricata</i> L.); betel (<i>Piper betle</i> L.); antibacterial; cream; <i>Staphylococcus aureus</i>	<p>Several types of tropical plants in Indonesia that contain anti-bacterial chemical compounds such as tannins, flavonoids and saponins, namely betel (<i>Piper betle</i> L.) leaves and soursop (<i>Annona muricata</i> L.) leaves. Objectives of the research was to determine activity of cream from soursop (<i>Annona muricata</i> L.) leaves ethanol extract and betel (<i>Piper betle</i> L.) leaves ethanol extract on the backs of rabbits infected with <i>Staphylococcus aureus</i> bacteria. In addition, the research conducted could also determine the stability of cream that produced and its pharmacological effects. Data analysis technique using ANOVA method, significance value did not reach 0.05. Extraction process using 70% ethanol as solvent with extraction method, namely maceration. Parameters of cream preparation were from level of storage duration for 0 days and concentration used. Then the level of cream preparation effectiveness in wounds healing could be seen from observations of wounds and pus drying time as well as edema and erythema loss. Cream preparation from combination of soursop (<i>Annona muricata</i> L.) leaves ethanol extract and betel (<i>Piper betle</i> L.) ethanol extract in formula 6 with concentration ratio of 10%: 12.5%, resulted better and faster healing rate against <i>Staphylococcus aureus</i> infection than other formulas. Required recovery time interval was 10 days and cream preparation had good stability.</p>

I. Pendahuluan

Bakteri *Staphylococcus aureus* bakteri patogen gram positif yang berperan sebagai karier dan dikategorikan sebagai flora normal merupakan bakteri yang genus nya paling sering menyebabkan infeksi (Jawetz, Melinick and Aldeberg, 2008) Beberapa jenis tumbuhan obat yang memiliki efek fisiologis pada jenis bakteri patogen terdapat di Tanaman sirsak dan daun sirih.

Daun sirsak mengandung komponen alami yang berbeda, di antaranya mengandung tanin, alkaloid, saponin, dan Mengandung flavonoid yang dikenal sebagai metode agen antibakteri Hasil uji menunjukkan pada suhu setelah di uji dengan inkubasi suhu 37°C didapatkan bahwa ekstrak daun sirsak mempunyai daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.(Tuna, Kepel and Leman, 2015)

Bagian dari daun tumbuhan sirsak yang memiliki kandungan asetogenin tinggi yang berguna dalam pengobatan infeksi kulit khususnya pada bakteri *Staphylococcus aureus* atupun *Propionibacterium acnes*, Berdasarkan hasil riset

terdahulu, daun sirsak juga berperan sebagai anti bakteri diantaranya *Staphylococcus aureus*, kandungan metabolit sekunder di dalam daun sirsak diantaranya steroid, tannin, dan juga kardiak glikosida.(Dewangga and Nirwana, 2019)

Selain daun sirsak terdapat jenis tumbuhan yang berperan sebagai pembunuh bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu tumbuhan Sirih (*Piper betle* L.). Jenis tumbuhan ini hidup baik di daerah tropis. Kandungan senyawa kimia dialam daun sirih yaitu *flavanoid*, *tanin*, *saponin*, dan minyak atsiri yang berperan sebagai anti *bacteria*. (Hambali, Husain and Alam, 2014).

Berbagai penelitian telah dilaporkan bahwa tanaman ini bermanfaat dan berkhasiat sebagai anti bakteri serta telah di buktikan oleh penelitian Suliantari (Suliantari, Jenie and Suhartono, 2012).

Tanaman Sirih (*Piper betle* L.) adalah tanaman merambat yang tumbuh dari spesies yang mencapai ketinggian 5-15 m. Penyembuhan efektif yang disebabkan oleh *staphylococcus aureus* karena memiliki daya antiseptik yang baik. Bagian dari tanaman yang digunakan adalah , atau daun, karena



banyak mengandung senyawa turunan fenol (Bustanussalam *et al.*, 2015)

II. Metode Penelitian

II.1 Bahan, Alat, dan Hewan Uji

Beberapa bahan yang diperlukan didalam riset yang dilakukan yaitu media VJA, *bacteria Staphylococcus aureus*, kertas saring whatman 41, C₂H₅OH 70%, etil asetat, kloroform p.a, acid stearin, pelarut CMC, NaCl 0,9%, larutan BaCl₂. 2H₂O, 0.36 N H₂SO₄, natrium biborat, C₃H₈O₃ 1,175%, air murni, nipagin, C₆H₁₅NO₃, *aluminium foil*, *tissue* beserta serbet.

Selanjutnya alat yang dibutuhkan dalam riset yaitu neraca analitik, blender, oven, tabung reaksi, timbangan analisa jarum ose, cawan petri, pembakar spiritus, deglas, pipet tetes, pipet volume, gelas ukur, mortir, batang pengaduk, kertas saring, erlenmeyer, corong kaca, incubator, beserta kaca obyek, sudep,

Objek yang digunakan dalam riset yaitu *New Zealand White* sejenis kelinci putih dengan bobot 1,5 hingga 2 kg dan memiliki umur kurang lebih 2 hingga 3 bulan dan juga berjenis kelamin jantan. (Rahmawati, Tiara and Harti, 2009)

II.2 Pembuatan Serbuk Daun Sirsak Dan Daun Sirih

Menyiapkan daun sirih dan juga daun sirsak untuk dikeringkan didalam oven bersuhu 30°C hingga 40°C, yang sebelumnya terlebih dahulu dicuci bersih dengan air yang mengalir. Setelah itu dihancurkan untuk dijadikan serbuk, dan untuk mendapatkan serbuk berukuran kecil dilakukan

pengayakan dengan alat pengayak berukuran 40. Kemudian dilakukan penimbangan untuk mengetahui nilai prosentase antara bobot basah dan juga bobot kering.

II.3 Pembuatan ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih

Tatacara pembuatannya yaitu melakukan penimbangan serbuk daun sirih dan daun sirsak dengan bobot masing-masing 600 gram dan kemudian memasukkannya pada botol maserasi. Lalu tambahkan 1500 ml C₂H₅OH 70% sebagai pelarut kedalam botol maserasi. Selanjutnya tutup botol dan diamkan diruang tertutup tidak terkena paparan cahaya matahari dalam kurun waktu 5 hari. Selama proses pendiaman jangan mengaduk larutan atau mengocoknya. Setelah itu, meyaring larutan dengan kain fanel yang steril. Tahap selanjutnya yaitu melakukan ekstraksi larutan dengan evaporator bersuhu 40°C.

II.4 Identifikasi kandungan senyawa kimia

Melakukan pengujian tabung untuk memastikan kandungan senyawa kimia pada daun sirih dan juga daun sirsak yaitu saponin, flavanoid, beserta tanin.

II.3. Pengujian Krim

Mencampurkan masing-masing daun sirih dan juga daun sirsak dengan C₂H₅OH 70%. Setelah itu, melakukan vanishing krim menggunakan minyak terdispersi air murni (M/A). Tabel 1 merupakan formula yang diimplementasikan dalam pembuatan krim.

Tabel 1. Formulasi krim (fms)

Komposisi	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
Ekstrak daun sirsak	-	25 %	-	12,5%	25%	12,5%
Ekstrak daun sirih	-	-	10%	5%	5%	10%
Acid stearin	20,8 gr	20,8 gr	20,8 gr	20,8 gr	20,8 gr	20,8 gr
Glycerin	14,7 gr	14,7 gr	14,7 gr	14,7 gr	14,7 gr	14,7 gr
Natr. Biborat	0,37 gr	0,37 gr	0,37 gr	0,37 gr	0,37 gr	0,37 gr
Triethanolamin	1,47 gr	1,47 gr	1,47 gr	1,47 gr	1,47 gr	1,47 gr
Nipagin	0,1 gr	0,1 gr	0,1 gr	0,1 gr	0,1 gr	0,1 gr
Aq. dest.	100 gr	100 gr	100 gr	100 gr	100 gr	100 gr

Pembuatan krim kombinasi dilakukan dari sterilisasi peralatan yang digunakan dengan autoklaf suhu 115°-116°C selama 30 menit. Melakukan sterilisasi basis krim menggunakan oven dengan durasi 60 menit bersuhu 150°C, tetapi sebelum itu, basis krim ditimbang terlebih dahulu menggunakan neraca analitik. Kemudian mendinginkan basis krim. Lalu mencampur kedua ekstrak dengan rasio konsentrasi seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 1. Tahap selanjutnya mengaduk memakai alu dan juga lumpang panas. Setelah tercampur homogen, kemudian menimbanginya sesuai kebutuhan dan

memasukkan kedalam pot krim yang telah di sterilkan.

II.4 Pengujian Sediaan Krim

II.4.1 Pengujian Krim Menerapkan Pengujian Homogenitas Beserta Organoleptik Uji organoleptik

Dilakukan untuk mengetahui secara fisik kondisi krim dari segi bau, warna maupun bentuk.

Uji homogenitas

Dilakukan untuk mengetahui keseragaman krim dari berbagai layer krim didalam pot krim. Tata

cara pengujiannya yaitu, mengambil setiap layer krim mulai dari lapisan atas, tengah dan bawah sebanyak 0,5 gram kemudian meletakkannya di objek gelas. Tingkat homogen tidaknya dapat diketahui dari segi tekstur setiap layer, apakah mengandung butiran kasar atau tidak (Jawetz, Melinick and Aldeberg, 2008).

Uji viskositas

Dilakukan untuk mengetahui tingkat viskositas suatu krim dengan menggunakan piranti viskotester. Tatarannya yaitu pertama siapkan viskotester dan mengkalibrasinya terlebih dahulu. Tahap kedua memasang rotor di bagian viskotester dan dikunci kearah kiri. Tahap ketiga menyiapkan krim, yang akan diuji dan meletakkannya kedalam cup kemudian menaruhnya dibagian rotor. Tahap keempat menghidupkan viskotester, yang mengakibatkan rotor berputar. Tahap kelima membaca hasil pengukuran yang ditunjukkan oleh viskotester pada display jarum penunjuk. Pembacaan ini dilakukan setelah kondisi viskotester stabil. Satuan yang digunakan dalam pengukuran yaitu *desipaskasecond* (dPas). Setelah pengujian pertama, menyimpan krim selama satu minggu. Lalu melakukan pengujian tahap kedua dan seterusnya selama satu bulan. Jadi terdapat empat kali pengujian dalam sebulan (Suliantari, Jenie and Suhartono, 2012).

Uji daya sebar

Dilakukan dengan menggunakan piranti anak timbang gram dan juga ekstensometer. Tatacara pengujiannya yaitu menimbang krim seberat 0,5 gram. Setelah itu meletakkannya di bagian tengah kaca bundar dan dibagian atas kaca diberi anak timbangan lalu didiamkan selama 60 detik. Tahap selanjutnya mengukur rerata diameter penyebaran krim dari berbagai sisi.

Selanjutnya menambahkan krim dengan bobot krim tambahan 50 gram, 100 gram 150 gram, 200 gram. Setelah itu pengujian yang dilakukan sama seperti sebelumnya. Setelah itu menyimpan krim selama satu minggu dan dilakukan pengujian lagi. Pengujian ini dilakukan selama satu bulan, Jadi, selama satu bulan terdapat empat kali pengujian (Rosita, Murrukmihadi and Suwarni, 2014)

Berdasarkan pemaparan (Jawetz, Melinick and Aldeberg, 2008) pengujian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat penyebaran krim jika diaplikasikan ke kulit dan juga tingkat lunaknya suatu krim.

Uji daya lekat

Dilakukan dengan menggunakan piranti anak timbangan gram, *stopwatch*, krim beserta dua objek glass. Tatacara pengujiannya yaitu yang pertama melekatkan 0,5 gram krim di tegah kaca glass. Kemudian dibagian atas diberi beban 500 gram, dengan durasi 300 detik. Lalu meletakkan objek di bagian alat pengujian. Mencatat hasil pengukuran dan dilakukan pengulangan pengukuran

sebanyak 3 kali. Berdasarkan pemaparan (Jawetz, Melinick and Aldeberg, 2008) pengujian dilakukan selama sebulan. Karena krim disimpan terlebih dahulu selama satu minggu, sebelum dilakukan pengujian kedua. Jadi, selama satu bulan ada empat kali pengujian.

II.4.2 Pengujian Efek Antibakteri

Objek yang digunakan dalam riset yaitu kelinci yang sudah disapkan sebelumnya dengan dicukur rambutnya dibagian punggung sebelah kanan, maupun kiri sampai dengan belakang. Setelah itu mensuntikkan bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 0,25 mili di 6 titik dengan kedalaman kurang lebih 5 cm, dan luas area penyuntikkan 10 cm². Lakukan pengamatan selama 2 hari, dari bakteri yang diinfeksi ke kelinci akan menimbulkan luka dan berujung pada munculnya nanah. Pengujian yang dilakukan yaitu, mengoleskan krim berformula 1 pada kelinci pertama didaerah titik suntikan dilakukan. Mengoleskan krim berformula 2 dengan konsentrasi ekstrak daun sirsak 25% pada kelinci dua.

Mengoleskan krim berformula 3 dengan konsentrasi ekstrak daun sirih 10% pada kelinci tiga. Mengoleskan krim berformula 4 dengan rasio konsentrasi ekstrak daun sirih dan daun sirsak yaitu 5% : 25% pada kelinci empat. Mengoleskan krim berformula 5 dengan rasio konsentrasi ekstrak daun sirih dan daun sirsak yaitu 5% : 25% pada kelinci lima. Mengoleskan krim berformula 6 dengan rasio konsentrasi ekstrak daun sirih dan daun sirsak yaitu 10% : 12,5% pada kelinci enam. Setelah formula salep diformulasikan pada masing-masing tubuh kelinci, kemudian membalutnya dengan perban agar tidak terkontaminasi dengan pengaruh luar. Mengolesi krim 2 kali sehari pada pagi dan juga sore dalam rentang waktu 3 minggu.

Perhitungan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *Plate Count*. Penghitungan dilakukan setelah tubuh kelinci terkontaminasi bakteri dan sesudah dilakukan pengolesan krim

II.5 Analisa Data

Teknik penganalisaan data yang diterapkan yaitu dengan menggunakan teknik *One-way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95%.

III. Hasil dan Pembahasan

Hasil pengujian ditunjukkan dalam tabel diatas, yang mana tatacara pengujiannya yaitu melakukan penimbangan serbuk daun sirih dan daun sirsak dengan bobot masing-masing 600 gram dan kemudian memasukkannya pada botol maserasi. Lalu tambahkan 1500 ml C₂H₅OH 70% sebagai pelarut kedalam botol maserasi. Selanjutnya tutup botol dan diamkan diruang tertutup tidak terkena paparan cahaya matahari dalam kurun waktu 5 hari. Selama proses pendiaman jangan mengaduk larutan atau mengocoknya. Setelah itu, meyaring larutan dengan kain fanel yang steril. Tahap selanjutnya

yaitu melakukan ekstraksi larutan dengan evaporator bersuhu 40°C.

Tabel 1. Rendemen ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
Sirsak 600 g	153,6 g	25,6 %
Sirih 600 g	115,2 g	19,2 %

Data hasil pengujian ditunjukkan dalam Tabel 2. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia flavanoid, saponin,

alkaloid beserta tanin didalam ekstrak daun sirih maupun daun sirsak.

Tabel 2. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*piper betle* L.)

Kandungan Senyawa Kimia	Hasil		Pustaka	Intrepetasi Data	
	Serbuk	Ekstrak		Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Terbentuk warna kuning jingga pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna kuning jingga pada lapisan amil alkohol	Reaksi positif jika ada warna merah atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes, 1995)	(+) Mengandung flavonoid	(+) Mengandung flavonoid
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman	Reaksi positif jiks terbentuknya warna hijau kehitaman (Depkes, 1995).	(+) Mengandung tanin	(+) Mengandung tannin
Saponin	Terbentuk busa <10 menit + HCl 2N busa tidak hilang	Terbentuk busa <10 menit + HCl 2N busa tidak hilang	Ada busa <10 menit + 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang (Depkes, 1995).	(+) Mengandung saponin	(+) Mengandung saponin

Pengujian mutu fisik sediaan krim kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) daun sirih (*piper betle* L.) berfungsi untuk memahami mutu dari krim yaitu uji organoleptis, homogenitas, uji pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat.

Pengujian organoleptis krim percampuran ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan

ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dari segi bau, warna, beserta konsistensi. Sebaiknya krim yang dihasilkan menghasilkan bau yang khas tidak menyengat tetapi ediaan yang dihasilkan sebaiknya menyenangkan, konsistensi yang bagus, dan juga mempunyai warna yang menarik. Data hasil pengujian ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian organoleptis formula krim ekstrak etanol 70% daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*piper betle* L.)

Variabel	Hari ke	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
Warna	2	Putih	Kuning Kecoklatan	Putih Kehijauan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan
	7	Putih	Kuning Kecoklatan	Putih Kehijauan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan
	14	Putih	Kuning Kecoklatan	Putih Kehijauan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan
	21	Putih	Kuning Kecoklatan	Putih Kehijauan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan
Bau	2	Tidak Berbau	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
	7	Tidak Berbau	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas

	14	Tidak Berbau	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
	21	Tidak Berbau	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
Konsistensi	2	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat
	7	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat
	14	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat
	21	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat	Semi Padat

Berdasarkan hasil uji, dari campuran ekstrak daun sirsak dan juga daun sirih didapatkan tingkatan warna, bau dan konsistensi yang sama dari hari ke-2 stelah pembuatan hingga minggu ke-3, yaitu memiliki warna kuning dengan sedikit warna coklat. Mempunyai bau khas, serta berkonsistensi semipadat. Sedangkan pada formula 1 (basis) warna bau dan konsentrasi tetap stabil tidak ada perubahan.

Kesimpulan dari hasil pengamatan adalah warna, bau, dan konsistensi stabil selama penyimpanan.

Pengujian homogenitas krim bertujuan untuk mengetahui homogenitas dari formula krim yang diteliti, penting untuk dilakukan karena homogenitas berpengaruh terhadap efektivitas dari sediaan tersebut. Hasil uji homogenitas dari ke enam formula krim dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji homogenitas krim ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih

Formula	Hari ke-2	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Formula I	homogen	homogen	homogen	homogen
Formula II	homogen	homogen	homogen	homogen
Formula III	homogen	homogen	homogen	homogen
Formula IV	homogen	homogen	homogen	homogen
Formula V	homogen	homogen	homogen	homogen
Formula VI	homogen	homogen	homogen	homogen

Berdasarkan penelitian yang di dapat sediaan krim mempunyai sifat homogen pada hari ke tiga maupun hari kedua dari hasil krim yang dioleskan ke glass. Pengidentifikasian krim dapat dilihat dari hasil pengujian homogenitas, apakah terdapat butiran kasar pada campuran ekstrak daun sirih dan juga daun sirsak atau tidak. Dikatakan baik jika tidak terdapat butiran yang menggumpal.

Cara pengujian pH krim yaitu dengan memasukkan lakmus (pH meter) pada kim hasil percampuran ekstrak etanol daun sirsak (*Annona Muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle* L.). Lakmus yang berubah mengindikasikan tingkat ph dari krim tersebut. Data pengujian ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Uji pH krim ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih

Pemeriksaan waktu pH	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V	Formula VI
Hari ke-2	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)
Minggu 1	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)
Minggu 2	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)
Minggu 3	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)	6 (Enam)

Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa krim tersebut mempunyai pH 6 dan stabil, yang artinya cocok dipakaikan di kulit karena pH kulit yaitu 4,5 hingga 6,5. Tingkat pH yang terlalu basa dapat berakibat kulit bersisik sedangkan tingkat pH yang terlalu asam membuat kulit iritasi.

Krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih diuji viskositasnya dengan alat viskometer. Keenam formula krim yang diteliti mempunyai viskositas yang berbeda dengan enam kali replikasi. Hasil pengamatan ditunjukkan pada Tabel 6. Berdasarkan hasil pengujian formula 6 lebih baik dibandingkan dengan formula lainnya.

Tabel 6. Hasil uji viskositas krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih

Hari ke	Rata-rata ± SD (Dpas)				
	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
2	213,33 ± 5,77	216,67 ± 2,89	253,33 ± 5,77	273,33 ± 5,77	303,33 ± 5,77
7	216,67 ± 2,89	233,33 ± 2,89	263,33 ± 5,77	281,67 ± 2,88	316,67 ± 5,77
14	225,00 ± 5,00	238,33 ± 2,89	273,33 ± 5,77	298,33 ± 7,63	338,33 ± 2,88
21	226,67 ± 5,77	240,00 ± 5,00	280,00 ± 10,0	311,67 ± 2,88	353,33 ± 5,77

Hasil pengujian daya sebar krim ditunjukkan dalam Tabel 7. Tata cara pengujiannya yaitu menimbang krim seberat 0,5 gram. Setelah itu meletakkannya di bagian tengah kaca bundar dan dibagian atas kaca diberi anak timbangan lalu

didiamkan selama 60 detik. Tahap selanjutnya mengukur rerata diameter penyebaran krim dari berbagai sisi. Selanjutnya menambahkan krim dengan bobot krim tambahan 50 gram, 100 gram, 150 gram, 200 gram.

Tabel 7. Hasil uji daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih

Formula	Berat Beban (gram)	Rata-rata diameter penyebaran hari ke (cm ± SD)			
		2 hari	7 hari	14 hari	21 hari
formula II	Kaca (49,124)	2,47 ± 0,25	2,17 ± 0,11	2,23 ± 0,06	1,83 ± 0,06
	Kaca + 100	3,07 ± 0,37	2,17 ± 0,15	2,83 ± 0,25	2,61 ± 0,08
	Kaca + 200	4,23 ± 0,11	3,97 ± 0,11	3,97 ± 0,06	2,48 ± 0,08
formula III	Kaca (49,124)	2,27 ± 0,15	2,07 ± 0,11	1,87 ± 0,06	1,65 ± 0,08
	Kaca + 100	2,83 ± 0,25	2,73 ± 0,06	2,63 ± 0,06	2,48 ± 0,08
	Kaca + 200	4,03 ± 0,15	3,57 ± 0,06	3,73 ± 0,06	3,08 ± 0,10
formula IV	Kaca (49,124)	1,97 ± 0,05	1,80 ± 0,00	1,63 ± 0,05	1,43 ± 0,05
	Kaca + 100	2,80 ± 0,10	2,60 ± 0,10	2,50 ± 0,10	2,33 ± 0,11
	Kaca + 200	3,93 ± 0,05	3,73 ± 0,05	3,60 ± 0,10	3,53 ± 0,05
formula V	Kaca (49,124)	1,67 ± 0,05	1,53 ± 0,05	1,40 ± 0,00	1,30 ± 0,10
	Kaca + 100	2,47 ± 0,05	2,40 ± 0,10	2,23 ± 0,05	2,13 ± 0,05
	Kaca + 200	3,63 ± 0,05	3,43 ± 0,05	3,37 ± 0,11	3,17 ± 0,05
formula VI	Kaca (49,124)	1,57 ± 0,11	1,50 ± 0,10	1,43 ± 0,05	1,33 ± 0,05
	Kaca + 100	2,30 ± 0,10	2,23 ± 0,05	2,13 ± 0,05	2,00 ± 0,00
	Kaca + 200	3,20 ± 0,10	3,03 ± 0,05	2,93 ± 0,05	2,87 ± 0,05

Berdasarkan hasil pengujian daya sebar krim dengan ekstensometer yang terdiri dari dua lempeng kaca bulat terdapat perbedaan daya sebar antara kelima formula. daya sebar 1,8-5 cm dengan beban 200 g dinyatakan baik, sehingga hasil uji daya sebar ini masih masuk dalam range tersebut.

Hasil pengujian daya lekat krim ditunjukkan pada Tabel 8. Dalam tabel tersebut formula 6 mempunyai tingkat daya lekat yang lebih baik dibandingkan dengan formula lainnya

Tabel 8. Hasil uji daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih

Hari ke	Rata-rata ± SD Uji Daya Lekat				
	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V	Formula VI
2	106,67 ± 2,88	116,67 ± 2,88	125,67 ± 1,15	153,33 ± 2,88	184,33 ± 0,57
7	188,33 ± 2,51	128,00 ± 3,46	136,67 ± 1,52	169,33 ± 1,15	184,67 ± 0,57
14	126,00 ± 3,47	134,00 ± 3,46	143,67 ± 0,57	173 ± 1,00	185,87 ± 1,154
21	127,33 ± 4,04	143,66 ± 5,13	153,33 ± 2,08	178,67 ± 0,57	186 ± 1,00

Tata cara pengujian aktivitas antibakteri secara *in vivo* yang dilakukan yaitu mensuntikkan bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 0,25 mili di 6 titik dengan kedalaman kurang lebih 5 cm, dan luas area penyuntikkan 10 cm². Lakukan pengamatan selama 2 hari, dari bakteri yang diinfeksi ke kelinci akan menimbulkan luka dan berujung pada munculnya nanah. Pengujian yang dilakukan yaitu, mengoleskan krim berformula 1 pada kelinci pertama didaerah titik suntikan dilakukan. Mengoleskan krim berformula 2 dengan konsentrasi ekstrak daun sirsak 25% pada kelinci

dua. Mengoleskan krim berformula 3 dengan konsentrasi ekstrak daun sirih 10% pada kelinci tiga. Mengoleskan krim berformula 4 dengan rasio konsentrasi ekstrak daun sirih dan daun sirsak yaitu 5% : 25% pada kelinci empat. Mengoleskan krim berformula 5 dengan rasio konsentrasi ekstrak daun sirih dan daun sirsak yaitu 5% : 25% pada kelinci lima. Mengoleskan krim berformula 6 dengan rasio konsentrasi ekstrak daun sirih dan daun sirsak yaitu 10% : 12,5% pada kelinci enam. Setelah formula salep diformulasikan pada masing-masing tubuh kelinci, kemudian membalutnya dengan perban agar

tidak terkontaminasi dengan pengaruh luar. Mengolesi krim dilakukan sebanyak 2 kali dalam satu hari yaitu pagi dan juga sore dalam rentang waktu 3 minggu. Formulasi krim yang dioleskan

berhasil atau tidaknya dapat dilihat dari lukanya mengering, nanahnya sembuh dan diameter luka mengecil tidak melebar. Hasil pengujian ditunjukkan pada Tabel 9.

Tabel 9. Rata-rata pengukuran luka pada punggung kelinci dari hari ke-0 sampai hari-20

Perlakuan	Diameter infeksi (cm)									
	H ₂	H ₄	H ₆	H ₈	H ₁₀	H ₁₂	H ₁₄	H ₁₆	H ₁₈	H ₂₀
formula I (basis)	1,2	1,13	0,97	0,83	0,68	0,57	0,45	0,27	0,13	0
Formula II	1,25	1,17	0,97	0,83	0,67	0,55	0,41	0,21	0	0
Formula III	1,03	0,83	0,62	0,43	0,23	0	0	0	0	0
Formula IV	0,97	0,73	0,47	0,25	0,05	0	0	0	0	0
Formula V	1,02	0,8	0,51	0,27	0,03	0	0	0	0	0
Formula VI	0,92	0,67	0,23	0,02	0	0	0	0	0	0

Keterangan: FI basis, FII sirsak 25%, FIII sirih 10%, FIV kombinasi sirsak 12,5% sirih 5%, FV kombinasi sirsak 25% sirih 5% dan FVI kombinasi sirsak 12,5% sirih 10% dengan jumlah 0-20 hari.

Hasil pengamatan menunjukkan pada Formula VI terjadi penyembuhan total pada hari ke 10 Penyembuhan infeksi ditandai dengan terbentuknya keropeng pada kulit dan tumbuhnya bulu pada punggung kelinci.

Perhitungan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *Plate Count*, menerapkan *colony counter*. Penghitungan dilakukan setelah tubuh kelinci terkontaminasi bakteri dan sesudah dilakukannya pengolesan krim. Hasil pengujian ditunjukkan dalam Tabel 10.

Tabel 10. Hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni

Sampel	Jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> selama pengobatan									
	H2	H4	H6	H8	H10	H12	H14	H16	H18	H20
formula I (basis)	141	123	104	80	71	62	43	22	10	4
Formula II	128	115	80	73	36	6	-	-	-	-
Formula III	110	95	74	44	18	6	-	-	-	-
Formula IV	118	86	63	39	14	2	-	-	-	-
Formula V	102	61	34	19	4	-	-	-	-	-
Formula VI	81	41	17	2	-	-	-	-	-	-

Pada Tabel 10, F VI dengan konsentrasi sirsak 12,5% sirih 10%. Kelinci dinyatakan sembuh jika jumlah koloni mendekati nilai pada kontrol normal atau flora normal. Dari hasil lamanya waktu penyembuhan yang memiliki kemampuan menyembuhkan tercepat karena pada konsentrasi tersebut memiliki kandungan ekstrak daun sirsak dan daun sirih lebih besar. Zat aktif yang terkandung di dalamnya berupa minyak asitri, flavonoid, tanin, dan saponin. yang memiliki aktifitas antibakteri.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat di simpulkan bahwa krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih memiliki kestabilan viskositas yang baik, dan pada tiap konsentrasi mempunyai efek kemampuan untuk mengobati infeksi karena *bacteria Staphylococcus aureus* yang di induksikan pada hewan uji (secara in vivo) serta kombinasi pada formula VI dengan konsentrasi sirih 10% : sirsak 12,5%, merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menyembuhkan kulit punggung kelinci yang terinfeksi bakteri

Staphylococcus aureus, dengan waktu sembuh selama 8 hari.

Daftar Pustaka

- Bustanussalam, B. *et al.* (2015) 'Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923', *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), pp. 58–64. Available at: <https://doi.org/10.33751/jf.v5i2.409>.
- Dewangga, V.S. and Nirwana, A.P. (2019) 'UJI Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro', *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 4(4), pp. 50–56. Available at: <https://doi.org/10.34035/jk.v10i1.328>.
- Hambali, R.M., Husain, D.R. and Alam, G. (2014) *Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Tua Sirsak *Annona muricata* L. Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes**, Hasanuddin University Repository.

- Available at:
<https://core.ac.uk/download/pdf/25494095.pdf> (Accessed: 20 August 2022).
- Jawetz, Melnick and Aldeberg (2008) 'Mikrobiologi Iftdokteran', *Mikrobiologi kedokteran*, 23(1), pp. 251–257.
- Rahmawati, I., Tiara, N.Y. and Harti, A.S. (2009) 'Uji Aktivitas Antibakteri Salep Hidrokarbon Ekstrak Etil Asetat Daun Jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923', *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6(3), pp. 28–30.
- Rosita, M.R.E., Murrukmihadi, M. and Suwarmi, S. (2014) 'Pengaruh Kombinasi Oxybenzone Dan Octyl Methoxycinnamate (Omc) Pada Karakteristik Fisik Dan Spf Dalam Sediaan Krim Tabir Surya the Influence of Combination Oxybenzone and Octyl Methoxycinnamate (Omc) on the Physical Characteristics and Spf in Cream Sunscree', *SMajalah Farmaseutik*, 10(1), p. 182.
- Suliantari, S., Jenie, B.S.L. and Suhartono, M.T. (2012) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri Patogen Pangan', *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 23(2), pp. 217–220.
Available at:
<https://doi.org/10.6066/jtip.2012.23.2.217>.
- Tuna, M.R., Kepel, B.J. and Lemman, M.A. (2015) 'Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro', *Pharmacon*, 4(4), pp. 65–70.