

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman Kecombrang

Penelitian ini menggunakan sampel bunga kecombrang yang diambil dari daerah Desa Pernasidi, Kecamatan Cilongok, Kabupaten Banyumas. Tumbuhan yang akan dijadikan sampel dalam penelitian ini adalah bunga kecombrang (*Etingera elatior* (Jack) R.M.Sm.), sesuai dengan temuan determinasi yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Merupakan famili dari Zingiberaceae dengan nomor sertifikat No. 329-S.Ket.Det/L.BioFar-F.Far/II/2023 (Lampiran 4).

2. Simplisia Bunga Kecombrang

Sebanyak 5,5 kg (5500 gram) bunga kecombrang dikeringkan menggunakan alat pengering pada suhu 50°C kurang lebih selama 2 hari menghasilkan 529 gram simplisia kering dengan % susut pengeringan sebesar 9,6% (Lampiran 1).

Sebanyak 1 gram simplisia dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam di dalam oven sampai beratnya konstan dan menghasilkan kadar air sebesar 8% (Lampiran 1).

3. Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sebanyak 500 gram serbuk simplisia kering bunga kecombrang diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% (5000 ml) menghasilkan ekstrak kental sebanyak 86 gram dengan % rendemen ekstrak sebesar 17,2% (Lampiran 1).

4. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Tabel 4.1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil	
		Reaksi	Keterangan
Flavonoid	HCl pekat + Serbuk Mg	Larutan berubah warna menjadi merah	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Larutan berubah warna menjadi hijau gelap	+
Saponin	Air panas + Asam klorida 2N	Ada busa di atas larutan	+
Terpenoid	Kloroform + Asam asetat + Asam sulfat pekat	Ada cincin coklat pada perbatasan larutan	+
Minyak atsiri	Aquadest + dipanaskan	Ada bau khas	+

Ekstrak etanol bunga kecombrang positif mengandung metabolit sekunder, seperti flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan minyak atsiri, sesuai dengan hasil skrining fitokimia ekstrak (Tabel 4.1 dan Lampiran 7).

5. Hasil Uji Sifat Fisik Formulasi Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

a. Uji Organoleptik

Tabel 4.2 Hasil Uji Organoleptik Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sampel	Bentuk	Warna	Bau
F0	Semi padat	Putih	Tidak berbau
F1	Semi padat	Coklat muda	Aromatika lemah
F2	Semi padat	Coklat kemerahan	Aromatika sedang
F3	Semi padat	Coklat merah tua	Aromatika kuat

Hasil uji organoleptik formulasi krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.2 dan lampiran 10) menunjukkan pada F0 berwarna putih dan tidak berbau, F1 berwarna coklat muda dengan bau aromatika lemah, F2 berwarna coklat kemerahan dengan bau aromatika sedang, dan F3 berwarna coklat merah tua dengan bau aromatika kuat. Sedangkan untuk bentuk, semua formulasi sama yaitu semi padat.

b. Uji Homogenitas

Tabel 4.3 Hasil Uji Homogenitas Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sampel	Homogenitas
F0	Homogen
F1	Homogen
F2	Homogen
F3	Homogen

Hasil uji homogenitas krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.3 dan lampiran 11) menunjukkan bahwa semua formulasi memiliki hasil yang homogen ditandai dengan tidak adanya bahan padat pada kaca objek (Voight, 1995).

c. Uji pH

Tabel 4.4 Hasil Uji pH Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sampel	pH
F0	6,5
F1	6,5
F2	6
F3	5

Hasil uji pH krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.4 dan lampiran 12) menunjukkan pada F0 dan F1 memiliki pH sebesar 6,5, F2 sebesar 6 sedangkan F3 sebesar 5. Nilai tersebut masih memenuhi pH sediaan krim yang baik sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Tranggono *and* Latifa, 2007).

d. Uji Daya Sebar

Tabel 4.5 Hasil Uji Daya Sebar Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sampel	Rata-rata Diameter Daya Sebar Krim (cm) \pm SD
F0	6.48 \pm 0.18
F1	5.54 \pm 0.20
F2	4.19 \pm 0.10
F3	3.49 \pm 0.37

Hasil uji daya sebar krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.5, lampiran 14 dan lampiran 13) menunjukkan F0 dan F1 memiliki daya sebar yang baik, berkisar antara 5,54 cm hingga 6,48 cm dimana nilai tersebut sesuai dengan persyaratan daya sebar yang baik untuk sediaan topikal yaitu berkisar 5-7 cm (Wasitaatmadja, 2012). Sedangkan pada F2 dan F3 belum memenuhi persyaratan tersebut.

e. Uji Daya Lekat

Tabel 4.6 Hasil Uji Daya Lekat Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sampel	Rata-rata Diameter Daya Lekat Krim (detik) \pm SD
F0	6.13 \pm 0.15
F1	7.22 \pm 0.24
F2	8.78 \pm 0.23
F3	9.85 \pm 0.17

Hasil uji daya lekat krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.6 dan lampiran 14) menunjukkan bahwa semua formulasi memiliki daya lekat yang baik karena memiliki waktu lekat lebih dari 4 detik (Wasitaatmadja, 2012).

f. Uji Tipe Krim

Tabel 4.7 Hasil Uji Tipe Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sampel	Tipe Krim
F0	Minyak dalam Air (M/A)
F1	Minyak dalam Air (M/A)
F2	Minyak dalam Air (M/A)
F3	Minyak dalam Air (M/A)

Hasil dari uji tipe krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.7 dan lampiran 15) menggunakan metode pengenceran, menunjukkan semua formulasi termasuk tipe krim minyak dalam air (M/A) karena dapat diencerkan dengan pelarut air (Fatmawaty *et al.*, 2015).

g. Uji Stabilitas Krim

Tabel 4.8 Hasil Uji Stabilitas Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sampel	Stabilitas Krim (<i>Centrifugal test</i>)
F0	Stabil
F1	Tidak stabil
F2	Tidak stabil
F3	Tidak stabil

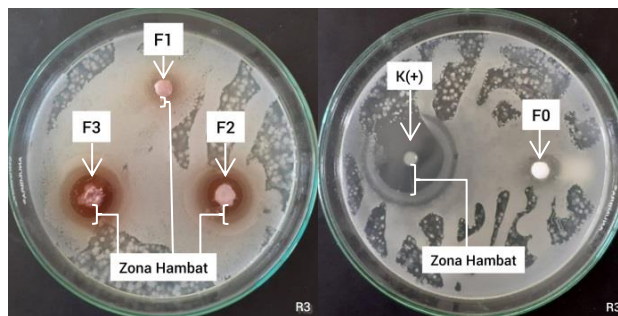
Hasil dari uji stabilitas krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.8 dan lampiran 16) menggunakan metode *Centrifugal test* menunjukkan hasil hanya F0 saja yang stabil, pada F1, 2 dan 3 tidak stabil ditandai dengan terjadinya pemisahan fase (Elya *et al.*, 2013).

6. Hasil Uji Antibakteri Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne*

Tabel 4.9 Hasil Uji Antibakteri Krim Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Sampel	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD
F0	0.00 \pm 0.00
F1	5.52 \pm 0.08
F2	7.37 \pm 0.16
F3	9.34 \pm 0.64
K(+)	19.86 \pm 0.08

Aktivitas antibakteri krim ekstrak etanol bunga kecombrang F1, F2, dan F3 memiliki rata-rata zona hambat sedang dengan rata-rata zona hambat terbesar F3 = 9,34, sesuai dengan hasil uji terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (Tabel 4.9 dan Gambar 4.1). Sedangkan kontrol positif memiliki rata-rata zona hambat sebesar 19,86 mm dan F0 tidak memiliki zona hambat sama sekali.



Gambar 4.1 Hasil aktivitas antibakteri krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Sumber: Dokumen Pribadi, 2023)

7. Analisis Data

a. Analisis data uji daya sebar krim ekstrak etanol bunga kecombrang

Tabel 4.10 Hasil Analisis Data Uji Daya Sebar Krim Bunga Kecombrang

Uji	Nilai Signifikansi
Normalitas	0.200
Homogenitas	0.356
One Way Anova	0.000

Hasil analisis data uji daya sebar krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.10 dan lampiran 21) menunjukkan seluruh data terdistribusi normal dimana nilai signifikansi 0.200 ($p > 0.05$). Dilanjutkan dengan uji homogenitas *levene test* menunjukkan nilai signifikansi 0.356 ($p > 0.05$). Dan uji parametik *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$). Selanjutnya uji lanjutan dilakukan uji *Post Hoc LSD*.

Tabel 4.11 Hasil Analisis Post Hoc LSD Daya Sebar Krim Bunga Kecombrang

Sampel	F0	F1	F2	F3
F0	-	0.001*	0.000*	0.000*
F1	0.001*	-	0.000*	0.000*
F2	0.000*	0.000*	-	0.007*
F3	0.000*	0.000*	0.007*	-

Keterangan (*) ≤ 0.050 = Berbeda bermakna

Hasil analisis data uji *Post Hoc LSD* (Tabel 4.11 dan lampiran 21) diperoleh nilai signifikansi ($p < 0,005$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar formulasi 0, 1, 2 dan 3 terhadap daya sebar krim.

b. Analisis data uji daya lekat krim ekstrak etanol bunga kecombrang

Tabel 4.12 Hasil Analisis Data Uji Daya Lekat Krim Bunga Kecombrang

Uji	Nilai Signifikansi
Normalitas	0.200
Homogenitas	0.905
<i>One Way Anova</i>	0.000

Hasil analisis data uji daya lekat krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.12 dan lampiran 22) menunjukkan seluruh data terdistribusi normal dimana nilai signifikansi 0.200 ($p > 0.05$). Dilanjutkan dengan uji homogenitas *levene test* menunjukkan nilai signifikansi 0.905 ($p > 0.05$). Dan uji parametik *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$) Selanjutnya uji lanjutan dilakukan uji *Post Hoc LSD*.

Tabel 4.13 Hasil Analisis *Post Hoc LSD* Daya Lekat Krim Bunga Kecombrang

Sampel	F0	F1	F2	F3
F0	-	0.000*	0.000*	0.000*
F1	0.000*	-	0.000*	0.000*
F2	0.000*	0.000*	-	0.000*
F3	0.000*	0.000*	0.000*	-

Keterangan (*) ≤ 0.050 = Berbeda bermakna

Hasil analisis data uji *Post Hoc LSD* (Tabel 4.13 dan lampiran 21) diperoleh nilai signifikansi ($p < 0,005$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar formulasi 0, 1, 2 dan 3 terhadap daya lekat krim.

c. Analisis data aktivitas antibakteri krim ekstrak bunga kecombrang

Tabel 4.14 Hasil Analisis Data Aktivitas Antibakteri Krim Bunga Kecombrang

Uji	Nilai Signifikansi
Normalitas	0.200
Homogenitas	0.005
<i>Kruskal wallis</i>	0.009

Hasil analisis data aktivitas antibakteri krim ekstrak etanol bunga kecombrang (Tabel 4.14 dan lampiran 23) menunjukkan seluruh data terdistribusi normal dimana nilai signifikansi 0.200 ($p > 0.05$). Dilanjutkan dengan uji homogenitas *levene test* menunjukkan nilai

signifikansi tidak homogen atau variasi data berbeda, dengan nilai signifikansi 0.005 ($p < 0,05$). Pada uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai 0,009 ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antar kelompok. Mengingat bahwa uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan, maka data di uji secara statistik sekali lagi menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk menentukan konsentrasi mana yang menunjukkan perbedaan yang bermakna (Anderiani, 2019). Hasil uji *Mann-Whitney* dari masing-masing formulasi dapat dilihat pada tabel 4.15.

Tabel 4.15 Hasil Uji Mann Whitney Aktivitas Antibakteri

Sampel	F0	F1	F2	F3	K(+)
F0	-	0.037*	0.037*	0.037*	0.037*
F1	0.037*	-	0.050*	0.050*	0.050*
F2	0.037*	0.050*	-	0.050*	0.050*
F3	0.037*	0.050*	0.050*	-	0.050*
K(+)	0.037*	0.050*	0.050*	0.050*	-

Uji Mann Whitney (*) ≤ 0.050 = Berbeda bermakna

Keterangan :

- F0 : Formulasi 0
- F1 : Formulasi 1
- F2 : Formulasi 2
- F3 : Formulasi 3
- K(+): Kontrol Positif

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney*, kelompok kontrol negatif (F0) menunjukkan nilai $p < 0.05$ terhadap kontrol positif dengan nilai 0.037 yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kontrol. Kontrol negatif juga menunjukkan nilai $p < 0.05$ terhadap F1, F2 dan F3 dengan nilai p value sebesar 0.037 yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara diameter zona hambat yang terbentuk oleh kedua formulasi, sedangkan kontrol positif menunjukkan nilai p value ≤ 0.05 terhadap F1, F2 dan F3 dengan nilai p value 0.050. Angka tersebut menunjukkan bahwa diameter zona hambat antara kedua formulasi berbeda nyata.

B. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang berjudul formulasi krim antibakteri ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.Sm.) terhadap *Propionibacterium acnes* yang bertujuan untuk mengetahui sediaan krim ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.Sm.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap, dengan tahap pertama pada penelitian ini yaitu pengumpulan sampel dan determinasi tanaman. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa sampel yang digunakan sesuai dengan kebenaran (Lampiran 4). Selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol bunga kecombrang. Bunga kecombrang sebanyak 5,5 kg (5500 gram) dikeringkan menggunakan lemari pengering pada suhu 50°C selama 2 hari. Pemilihan suhu tersebut didasarkan pada penelitian Warnis *et al.* (2020) yang menunjukkan bahwa pengeringan pada suhu 50°C menghasilkan kadar senyawa fitokimia yang lebih tinggi dibandingkan pengeringan pada suhu ruang (25-30°C). Hal ini disebabkan suhu pemanasan yang lebih merata dan sirkulasi udara yang lebih sempurna pada lemari pengering sehingga proses pengeringan menjadi lebih optimal. Semakin tinggi suhu pengeringan maka semakin rendah kandungan senyawa fitokimia dalam sampel (Syafriada *et al.*, 2018). Simplisia kemudian dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh, diperoleh hasil susut pengeringan sebesar 9,6% dan kadar air sebesar 8%. Hasil tersebut sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II bahwa susut kering simplisia bunga kecombrang tidak lebih dari 10% dan kadar air tidak lebih dari 10,9% (Depkes RI, 2017).

Simplisia kering bunga kecombrang diekstraksi dengan metode maserasi. Metode maserasi merupakan teknik ekstraksi yang digunakan untuk menarik senyawa dari suatu sampel dengan melakukan perendaman dengan pelarut organik dalam jangka waktu tertentu. Dengan demikian, selama perendaman tersebut pelarut akan menembus dinding sel tanaman yang diekstraksi dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif

akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel, larutan dengan konsentrasi tertinggi akan terdorong keluar. Keuntungan dari metode maserasi adalah dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil, lebih ekonomis dan mudah dilakukan. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%. Pemilihan pelarut etanol 70% karena dapat melarutkan senyawa fitokimia lebih optimal. Etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan etanol 96% karena mengandung air cukup banyak (30%), sehingga senyawa polar akan lebih larut dalam etanol 70% (Riwanti *et al.*, 2020).

Ekstrak kental yang diperoleh dari bunga kecombrang (*Etligeria elatior* (Jack) R.M.Sm.) sebanyak 86 gram dengan rendemen ekstrak 16,4%. Hasil rendamen tersebut sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, dimana rendamen ekstrak bunga kecombrang tidak kurang dari 9,8% (Depkes RI, 2017). Nilai tersebut juga menunjukkan bahwa pelarut mampu menarik hingga 16,4% senyawa zat aktif melalui metode maserasi. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak nilai ekstrak yang dihasilkan (Depkes RI, 2000). Ekstrak yang dihasilkan berwarna merah kehitaman, memiliki bau aromatika yang kuat, serta tekstur yang kental dan pekat.

Skrining fitokimia yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan minyak atsiri. Hal ini sesuai dengan penelitian Farida *and* Maruzy (2016) bahwa bunga kecombrang mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, saponin, tanin dan minyak atsiri. Berdasarkan hasil penelitian Syafriana *et al.* (2021) ekstrak etanol bunga kecombrang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid atau triterpenoid. Menurut temuan skrining fitokimia Syahrini (2021), ekstrak etanol bunga kecombrang mengandung steroid atau triterpenoid, saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin.

Uji flavonoid pada ekstrak etanol bunga kecombrang menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi merah setelah penambahan pereaksi HCl pekat + serbuk Mg. Hal ini sesuai dengan literatur

tentang uji flavonoid, yang melaporkan hasil positif ketika sampel yang dimasukkan reagen berubah warna menjadi merah, hijau, atau jingga (Endarini, 2016). Perubahan warna yang terjadi akibat reduksi flavonoid dengan Mg dan HCl (Huda *et al.*, 2019).

Uji tanin pada ekstrak etanol bunga kecombrang menunjukkan hasil positif ditandai dengan timbulnya warna hijau gelap setelah penambahan pereaksi FeCl₃ 1%. Hal ini sesuai dengan literatur pada uji tanin dinyatakan positif jika ekstrak yang ditambahkan FeCl₃ 1% menunjukkan perubahan warna hijau gelap atau hijau kebiruan (Endarini, 2016). Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan logam Fe³⁺ inilah yang mengubah warna larutan. Ikatan koordinasi kovalen antara ion atau atom logam dan atom non logam menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks (Handayani *et al.*, 2020).

Uji saponin pada ekstrak etanol bunga kecombrang menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih yang tingginya sekitar 2,5 cm yang bertahan lama setelah penambahan aquades panas dan asam klorida 2N lalu dikocok. Hal ini sesuai literatur pada uji saponin dinyatakan positif jika sampel ditambah aquades panas dan digojog selama 10 detik hingga adanya busa setinggi 1-10 cm, dan tidak menghilang setelah penambahan asam klorida 2N (Depkes RI, 2017). Adanya glikosida, yang dapat menghasilkan buih dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan bahan kimia lainnya, ditunjukkan dengan munculnya buih pada uji saponin (Kopon *et al.*, 2020).

Uji terpenoid pada ekstrak etanol bunga kecombrang menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya cincin berwarna coklat pada batas larutan setelah penambahan kloroform, asam asetat dan asam sulfat pekat. Hal ini sesuai dengan penelitian Nasution (2020) yang menyatakan bahwa uji terpenoid positif jika terbentuknya cincin coklat atau violet pada ekstrak yang ditambahkan kloroform, asam asetat dan asam sulfat pekat. Perubahan warna ini disebabkan oleh oksidasi senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip reaksi dalam uji terpenoid adalah kondensasi, atau pelepasan, H₂O, dan pengikatan karbokation, yang menghasilkan adisi

elektrofilik dan pelepasan H₂O. Penghapusan gugus hidrogen dan elektronnya menyebabkan konjugasi memanjang, menunjukkan adanya cincin coklat (Munadi, 2020). Uji minyak atsiri ekstrak etanol bunga kecombrang menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya bau khas pada residu ekstrak. Hal ini sesuai dengan literatur pada uji minyak atsiri dinyatakan positif ditandai dengan bau khas yang dihasilkan oleh residu hasil pemanasan ekstrak (Ciulei, 1984).

Setelah dilakukan skrining fitokimia maka selanjutnya ekstrak etanol bunga kecombrang diformulasikan menjadi sediaan krim. Pemilihan sediaan krim pada penelitian ini karena memiliki daya sebar yang baik pada kulit, memberikan efek dingin karena penguapan air yang lambat dari kulit, mudah dicuci dengan air dan pelepasan bahan aktif yang baik. Selain itu, tidak ada penyumbatan di kulit. Tipe krim yang dibuat yaitu minyak dalam air (M/A). Ada 3 formulasi krim yang dibuat yaitu variasi konsentrasi ekstrak F1 = 5%; F2 = 10%; dan F3 = 15%. Karena berat sediaan krim yang dibuat sebesar 50 gram maka pada F1 penambahan ekstraknya sebanyak 2,5 gram pada basis krim, F2 penambahan ekstraknya sebanyak 5 gram pada basis krim dan F3 penambahan ekstraknya sebanyak 7,5 gram pada basis krim. Adapun formulasi krim yang dibuat tanpa menggunakan ekstrak (F0) sebagai kontrol negatif dan krim klindamisin (Medi-Klin[®]) sebagai kontrol positif.

Kemudian dilakukan pengujian sifat fisik terhadap formulasi krim ekstrak etanol bunga kecombrang pada F0, F1, F2 dan F3. Pengujian ini meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji tipe krim dan uji stabilitas krim (*centrifugal test*). Pemeriksaan fisik ini dimaksudkan untuk mengevaluasi stabilitas dan viabilitas sediaan. Bentuk, warna, dan aroma semuanya dievaluasi selama pengujian organoleptik sediaan krim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua formulasi krim yang dibuat berbentuk semi padat. F0 memiliki warna putih sedangkan F1, F2 dan F3 menunjukkan perubahan warna dan bau dari masing-masing formulasi, dimana perubahan warna dan bau terjadi karena semakin banyak ekstrak yang ditambahkan, maka sediaan krim menjadi lebih pekat warnanya

dan menghasilkan bau aromatika yang lebih kuat. Hasil uji organoleptik tersebut sesuai dengan literatur (Suru *et al.*, 2019).

Pengujian homogenitas krim dilakukan untuk menjamin kehomogenitasan sediaan krim, apakah zat aktif tercampur secara homogen dengan basis krim dan bahan tambahan lainnya. Saat dioleskan ke kaca, krim harus memiliki komposisi yang homogen, artinya tidak boleh ada yang padat (Voight, 1995). Pada penelitian ini, hasil uji homogenitas krim ekstrak etanol bunga kecombrang pada F0, F1, F2 dan F3 menunjukkan hasil yang homogen, ditandai dengan tidak adanya bahan padat pada kaca objek sehingga sediaan krim sesuai dengan persyaratan homogenitas.

Pengujian pH pada krim bertujuan untuk mengetahui kadar asam dan basa dalam formulasi krim yang dibuat. Hasil uji pH pada F0 dan F1 sebesar 6,5, F2 sebesar 6 sedangkan F3 sebesar 5. Angka-angka ini masih berada dalam kisaran pH 4,5–6,5 yang berlaku untuk kulit wajah. Oleh karena itu, keempat formula tersebut bermanfaat untuk kulit wajah (Fatmawaty *et al.*, 2015). Isani *et al.* (2016) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan maka semakin kecil nilai pH sediaan karena flavonoid memiliki nilai asam yang tinggi. Krim dengan nilai pH antara 8-14 dapat menyebabkan kulit mengelupas, sedangkan krim dengan nilai pH antara 1-4 akan menyebabkan iritasi saat dioleskan pada kulit (Baskara *et al.*, 2020).

Pengujian daya sebar krim bertujuan untuk mengetahui kemampuan krim menyebar sehingga dapat dilihat kemudahan pengolesan sediaan pada kulit. Krim yang baik memiliki daya sebar yang besar sehingga tidak perlu penekanan pada kulit (Fatmawaty *et al.*, 2015). Daya sebar yang baik menyebabkan terjadinya kontak yang luas antara obat dengan kulit, sehingga penyerapan ke dalam kulit berlangsung secara cepat (Pratasik *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil uji daya sebar F0 dan F1 menunjukkan hasil yang baik dengan rata-rata 5,54 cm hingga 6,48 cm, dimana nilai tersebut sesuai dengan persyaratan daya sebar krim yang baik yaitu berkisar 5-7 cm (Wasitaatmadja, 2012). Sedangkan pada F2 dan F3 belum memenuhi persyaratan tersebut. Hal ini terjadi karena dipengaruhi oleh penambahan ekstrak etanol bunga

kecombrang, dimana semakin banyak ekstrak yang ditambahkan maka semakin kental krim yang dihasilkan, sehingga daya sebar krim menurun. Pada penelitian Erwiyani *et al.* (2018) menyatakan bahwa daya sebar dipengaruhi oleh viskositas sediaan, semakin cair sediaan krim maka semakin besar diameter sebaran sediaan krim, karena daya sebar berbanding terbalik dengan viskositas sediaan, sehingga nilai sebarannya yang tinggi, maka nilai viskositasnya akan rendah. Penurunan daya sebar disebabkan oleh konsentrasi krim yang semakin kental.

Hasil uji daya sebar selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan SPSS 25 untuk mengetahui adanya perbedaan dari setiap kelompok. Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* digunakan untuk menguji distribusi data. Data terlihat terdistribusi teratur berdasarkan nilai signifikansi uji normalitas yaitu 0,200 ($p > 0,05$) (Tabel 4.10). Kemudian dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan metode *Levene test* dan didapatkan tingkat signifikansi sebesar 0,356 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang berarti variansi data di setiap kelompok sama, maka dapat dilakukan analisis parametrik *One Way ANOVA*. Analisis *One Way ANOVA* menghasilkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa secara statistik terdapat perbedaan daya sebar krim yang bermakna antara formulasi 0, 1, 2, dan 3.

Pengujian daya lekat sediaan krim dilakukan untuk mengetahui seberapa baik krim melekat pada permukaan kulit. Salah satu kriteria krim yang akan diberikan pada kulit adalah kemampuannya untuk melekat. Penyerapan obat akan lebih besar jika daya lekatnya tinggi karena meningkatkan jumlah waktu kontak krim dengan kulit (Fatmawaty *et al.*, 2015). Pada penelitian ini daya lekat keempat formulasi krim ekstrak etanol buga kecombrang berkisar antara 6-10 detik, hal ini menggambarkan bahwa keempat formulasi krim tersebut memenuhi persyaratan daya lekat yang baik yaitu lebih dari 4 detik (Waasitaatmadja, 2012). Daya lekat yang terlalu kuat dapat menyebabkan terhambatnya pernafasan pada kulit, sedangkan daya lekat yang terlalu lemah akan mengurangi efek terapi dari sediaan (Mansauda *et al.*, 2023).

Hasil uji daya lekat selanjutnya dilakukan analisis data. Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* digunakan untuk menguji distribusi data. Data terlihat terdistribusi teratur berdasarkan nilai signifikansi uji normalitas yaitu 0,200 ($p>0,05$) (Tabel 4.12). Kemudian dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan metode *Levene test* dan didapatkan tingkat signifikansi sebesar 0,905 ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan nilai $p>0,05$ yang berarti variansi data disetiap kelompok sama, maka dapat dilakukan analisis parametrik *One Way ANOVA*. Analisis *One Way ANOVA* menghasilkan nilai signifikansi 0,000 ($p<0,05$) yang menunjukkan bahwa secara statistik terdapat perbedaan daya lekat krim yang bermakna antara formulasi 0, 1, 2, dan 3.

Pengujian tipe krim bertujuan untuk memeriksa kemungkinan terjadinya interfase dan menilai kesesuaian jenis krim yang dibuat dengan jenis krim yang telah diformulasikan sebelumnya. Pada penelitian ini digunakan metode pengenceran untuk menentukan jenis krim yang dibuat dengan cara mengencerkan 0,5 gram dalam 10 ml aquadest dan diaduk, kemudian diamati kelarutannya. Krim jenis M/A dapat diencerkan dengan pelarut air, namun jenis krim A/M tidak bisa (Fatmawaty *et al.*, 2015). Hasil dari uji tipe krim menunjukkan bahwa keempat formulasi krim termasuk krim tipe minyak dalam air (M/A) karena dapat diencerkan dengan aquades dan tercampur secara homogen. Hal ini dikarenakan jumlah fase terdispersi (minyak) yang digunakan pada krim lebih kecil dibandingkan dengan fase pendispersi (air), sehingga fase minyak terdispersi merata dalam fase air dan membentuk emulsi minyak dalam air dengan bantuan bahan pengemulsi (Suru *et al.*, 2019). Karena dapat meningkatkan gradien konsentrasi bahan aktif yang menembus kulit, jenis krim M/A ini dapat diaplikasikan pada area kulit yang luas untuk hasil yang terbaik dan meningkatkan penyerapan melalui kulit (Elmitra, 2017).

Pengujian stabilitas krim dengan metode sentrifugasi bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pemisahan fase pada sediaan krim ketika sediaan krim disentrifugasi atau diputar dengan kecepatan tertentu selama beberapa menit (Fatmawaty *et al.*, 2015). Menurut Hukum Stokes, pembentukan krim

adalah suatu fungsi gravitasi dan peningkatan gravitasi mempercepat pemisahan fase. Hasil uji sentrifugasi sama dengan efek gravitasi pada krim dalam kurun waktu satu tahun, oleh karena itu uji ini dimaksudkan untuk mengetahui daya tahan krim selama satu tahun (Mansauda *et al.*, 2023). Pada penelitian ini, hasil pengujian sentrifugasi pada 6.000 rpm selama 30 menit menunjukkan hanya F0 yang stabil, sedangkan F1, F2 dan F3 tidak stabil ditandai dengan terjadinya pemisahan fase. Pemisahan fase ini disebabkan oleh perbedaan densitas antar fase. Fase minyak yang memiliki densitas kecil dibandingkan fase air, berada di permukaan atas (Andriyani, 2016). Stabilitas krim akan terganggu dengan adanya penambahan salah satu fase secara berlebihan. Penambahan ekstrak etanol menyebabkan emulsi menjadi terpisah karena butir-butir minyak menggumpal menjadi satu fasa yang terpisah ketika lapisan pada partikel pecah. Pemisahan fase ini akan mempercepat umur simpan sediaan (Syamsuni, 2016).

Pengujian aktivitas antibakteri krim ekstrak etanol bunga kecombrang menggunakan metode difusi sumuran. Keuntungan dari metode ini adalah luas zona hambat yang terbentuk dapat diukur dengan mudah, karena bakteri aktif tidak hanya pada bagian atas nutrient agar, tetapi juga sampai ke bawah. Sampel yang dimasukkan ke dalam sumuran yang telah dirancang dapat memberikan proses osmosis yang lebih seragam dan efektif, sehingga meningkatkan efektivitasnya dalam mencegah perkembangan bakteri (Nurhayati *et al.*, 2020). Aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui besarnya aktivitas antibakteri yang dimiliki ekstrak etanol bunga kecombrang terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak tiga kali replikasi pada masing-masing formulasi krim (F1, F2 dan F3) serta pembanding (kontrol negatif dan kontrol positif). Berbagai zona hambat ditemukan berdasarkan temuan penelitian yang menilai aktivitas antibakteri krim ekstrak etanol bunga kecombrang menggunakan metode difusi sumuran. Krim ekstrak etanol bunga kecombrang mampu menekan pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*, dibuktikan dengan rata-rata diameter zona hambat

yang bervariasi (Tabel 4.9). Perbedaan daya hambat dipengaruhi oleh besar kecilnya konsentrasi dan zat aktif yang terkandung pada masing-masing konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, karena semakin banyak jumlah senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak tersebut (Setiawan, 2021; Amina, 2023).

Formulasi krim ekstrak etanol bunga kecombrang dengan konsentrasi ekstrak F1 = 5% memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 5,52 mm, konsentrasi F2 = 10% memiliki rata-rata zona hambat sebesar 7,37 mm dan konsentrasi F3 = 15% memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,34 mm. Ketiga formulasi krim tersebut semuanya dapat digolongkan memiliki aktivitas antibakteri sedang, dengan zona hambat terbesar pada F3. Sedangkan rata-rata diameter zona kontrol positif krim klindamisin (Medi-Klin[®]) adalah 19,86 mm, yang tergolong memiliki aktivitas antibakteri kuat dan kontrol negatif (F0) yang tidak memiliki zona hambat atau tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

Pembentukan zona hambat di sekitar lubang sumuran didasari adanya peran dari senyawa kimia yang terdapat pada bunga kecombrang seperti flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Komposisi senyawa kimia ini memiliki cara kerja yang berbeda-beda dalam menghambat bakteri.

Senyawa flavonoid bekerja dengan tiga cara berbeda untuk menekan pertumbuhan bakteri yaitu menghambat fungsi membran sel, sintesis asam nukleat dan metabolisme energi dari bakteri. Flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan protein di luar dinding sel bakteri untuk membentuk senyawa kompleks, flavonoid merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom, yang menyebabkan pelepasan senyawa intraseluler dan kematian bakteri. Cincin A dan B flavonoid, yang sangat penting untuk proses ikatan hidrogen, dapat menghambat sintesis asam nukleat. Cincin A dan B pada bakteri menciptakan basa asam nukleat, menghalangi sintesis

DNA dan RNA. Selain itu, flavonoid dapat menghalangi bakteri menggunakan oksigen, yang dapat membatasi metabolisme energi. Ini akan mencegah metabolisme berkembang, menyebabkan bakteri mati (Sudrajat *et al.*, 2020).

Senyawa saponin menyebabkan protein dan enzim bocor dari sel akibat efek antibakteri yang dimilikinya. Karena saponin memiliki komponen aktif dengan permukaan menyerupai deterjen, mereka menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan mengurangi permeabilitas membran. Kemampuan bakteri untuk bertahan hidup setelah kerusakan permeabilitas membran sel terganggu. Untuk merusak dan mengurangi stabilitas membran sel bakteri, saponin berikatan dengan membran sitoplasma setelah berdifusi melalui membran luar dinding sel yang melemah. Kematian sel diakibatkan oleh kebocoran sitoplasma dari sel akibat hal ini (Parwata, 2016).

Senyawa tanin menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase dalam mencegah perkembangan sel bakteri. Tanin memiliki kekuatan untuk menghambat pergerakan protein di lapisan dalam sel, serta enzim dan adhesi sel bakteri. Selain itu, tanin dapat merusak polipeptida yang membentuk dinding sel bakteri, menyebabkan terbentuknya dinding sel yang tidak lengkap. Hal ini menyebabkan sel bakteri pecah di bawah tekanan osmotik dan fisik, membunuh sel bakteri (Hridhya *and* Kulandhaivel, 2018).

Senyawa terpenoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu perkembangan membran sel dan merusak membran sel bakteri. Terpenoid berinteraksi dengan purin pada membran luar sel bakteri untuk menghasilkan ikatan polimer yang kuat yang menyebabkan pemecahan purin. Kerusakan purin mengurangi permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kekurangan nutrisi pada sel bakteri, yang memperlambat perkembangan bakteri dan bahkan dapat menyebabkan kematian bakteri (Guimarães *et al.*, 2019). Dengan mengganggu proses pembuatan membran atau dinding sel sedemikian rupa sehingga tidak sempurna, minyak atsiri berfungsi sebagai antibakteri (Rachmawaty *et al.*, 2016).

Data zona hambat yang dihasilkan kemudian dianalisis menggunakan aplikasi statistik SPSS 25. Analisis ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan dari masing-masing kelompok. Uji distribusi data dilakukan dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*. Pada uji normalitas menunjukkan bahwa semua data terdistribusi normal, dengan nilai signifikansi 0.200 ($p > 0.05$) (Tabel 4.14). Uji homogenitas *Levene test* digunakan untuk melanjutkan analisis data. Nilai signifikansi 0,005 ditemukan pada pengujian ini. Hal ini menunjukkan nilai $p < 0.05$ yang menunjukkan bahwa variansi data tiap kelompok berbeda. Akibatnya, pengujian tersebut tidak dapat dievaluasi dengan menggunakan uji analisis parametrik *One Way ANOVA* melainkan harus dievaluasi dengan menggunakan analisis non parametrik *Kruskal-Wallis*.

Uji statistik *Kruskal Wallis* pada penelitian ini menghasilkan nilai sebesar 0,009. Angka ini menunjukkan perbedaan yang besar antar perlakuan. Data dianalisis secara statistik sekali lagi dengan uji *Mann-Whitney* untuk melihat konsentrasi mana yang memiliki perbedaan bermakna karena hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan adanya perbedaan. Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* kelompok F0 menunjukkan nilai $p < 0.05$ terhadap kontrol positif dengan nilai 0.037 yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kontrol. F0 juga menunjukkan nilai $p < 0.05$ terhadap F1, F2 dan F3 dengan nilai p value sebesar 0.037 yang menunjukkan adanya perbedaan yang cukup besar antara diameter zona yang dihasilkan oleh kedua formulasi, sedangkan kontrol positif memiliki nilai p value ≤ 0.05 terhadap F1, F2 dan F3 dengan nilai p value 0.050. Hal ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat antara kedua formulasi berbeda secara signifikan. Berdasarkan hasil analisis, diameter zona hambat dapat bervariasi tergantung pada jumlah ekstrak etanol bunga kecombrang yang ada di setiap formulasi krim. Zona hambat F3 adalah yang terbesar dan *Propionibacterium acnes* lebih efektif dihambat oleh ekstrak etanol bunga kecombrang pada konsentrasi yang lebih tinggi (Anderiani, 2019).