

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi dan Taksonomi *Clitoria ternatea*

Menurut Alok dkk. (2015), berdasarkan taksonominya kembang telang (*Clitoria ternatea*) termasuk ke dalam kategori sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridaeplanta
Infrakingdom	: Streptophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Infrodivisi	: Angiospremae
Kelas	: Magnoliopsida
Superorder	: Rosanae
Order	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: <i>Clitoria</i>
spesies	: <i>Clitoria ternatea</i> L.

Berdasarkan taksonomi tersebut maka telang disebutkan termasuk ke dalam golongan polong-polongan (Rokhman, 2007). Tanaman telang merupakan tanaman merambat yang mudah ditemui dipekarangan rumah dan memiliki bunganya warna biru anggun dan akan mekar sepanjang tahun, dapat bertahan hidup dengan pH tanah 5,5 – 8,9 (Michael dan Kalamani, 2003). Tanaman ini memiliki bentuk perdu tahunan dengan perakaran yang dalam dan berkayu, batang agak menanjak atau tegak dan memanjat dengan ketinggian antara 20 – 90 cm, berbulu halus, berdaun tiga, anak daun berbentuk lonjong, permukaan atas tidak berbulu dan permukaan bawah dengan bulu yang tersebar, kelopak daun berwarna ungu hingga hampir putih (Sutedi, 2013).



Gambar 1. Deskripsi bagian tanaman *Clitoria ternatea* (a) bunga *Clitoria ternatea* (b) daun dan buah *Clitoria ternatea* (c) akar *Clitoria ternatea* (d) biji *Clitoria ternatea*

Daun, bunga, biji dan akar tanaman *Clitoria ternatea* yang dapat dilihat pada Gambar 1 biasa digunakan untuk pengobatan dan ekstrak tanaman ini digunakan sebagai ramuan di Ayurvedic “Medhya Rasayana” atau resep yang digunakan untuk berbagai pengobatan seperti *antihelminthic*, diuretik, dan sebagai penawar racun (Mukherjee dkk., 2008). Sejumlah aktivitas farmakologis *Clitoria ternatea* memiliki sifat sebagai antimikrobia (Kamilla dkk., 2009). Menurut Michael dan Kalamani (2003), tanaman *Clitoria ternatea* menghasilkan benih dalam jumlah yang besar. Benih yang dihasilkan rata-rata 6 – 10 biji dengan kulit biji berukuran 5 – 7 cm dan memiliki warna hitam (Lijon dkk., 2017). Tanaman kembang telang merupakan tanaman leguminosa yang cepat pertumbuhannya sehingga dapat menghasilkan biji pada umur 110 – 150 hari (Sutedi, 2013). Lokasi sebaran *Clitoria ternatea* sering dijumpai pada daerah iklim tropis dengan rata-rata curah hujan tahunan sekitar 2000 mm. Tanaman ini dapat tumbuh subur jika berada di bawah sinar matahari dengan kisaran suhu 19-28°C (Sutedi, 2013).

B. Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan suatu bahan dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai sehingga zat aktif dapat larut dan terpisah dari bahan yang tidak dapat larut (Mukhriani, 2014). Salah satu metode ekstraksi yang umum digunakan adalah dengan metode maserasi. Metode ini menggunakan pengestrak yang memiliki sifat tidak tahan terhadap panas pada suhu ruang (27°C) sehingga dapat menghindari terjadinya kerusakan pada senyawa tertentu yang sifatnya termolabil (Mukhriani, 2014).

Prinsip metode maserasi adalah dengan merendam serbuk tanaman dalam suatu pelarut sehingga pelarut akan masuk ke dalam dinding sel tanaman, kemudian rongga sel yang mengandung zat aktif (Izza dkk., 2016). Dengan demikian, zat aktif didalamnya akan ikut tertarik bersama dengan keluarnya pelarut (Izza dkk., 2016). Proses inilah yang disebut proses difusi yakni suatu pergerakan secara spontan dan tidak dapat kembali dari fase konsentrasi tinggi ke konsentrasi yang lebih rendah (Saputera, 2008). Keadaan ini berlangsung hingga sampai terjadi fase kesetimbangan.

Dalam proses maserasi dilakukan perendaman dengan perbandingan 10 bagian pelarut dengan 1 bagian simplisia seperti dalam 1 kg bahan dalam 10 L metanol (Saifudin, 2014). Pelarut organik yang umum digunakan dalam memproduksi suatu konsentrasi ekstrak dari biji, daun, akar, batang dan bagian lainnya dari tanaman adalah etil asetat, heksan,

petroleum eter, benzen, toluen, etanol, isopropanol, aseton, metanol dan air (Saputera, 2008). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol.

Metanol, etanol 70% dan etanol 96% merupakan pelarut pilihan utama untuk mengekstrak metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya dan untuk tujuan skrining. Pada pelarut metanol, etanol 70% dan etanol 96% memiliki daya ekstraksi yang luas sehingga semua metabolit sekunder tersari dalam tiga kali maserasi (Saifudin, 2012). Selain itu, metanol memiliki gugus polar (-OH) sehingga dapat menarik zat aktif didalamnya yang bersifat polar sehingga akan melarutkan solut yang memiliki kesamaan sifat kepolaran antara pelarut dengan bahan menjadi bagian yang penting (Al-Ash'ary dkk., 2010).

C. Senyawa Fitokimia *Clitoria ternatea*

Senyawa yang terkandung dalam tumbuhan *Clitoria ternatea* adalah tannin, pholobatannin, karbohidrat, saponin, triterpenoid, fenol, flavonoid, flavonol glikosida, protein, alkaloid, antoinquinon, antosianin, glikosida, stigmast-4-ee-3,6-dione, minyak atsiri dan steroid (Al-Snafi, 2016). Menurut Manjula dkk. (2013) tumbuhan ini juga memiliki metabolit sekunder berupa kaempferol, glukosida-clitorin, taraxerol dan lacton aparajitin. Kaempferol merupakan salah satu dari senyawa flavonoid (Mustariani, 2011). Kandungan flavonoid bermanfaat sebagai antiinflamasi, antimikrobia, antialergi, dan antioksidan (Manjula dkk., 2013).

Bahan yang menggunakan biji merupakan jaringan paling sederhana mendapatkan senyawa golongan terpenoid dan lignan (Saifudin, 2012). Kandungan yang terdapat dalam biji adalah 25 – 38% protein, 5% gula dan 10% minyak. Kandungan asam lemak pada biji adalah asam palmitat, stearat, oleat, linoleat, dan linolenat. Biji *Clitoria ternatea* umumnya memiliki sifat antibakteri (Direja, 2007).

Biji juga terdapat kandungan finotin, delphinidin 3,3', 5'-triglukosida (Al-Snafi, 2016). Protein seperti finotin dari isolasi biji *Clitoria ternatea* memiliki sifat sebagai antifungal, antibakteri, dan insetisida (Lijon dkk., 2017). Biji *Clitoria ternatea* juga menghasilkan asam *p*-hidroxisinnamik, flavonol-3-glikosida, ethyl- α -D-galaktopiranosida, adenosin, 3,5,7,4'-tetrahydroxyflavon, 3-rhamnoglukosida, polipeptin, hexakosanol, β -sitosterol, γ -sitosterol dan anthoxantin glukosida (Mukherjee dkk., 2008).

Flavonoid merupakan suatu senyawa turunan fenol yang dapat larut dalam air sehingga memiliki sifat polar sehingga dapat digunakan pelarut polar seperti etanol, etilasetat, dan metanol. Dengan demikian, senyawa flavonoid yang disintesis oleh tanaman berfungsi sebagai bentuk pertahanan terhadap infeksi oleh mikroorganisme dalam hal ini *Staphylococcus epidermidis* dan *staphylococcus aureus* sehingga mempunyai kecenderungan menghambat aktivitas enzim mikroba, pada akhirnya akan mengganggu proses metabolismenya. Hasil uji flavonoid dapat ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi kuning (Ikalinus dkk., 2015).

Senyawa alkaloid yang terdapat pada biji *Clitoria ternatea* L. merupakan senyawa metabolit sekunder serta memiliki unsur nitrogen dalam kerangkanya (Saifudin, 2014). Mekanisme kerja alkaloid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga bakteri akan mati (Ningsih dkk., 2016). Pada umumnya uji alkaloid menggunakan tiga pereaksi yakni Meyer, Wagner, dan Dragendroff. Hasil positif jika menggunakan pereaksi Meyer adalah endapan putih, dengan pereaksi Wagner adalah terbentuknya endapan coklat, sedangkan dengan menggunakan pereaksi Meyer terbentuk endapan coklat muda sampai kuning (Marliana dkk., 2005).

Senyawa saponin merupakan metabolit sekunder yang stabil terbentuk busa dalam larutan air (Minarno, 2015). Mekanisme kerja senyawa saponin dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu dan merusak lapisan sel serta membran sel (Minarno, 2015). Hasil positif saponin adalah terbentuknya busa setinggi 1 cm. Busa ini terbentuk karena adanya reaksi hidrolisis (Setiabudi dan Tukiran, 2017).

Senyawa terpenoid merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tanaman yang memiliki senyawa karbon. Senyawa ini telah banyak digunakan sebagai obat antidiabetes, pestisida, penghambat kanker dan menurunkan gula darah (Saifudin, 2014). Peran terpenoid dari tumbuh-tumbuhan adalah untuk menghambat sel bakteri (Supari dkk., 2016). Senyawa tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang memiliki

komponen zat organik dan terdiri atas senyawa yang sukar mengkristal. Namun, senyawa aktif ini diketahui mempunyai khasiat sebagai astrigen, antibakteri, antidiare dan antioksidan (Malangngi dkk., 2012).

D. Deskripsi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*

Infeksi bakteri pada kulit banyak diderita oleh masyarakat yakni hingga 28,57% (Nugrahdita, 2009). Infeksi bakteri terjadi karena permukaan kulit tidak steril sehingga kulit banyak terakumulasi sisa-sisa metabolisme tubuh, kemudian mikroorganisme tumbuh pada permukaan kulit seperti *Staphylococcus aureus* (Nurtjahja dkk., 2006). *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menyebar melalui udara maupun debu. Hal ini terjadi dengan adanya kontak langsung kulit pada permukaan yang terkontaminasi (Dettol, 2018).

Bakteri ini memiliki bentuk bulat, cembung, tekstur rata, mengkilat, dan memiliki pola pinggir rata (Ummami dkk., 2017). Selain itu, merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi khususnya pada bagian kulit. *S. aureus* memiliki sifat nonmotil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif, mampu menfermentasi glukosa, dan oksidase negatif. *S. aureus* tumbuh pada suhu optimum 37⁰C (Bergey, dkk., 1957). Koloni yang terbentuk akan berwarna abu-abu sampai kuning emas tua berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (Dewi, 2013). Menurut Global Biodiversity Information Facility (2017), taksonomi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Bacteria
 Divisi : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Bangsa : Bacillales
 Suku : Staphylococcaceae
 Marga : *Staphylococcus*
 Jenis : *Staphylococcus aureus* Rosenbach, 1884

Selain *Staphylococcus aureus* bakteri patogen lainnya yang paling banyak menyerang pada kulit manusia yaitu *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus epidermidis* sering terdapat di kulit, selaput lendir serta dapat menimbulkan penyakit (Lenny, 2016). *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus halus, menonjol, berkilau, dengan diameter 0,5 – 1,5 μm , koloni berwarna putih atau krem, tidak motil. Selain itu, sifat yang dimiliki *Staphylococcus epidermidis* lainnya adalah fakultatif anaerob, katalase positif, koagulase negatif, dan *Staphylococcus epidermidis* dapat tumbuh pada suhu optimal 37°C (Ahmadiyah, 2015). Menurut Global Biodiversity Information Facility (2017), taksonomi *Staphylococcus epidermidis* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Bacteria
 Divisi : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Bangsa : Bacillales
 Suku : Staphylococcaceae
 Marga : *Staphylococcus*
 Jenis : *Staphylococcus epidermidis* (Winslow dan Winslow, 1908) Evans, 1916

E. Sediaan *Spray Gel*

Sediaan *spray gel* merupakan suatu sediaan larutan dalam sebuah alat *sprayer* dan dilakukan dengan cara disemprotkan (Marzuki dan

Fitriana., 2010). Selain itu, gel semprot memiliki keuntungan karena memiliki bahan pengental dan tidak mengandung bahan kimia yang berbahaya (Kamishita dkk., 1992). Sediaan gel merupakan suatu sediaan semipadat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari suatu partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan (Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Sediaan gel memiliki beberapa keuntungan diantaranya tidak lengket, gel berbentuk padat saat disimpan namun akan mencair ketika dikocok, serta viskositas gel tidak mengalami perubahan yang signifikan (Marzuki dan Fitriana, 2010).

Parameter sediaan *spray gel* yang baik yaitu efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* dan tidak menimbulkan iritasi jika digunakan. Sediaan *spray gel* juga dapat stabil pada pH 4,5 – 6,5 dengan viskositas ≤ 150 cPs selama 28 hari dan mempunyai daya sebar antara 5 – 7 cm, waktu kering yang dihasilkan harus ≤ 5 menit serta dapat melekat saat disemprotkan (Kamishita dkk., 1992). Komposisi yang digunakan dalam formulasi basis sediaan *spray gel* adalah gliserin 1 %, karbopol (0,4 % dalam air) sebanyak 17,5 %, NaOH (0,2 % dalam air) sebanyak 10 %, Na₂EDTA (0,1 % dalam air) sebanyak 10 %, NaCl (1 % dalam air) sebanyak 2 %, dan akuades hingga 100 % (Fitriansyah dkk., 2016).

F. Komposisi sediaan *spray gel*

Komposisi sediaan *spray gel* yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Gliserin

Gliserin ($C_3H_8O_3$) merupakan suatu cairan bening, memiliki sifat kental, tidak toksik, higroskopis, tidak berwarna, dan mudah larut dalam air, metanol, dan etanol karena bahannya yang mudah mengikat air (Yovita, 2016). Gliserin dapat mengkristal jika diletakkan dalam temperatur rendah ($<20^{\circ}C$) dan baru akan meleleh jika disimpan dalam suhu panas mencapai $20^{\circ}C$. Gliserin harus disimpan dalam wadah kedap udara, sejuk dan ditempat yang kering (Rowe dkk., 2009).

2. Karbopol

Karbopol sering disebut juga sebagai karbomer. Karbopol memiliki karakteristik serbuk berwarna putih, tidak toksik, asam, higroskopis, memiliki bau yang khas, dan biasanya digunakan dalam bentuk cair maupun semipadat. Karbopol umum digunakan sebagai basis gel atau penstabil karena memiliki sifat mudah terdispersi dalam air dan memberikan kekentalan pada gel (Rowe dkk., 2009). Kegunaan karbopol beserta konsentrasinya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kegunaan karbopol dan konsentrasi

Kegunaan	Konsentrasi (%)
Agen pengemulsi	0,1 – 0,5
Agen pembentukan gel	0,5 – 2,0
Agen suspensi	0,5 – 1,0
Pengikat dalam tablet	0,75 – 3,0
Agen <i>controlled-release</i>	5,0 – 30,0

Sumber : Rowe dkk., 2009

Karbopol sebagai bahan yang stabil dan bersifat higroskopis yang dapat dipanaskan pada suhu di bawah $104^{\circ}C$ selama 2 jam tanpa merubah efektivitasnya. Namun, terkena paparan suhu yang berlebihan

akan mengakibatkan perubahan warna dan akan memengaruhi kestabilan suatu bahan. Serbuk karbopol harus disimpan dalam wadah kedap udara agar terlindung dari kelembapan. Penggunaan gelas plastik, kaca lebih disarankan untuk penyimpanan formula yang mengandung karbomer (Rowe dkk., 2009). Kombinasi gliserin dan karbopol juga diperlukan untuk memberikan sifat lunak bagi sediaan gel serta meningkatkan daya sebar (Saryanti dan Zulfa, 2017).

3. NaOH

NaOH berfungsi sebagai larutan basa yang akan menetralkan karbopol yang memiliki sifat asam sehingga akan terbentuk gel. NaOH umumnya digunakan sebagai suatu bahan pengatur pH. NaOH harus diletakkan dalam wadah sejuk dan kering. Ketika terkena udara maka NaOH akan cepat menjadi cair namun dapat kembali menjadi padat (Rowe dkk., 2009).

4. Dinatrium EDTA

Dinatrium EDTA berfungsi sebagai agen pengkelat yang tidak larut. Jika suatu logam dikelat maka akan terbentuk suatu kompleks yang jauh lebih stabil. Dengan demikian, Dinatrium EDTA juga memiliki kemampuan dalam mencegah ketengikan yang disebabkan oleh logam dengan pembentukan agen pengkelat tidak larut (Angela, 2012).

5. NaCl

NaCl digunakan sebagai bahan dalam pengatur tingkat kekeruhan gel karbopol. Semakin banyak konsentrasi NaCl yang digunakan maka

tingkat kekeruhan suatu gel akan membuat sediaan semakin keruh. Selain itu, NaCl berfungsi sebagai pengatur viskositas dalam kabopol (Suyudi, 2014).

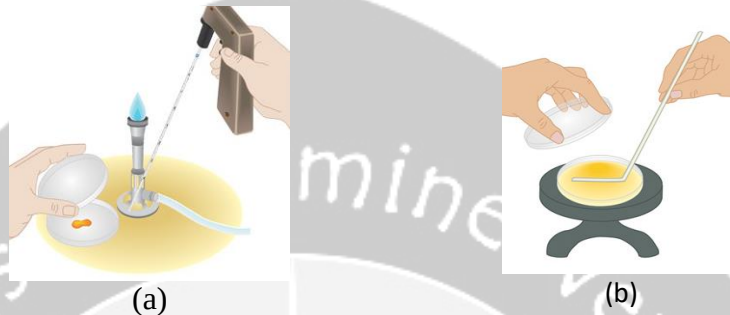
G. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk melihat aktivitas antibakteri pada sampel uji. Uji ini dapat dilakukan dengan menggunakan media bermacam – macam. Salah satunya adalah dengan menggunakan medium *Nutrient agar*. Medium ini merupakan medium umum yang paling sering digunakan dalam uji produk pangan, untuk stok kultur, untuk pertumbuhan sampel uji bakteri dan untuk mengisolasi organisme menjadi lebih murni (Misna dan Diana, 2016). Menurut Sanders (2012), terdapat teknik yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri dalam medium agar yakni sebagai berikut :

1. Teknik *pour plate*

Teknik *pour plate* dilakukan dengan prinsip menuang medium ke cawan petri sehingga akan terbentuk koloni yang berada dibawah agar dan pada permukaan dalam media agar. Dengan demikian, penggunaan metode ini harus disesuaikan dengan sifat bakteri tertentu. Apabila bakteri yang digunakan memiliki sifat aerob maka, teknik ini tidak disarankan (Sanders, 2012). Prosedur ini telah banyak digunakan dalam berbagai aplikasi dunia industri. Kelemahan dari metode ini adalah menuangkan

medium agar ketika masih sangat panas sehingga akan mempengaruhi akurasi jumlah koloni bakteri (Sanders, 2012).



Gambar 2. Teknik menumbuhkan bakteri dalam medium agar (a) *pour plate* (b) *spread plate*
(Sumber : Sanders, 2012)

Teknik *pour plate* dilakukan dengan cara menuangkan sejumlah volume sampel bakteri uji (antara 0,1 – 1 mL) diberikan secara aseptis ke dalam cawan petri kosong. Medium agar yang telah mencair dididamkan hingga suhu kurang lebih 48°C , kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dengan sampel bakteri uji. Setelah itu, dilakukan gerakan memutar pada cawan petri untuk mencampurkan bakteri uji dengan medium cair (Sanders, 2012). Medium agar dididamkan hingga 30 menit hingga memadat, kemudian diinkubasi seperti tampak pada Gambar 2.

2. Teknik *spread plate*

Teknik *spread plate* berbeda dengan teknik *pour plate*. Teknik *spread plate* dilakukan dengan prinsip menuangkan bakteri dengan volume tertentu (100-150 μl) ke dalam medium agar. Setelah itu, dilakukan pemerataan dipermukaan media agar. Cara pemerataan bakteri

menggunakan trigalski yang telah disterilkan terlebih dahulu. Setelah itu, didiamkan selama 5 menit agar sampel dapat terserap sepenuhnya ke dalam agar seperti tampak pada Gambar 2.

Menurut Balouri dkk. (2016), terdapat beberapa teknik untuk menguji aktivitas antimikrobia yakni antara lain :

1. Metode difusi cakram (*agar disk-diffusion*)

Metode ini mulai dikembangkan pada tahun 1940 dan sudah mulai banyak digunakan di banyak laboratorium mikrobiologi untuk pengujian antimikrobia. Dalam prosedur ini cakram kertas saring yang digunakan berukuran sekitar 6 mm. Cakram kertas yang telah diserap oleh larutan ekstrak sebagai senyawa antibakteri diletakkan pada permukaan medium padat yang telah diberikan bakteri uji dan di inkubasi sesuai dengan kondisi yang sesuai. Prinsip metode ini adalah senyawa antimikroba berdifusi ke dalam medium agar, kemudian akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji. Diameter zona hambat pertumbuhan diukur. Keuntungan untuk menggunakan metode ini adalah kesederhanaan, mudah, dan cepat.

2. Metode difusi agar (*agar well diffusion method*)

Metode ini secara luas telah digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikrobia. Mirip dengan metode difusi cakram, pada metode ini medium agar diinokulasi dengan menyebarkan mikroba sesuai dengan volume yang ditentukan (100 μ l) kemudian diberi lubang 6 – 8 mm, kemudian larutan ekstrak tertentu atau sebagai

senyawa antimikroba pada konsentrasi yang diinginkan dimasukkan ke dalam lubang sumuran. Medium diinkubasi dengan kondisi dan suhu yang diinginkan tergantung mikroorganisme uji yang digunakan. Prinsip metode ini adalah aktivitas antimikroba akan dihambat dengan munculnya zona hambat di sekitar sumuran. Metode ini memiliki beberapa kelebihan antara lain ekstrak langsung masuk disetiap lubang sehingga efek penghambatan bakteri lebih kuat. Hal ini didasari pada prinsip osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi ke konsentrasi lebih rendah hingga mencapai fase kesetimbangan sehingga hasil yang diperoleh lebih homogen dan menyeluruh (Misna dan Diana, 2016).

H. Standar McFarland

Standar McFarland merupakan standar yang dibuat untuk melihat serta memperkirakan jumlah bakteri melalui tingkat kekeruhan. Tingkat kekeruhan ini berhubungan dengan fase pertumbuhan suatu bakteri (Fitri dkk., 2015). Standar McFarland merupakan standar yang dibuat dari campuran barium klorida dan asam sulfat. Reaksi antara barium klorida dengan asam sulfat akan menghasilkan larutan dengan endapan halus. Kekeruhan McFarland secara visual sebanding dengan konsentrasi bakteri dalam medium (Dalynn Biologicals, 2002) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2 di bawah ini :

Tabel 2. Perbandingan jumlah bakteri dengan standar McFarland

McFarland Standar	1% BaCl ₂ (mL)	1% H ₂ SO ₄ (mL)	Perkiraan jumlah bakteri
0,5	0,05	9,95	$1,5 \times 10^8$
1	0,1	9,9	$3,0 \times 10^8$
2	0,2	9,8	$6,0 \times 10^8$
3	0,3	9,7	$9,0 \times 10^8$
4	0,4	9,6	$1,2 \times 10^9$
5	0,5	9,5	$1,5 \times 10^9$
6	0,6	9,4	$1,8 \times 10^9$
7	0,7	9,3	$2,1 \times 10^9$
8	0,8	9,2	$2,4 \times 10^9$
9	0,9	9,1	$2,7 \times 10^9$
10	10	9,0	$3,0 \times 10^9$

Sumber : Dalynn Bilogicals, 2002

I. Stabilitas sediaan

Uji stabilitas merupakan uji yang dilakukan untuk dapat menjamin identitas, kekuatan, kualitas, serta kemurnian produk (Rismana dkk., 2015). Dengan demikian, produk yang akan diedarkan ke konsumen dapat digunakan secara aman. Pada umumnya faktor stabilitas dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu dan kelembaban terhadap kadar zat aktif, pH, bau, dan warna sediaan. Selain itu, penggunaan jenis dan konsentrasi serta kebutuhan ekstrak yang berbeda akan memengaruhi kestabilan fisik suatu sediaan (Sayuti, 2015).

Uji stabilitas fisik sangat diperlukan untuk menjamin bahwa sediaan memenuhi parameter ataupun kriteria selama penyimpanan dan tidak menimbulkan perbedaan sifat selama sebelum dan setelah pembuatan (Sayuti, 2015). Ketidakstabilan sediaan gel dapat ditandai dengan adanya perubahan warna sediaan seperti terjadinya pemucatan warna dan

munculnya warna lain, serta dapat juga ditemukan bau yang lain (Sayuti, 2015). Uji stabilitas ditunjukan dengan adanya kemampuan sediaan dalam mempertahankan sifat dan karakteristik bahkan khasiat sehingga kondisi sediaan akan tetap sama hingga batas yang telah ditentukan (Rismana dkk., 2013).

J. Uji iritasi primer pada hewan uji

Uji iritasi primer (keamanan) sediaan merupakan bentuk untuk menciptakan rasa aman dan terhindar dari efek samping seperti iritasi bagi masyarakat. Uji iritasi ini umumnya menggunakan hewan uji seperti marmot, tikus, mencit, dan kelinci. Hewan *Ortctolagus cuniculus* atau yang lebih dikenal kelinci merupakan hewan yang lebih banyak dipilih sebagai hewan uji atau hewan percobaan karena kulit kelinci lebih sensitif dibandingkan kulit pada manusia dan lebih aman ketika digunakan untuk penapisan bagi senyawa iritan (Zulkarnain dkk., 2013). Selain itu, beberapa keuntungan menggunakan kelinci sebagai hewan uji adalah hewan ini sangat jinak dan tidak agresif sehingga akan jauh lebih mudah ditangani dan diamati, biaya yang dikeluarkan lebih ekonomis dibandingkan hewan besar lainnya, memiliki siklus reproduksi yang pendek, tidak membutuhkan peraturan yang sangat ketat dibanding dengan menggunakan hewan uji yang lebih besar, fasilitas pemeliharaan lebih murah dan mudah dibandingkan hewan yang lebih besar lainnya (Mapara dkk., 2012). Pada umumnya kelinci yang digunakan adalah kelinci yang sehat, memiliki berat 2 – 5 kg,

dan ditempatkan dalam kandang yang memiliki ukuran lebih besar dari tubuhnya sehingga kelinci dapat bergerak bebas dan berbaring (Suckow dan Douglas, 1997).

K. Hipotesis

1. Formula sediaan *spray gel* F2 memiliki aktivitas terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*
2. Formula sediaan *spray gel* F1 dan F2 memiliki pH dan viskositas yang stabil selama 28 hari
3. Formula sediaan *spray gel* F1 dan F2 tidak menimbulkan iritasi pada permukaan kulit hewan uji