

**FORMULASI SALEP EKSTRAK HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban) DENGAN BASIS
POLIETILENGLIKOL DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

NASKAH PUBLIKASI



Oleh :

**ANGGIT LUTHFIANA DEWI
K.100 090 070**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**FORMULASI SALEP EKSTRAK HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica* L. Urban) DENGAN BASIS
POLIETILENGLIKOL DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Oleh :

**ANGGIT LUTHFIANA DEWI
K.100 090 070**

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : Kamis
Tanggal : 20 Mei 2013

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,


Arifah Sri Wahyuni, M.Sc., Apt

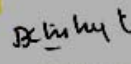
Penguji I


Suprpto, M.Sc., Apt

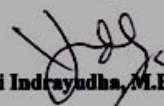
Pembimbing Utama


Dr. T.N.Saifullah S., M.Si., Apt

Penguji II


Ika Trisharyanti D.K., M.Farm., Apt

Pembimbing Pendamping


Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Mahasiswa


Anggit Luthfiana Dewi

**FORMULASI SALEP EKSTRAK HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban) DENGAN BASIS POLIETILENGLIKOL DAN
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**FORMULATION ETHANOL EXTRACT OF *Centella asiatica* (L.) Urban
WITH POLYETHYLENEGLYCOL BASE AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY
AGAINST *Staphylococcus aureus***

Anggit Luthfiana Dewi*, T.N. Saifullah Sulaiman, Peni Indrayudha***

*Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

** Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Ekstrak etanol herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi basis PEG 400 dan PEG 4000 terhadap sifat fisik salep ekstrak etanol herba pegagan dan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, serta mengetahui konsentrasi yang dapat menghasilkan formula optimum.

Penelitian ini dilakukan dengan model *simplex lattice design* menggunakan 5 rancangan formula yang terdiri dari kombinasi PEG 400 (A) : PEG 4000 (B) masing-masing 100%:0%, 75%:25%, 50%:50%, 25%:75%, dan 0%:100%. Evaluasi sediaan salep meliputi uji sifat fisik dan uji aktivitas antibakteri. Uji sifat fisik yang dilakukan meliputi organoleptis, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan pH. Pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dengan cara sumuran. Data yang diperoleh dari uji sifat fisik dan aktivitas antibakteri dianalisis dengan *Design Expert® 8.0.5 (Trial)* untuk mendapatkan formula optimum. Selain itu, besarnya daya hambat dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan uji t dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin banyak penambahan PEG 400 akan menurunkan viskositas dan daya lekat, serta meningkatkan daya sebar salep. Namun tidak berpengaruh secara statistik dalam memberikan aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*. Kombinasi PEG 400 dan PEG 4000 dapat membentuk formula optimum dengan perbandingan 100% PEG 400 dan 0% PEG 4000 dalam rancangan formula.

Kata kunci : pegagan, salep, PEG, optimum, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Ethanol extract of Centella asiatica (L.) Urban is one of the herbs that have antibacterial activity against Staphylococcus aureus. This study aimed to determine the effect of different concentrations of PEG 400 and PEG 4000 to the physical properties of ethanol extract of Centella asiatica ointments and antibacterial activity against Staphylococcus aureus, as well as knowing the optimum concentration.

The research was carried out by using the model of simplex lattice design with 5 design formula consisting of a combination of PEG 400 (A) : PEG 4000 (B), respectively 100%: 0%, 75%: 25%, 50%: 50%, 25%: 75%, and 0 %: 100%. Evaluation of test ointment preparation includes physical properties and antibacterial activity test. Test was conducted on the physical properties of organoleptic, viscosity, dispersive power, adhesion, and pH. Observations made with the antibacterial activity diffusion method by cup plate technique. Data obtained from testing the physical properties and antibacterial activity were analyzed by Design Expert® 8.0.5 (Trial) to obtain optimum formula. In addition, the magnitude of the inhibition was analyzed by ANOVA (Analysis of Variance) and followed by t-test with a level of 95%.

The results showed that the addition of PEG 400 will reduce the viscosity and adhesion, enhance the spread ointments. But not statistically significant in providing antibacterial activity against S. aureus. The combination of PEG 400 and PEG 4000 to form comparisons optimum formula with 100% PEG 400 and 0% PEG 4000 in the design formula.

Keywords : *Centella asiatica*, ointments, PEG, optimum, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Tanaman pegagan merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional terutama di kawasan Asia Tenggara dan China (Winarto & Surbakti, 2003). Herba pegagan biasa dimanfaatkan untuk revitalisasi tubuh, penambah daya ingat, dan telah dilaporkan berguna dalam berbagai penyakit kulit (Ullah *et al.*, 2009). *Centella asiatica* juga diklaim memiliki berbagai efek farmakologis yang digunakan untuk penyembuhan luka, gangguan mental, antioksidan, fungisida, antikanker, dan antibakteri (Dash *et al.*, 2011). Herba pegagan mengandung beberapa komponen senyawa antara lain senyawa triterpenoid yang terdiri dari *asiaticoside*, *madecossoide*, dan *asiatic acid*; glukosa, rhamnosa, glikosida; tanin; steroid; *madasiatic acid*; *brahnninaside*; dan *brachnic acid* (Jagtap *et al.*, 2009). Menurut Vadlapudi *et al.* (2012), ekstrak metanol dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 9 mm pada konsentrasi 100 mg/mL DMSO. Penelitian lain dilakukan oleh Jagtap *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba pegagan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dengan zona hambat sebesar 8 mm pada konsentrasi 125 µg/mL.

Seiring dengan bentuk sediaan lain, obat herbal atau agen antibakteri yang berasal dari tanaman juga diformulasikan dalam bentuk salep (Chhetri *et al.*, 2010). Salah satu basis salep adalah basis salep larut air, dimana dalam basis ini tidak mengandung bahan berlemak dan dapat dicuci dengan air. Contohnya adalah polietilen glikol (Ansel, 2005). Dasar salep ini terdiri dari PEG atau campuran PEG (Anief, 2006). Keuntungan dari basis ini adalah sifat PEG yang tidak merangsang, memiliki daya lekat dan distribusi yang baik pada kulit, dan tidak menghambat pertukaran gas dan produksi keringat (Voigt, 1984). Formula resmi basis polietilen glikol menurut USP memerlukan kombinasi 40% polietilen glikol 4000 (padat) dan 60% polietilen glikol 400 (cair) (Anief, 2000). Akan tetapi bila diperlukan salep yang lebih baik lagi, formula dapat diubah lagi untuk memungkinkan bagian yang sama antara kedua bahan (Ansel, 2005).

Optimasi digunakan untuk memperkirakan jawaban dari suatu fungsi variabel-variabel respon yang dihasilkan dari rancangan percobaan yang dilakukan sehingga menghasilkan formula optimum. *Simplex lattice design* merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk menentukan proporsi relatif bahan-bahan yang digunakan dalam suatu formula sehingga diharapkan akan dapat dihasilkan formula yang paling baik sesuai dengan kriteria yang ditentukan (Kurniawan & Sulaiman, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi basis PEG 400 dan PEG 4000 terhadap sifat fisik salep ekstrak etanol herba pegagan dan

aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, serta mengetahui konsentrasi PEG 400 dan PEG 4000 yang dapat menghasilkan salep ekstrak etanol herba pegagan (*Centella asiatica*) yang memiliki sifat fisik dan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang optimum.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat. *Rotary evaporator* (Reidolph), *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator bakteri (Mettler), *incubator shaker* (Mettler), mikroskop (Olympus), viskosimeter (VT-04E RION), *waterbath* (Mettler), alat-alat gelas (Pyrex), autoklaf (HL36AE), dan oven (Mettler).

Bahan. Simplisia herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban), bakteri *Staphylococcus aureus*, *Manitol Salt Agar* (Oxoid), polietilen glikol (PEG) 400, polietilen glikol (PEG) 4000, menthol, propilen glikol, metil paraben, propil paraben, etanol 96%, media *Mueller hinton* (Oxoid), dan media *Brain Heart Infusion* (Oxoid).

B. Jalannya Penelitian

1. Ekstraksi Herba Pegagan

Ekstraksi serbuk herba pegagan dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia serbuk sebanyak 950 gram ditambahkan ke dalam etanol 96% sebanyak 7,125 liter. Maserasi dilakukan selama tiga hari, dan dilakukan pengadukan tiap 24 jam. Setelah tiga hari, ekstrak disaring dengan corong buchner, dipekatkan dengan *rotary evaporator*, dan diuapkan di atas *waterbath* dengan suhu 60° C sehingga diperoleh ekstrak kental. Dilakukan remaserasi satu kali dengan cara yang sama untuk mendapatkan rendemen yang lebih banyak. Dilakukan pemeriksaan terhadap ekstrak etanol herba pegagan yang meliputi pemeriksaan organoleptis dan sifat fisik (pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas).

2. Pembuatan Salep Ekstrak Herba Pegagan

PEG 4000 dilelehkan di atas penangas air. Setelah cair, PEG 4000 dituang dalam mortir hangat dan ditambahkan PEG 400 sedikit demi sedikit. Basis salep ditambahkan dengan propilen glikol sedikit demi sedikit setelah campuran basis cukup dingin (suhu di bawah 50°C). Menthol, metil paraben, dan propil paraben yang masing-masing telah dilarutkan dengan etanol 96% juga ditambahkan dalam basis salep. Tambahkan ekstrak ke dalam campuran basis. Campuran tersebut diaduk sampai terbentuk massa salep yang halus dan homogen, salep dikemas dalam wadah yang tertutup rapat.

Tabel 1. Formulasi salep ekstrak herba pegagan dengan basis kombinasi PEG 400 dan PEG 4000

Bahan	Formula salep				
	F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak (g)	8	8	8	8	8
PEG 400 (g)	56	48	40	32	24
PEG 4000 (g)	24	32	40	48	56
Propilen glikol (g)	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5
Menthol (g)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Metil paraben (g)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Propil paraben (g)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Jumlah (g)	100	100	100	100	100

Keterangan :

F1 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 100% : 0%

F2 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 75% : 25%

F3 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 50% : 50%

F4 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 25% : 75%

F5 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 0% : 100%

3. Uji Sifat Fisik Salep

a. Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan konsistensi, bau, warna, dan homogenitas dari sediaan. Dilakukan pengamatan terhadap konsistensi dan warna salep secara visual, serta diidentifikasi bau dari masing-masing salep. Sedangkan homogenitas salep diperiksa dengan cara mengoleskan salep pada sekeping kaca, kemudian dilakukan pengamatan secara visual terhadap adanya bagian-bagian yang tidak tercampurkan dengan baik dalam salep.

b. Viskositas

Alat yang digunakan untuk uji viskositas adalah viskosimeter (VT-04E RION) dengan rotor yang sesuai (rotor nomor 2). Rotor ditempatkan di tengah-tengah bekkor glass yang berisi salep, kemudian alat dihidupkan agar rotor mulai berputar. Jarum menunjukkan viskositas secara otomatis akan bergerak ke kanan. Setelah stabil, kemudian dibaca viskositas pada skala yang ada pada viskotester tersebut.

c. Daya lekat

Salep ditimbang sebanyak 250 mg dan diletakkan di atas obyek glass pertama yang telah ditentukan luasnya. Obyek glass kedua diletakkan di atas obyek glass pertama yang telah diolesi salep, lalu ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Obyek glass kedua dipasang pada alat tes yang ujungnya dipasang beban 80 gram dan obyek glass pertama dipasang pada alat tes dengan penjepit kemudian dilepaskan bebannya sampai kedua obyek glass tersebut lepas. Waktu yang diperlukan hingga kedua obyek glass tersebut lepas dicatat. Diulangi masing-masing 3 kali untuk tiap salep yang diperiksa.

d. Daya sebar

Salep ditimbang sebanyak 500 mg kemudian diletakkan di tengah-tengah cawan petri yang berada dalam posisi terbalik. Diletakkan cawan petri yang lain di atas salep sebagai beban awal dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter salep yang menyebar diukur. Dilakukan penambahan beban sebesar 50,0 gram dan dicatat diameter salep yang menyebar setelah 1 menit sampai beban tambahan 300,0 gram. Diulangi masing-masing 3 kali untuk tiap salep yang diperiksa.

e. pH

Salep dioleskan pada pH stik universal kemudian dibandingkan hasilnya dengan standar warna yang terdapat pada kemasan. Dicatat pH salep.

4. Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Suspensi bakteri yang telah distandarkan hingga kekeruhan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL diambil sebanyak 200 μ L dengan mikro pipet dan disemprotkan pada media MH yang ada di cawan petri pertama, kemudian diratakan menggunakan *spreader glass*. Perlakuan yang sama dilakukan pada cawan petri yang kedua. Cawan 1 dibuat 3 sumuran pada media MH dengan diameter 6 mm. Cawan pertama merupakan kontrol, yaitu pada sumuran pertama diisi kontrol ekstrak, sumuran kedua diisi kontrol basis, dan sumuran ketiga diisi kontrol DMSO 20% (sebagai pelarut ekstrak). Cawan kedua dibuat 5 sumuran. Masing-masing sumuran berisi formula (formula 1,2,3,4, dan 5). Cawan petri tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, diamati dan diukur diameter zona hambatannya.

C. Analisis Data

Data hasil evaluasi sifat fisik dan daya hambat salep ekstrak herba pegagan terlebih dahulu dianalisis dengan menggunakan *Design Expert® 8.0.5 (Trial)* model optimasi *simplex lattice design* yang kemudian akan dihasilkan formula yang optimum. Pengukuran diameter zona hambat dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan uji t dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Ekstrak

Maserasi 950 gram serbuk kering herba pegagan menghasilkan ekstrak kental sebanyak 81,60 gram dengan rendemen sebesar 8,58% (b/b). Hasil pemeriksaan ekstrak etanol herba pegagan pada Tabel 2 menunjukkan ekstrak yang kental, lengket, pahit, berbau khas pegagan, dengan warna ekstrak hijau kehitaman. Hasil uji sifat fisik ekstrak (Tabel 2) menunjukkan ekstrak herba pegagan mempunyai viskositas yang sangat tinggi

yaitu 4000 dPa.s sehingga menyebabkan ekstrak sulit dituang. Hal ini dikarenakan kadar air dalam ekstrak herba pegagan sangatlah sedikit, yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2008). Uji daya lekat ekstrak menunjukkan waktu melekat ekstrak sangat lama. Diameter daya sebar salep juga cukup rendah sehingga semakin kecil pula luas penyebarannya. Ekstrak etanol herba pegagan bersifat asam dengan pH 5. Namun, nilai pH tersebut masih bisa dikategorikan dalam pH yang tidak menimbulkan iritasi kulit yaitu berkisar antara 4,5-6,5 (Gozali *et al.*, 2009). Meskipun masih tergolong aman, ekstrak herba pegagan dapat menimbulkan rasa ketidaknyamanan karena lengket dan cenderung sulit untuk berdifusi bila diaplikasikan langsung pada kulit karena viskositasnya yang tinggi, daya lekat yang lama, dan luas penyebaran ekstrak yang rendah.

Tabel 2. Pemeriksaan ekstrak etanol herba pegagan

Jenis Pemeriksaan		Hasil Pemeriksaan
Organoleptis	Bentuk	Pasta kental lengket
	Bau	Khas pegagan
	Rasa	Pahit
	Warna	Hijau kehitaman
Uji sifat fisik	Viskositas	4000 dPa.s
	Daya lekat	77,32 menit
	Daya sebar	25,7 mm
	pH	5

B. Pemeriksaan Sifat Fisik Salep

Pemeriksaan sifat fisik salep dilakukan untuk mengetahui kualitas salep yang baik sesuai persyaratan yang dikehendaki (Tabel 3). Pemeriksaan organoleptis salep dilakukan dengan mengamati konsistensi, warna, bau, dan homogenitas salep (Tabel 4).

Tabel 3. Hasil pemeriksaan sifat fisik salep ekstrak herba pegagan

Pemeriksaan	F1	F2	F3	F4	F5
Viskositas (dPa.s)	200	650	900	1100	2000
Daya Lekat (detik)	2,37±0,73	5,80±1,09	6,59±0,67	6,88±0,52	15,79±2,64
Daya Sebar (mm)	43,50±0,88	34,75±2,03	33,06±0,62	31,81±1,04	30,75±0,85
pH	6	6	6	6	6

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptis salep ekstrak herba pegagan

Uji Sifat Fisik	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
Konsistensi	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
Warna	Hijau tua	Hijau tua	Hijau tua	Hijau Tua	Hijau Tua
Bau	Khas menthol	Khas menthol	Khas menthol	Khas menthol	Khas menthol
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Data hasil evaluasi sifat fisik tersebut dan besarnya daya hambat salep ekstrak herba pegagan kemudian dianalisis dengan menggunakan *Design Expert*[®] 8.0.5 (*Trial*) model *Simplex Lattice Design* untuk mendapatkan formula yang optimum.

Tabel 5. Persamaan optimasi sifat fisik dan daya hambat campuran PEG 400 dan PEG 4000 pada salep ekstrak etanol herba pegagan berdasarkan *simplex lattice design*

Pemeriksaan	Persamaan
Viskositas	$Y = 281,43A + 1901,43B - 971,43AB$
Daya Lekat	$Y = 3,40A + 14,56B - 11,95AB$
Daya Sebar	$Y = 42,72A + 31,35B - 18,08AB$
pH	$Y = 6,00A + 6,00B$
Daya Hambat	$Y = 13,57A + 11,38B - 2,00AB$

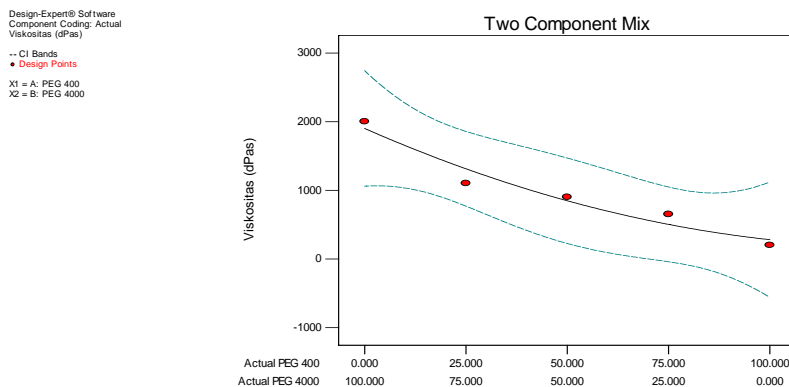
Keterangan :

- Y = respon
- A = fraksi komponen PEG 400
- B = fraksi komponen PEG 4000
- AB = interaksi antara kedua fraksi

1. Viskositas

Pengujian viskositas berfungsi untuk mengetahui viskositas (kekentalan) salep. Viskositas merupakan parameter yang menggambarkan tentang besarnya tahanan suatu cairan untuk mengalir. Semakin besar tahanannya, maka viskositas juga akan semakin besar (Sinko, 2006).

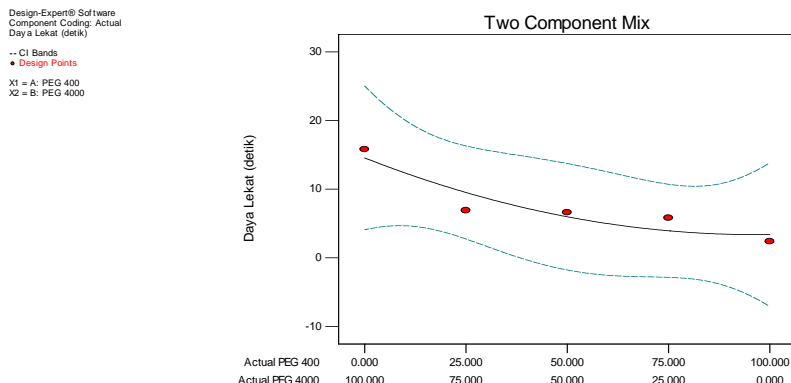
Persamaan viskositas pada Tabel 5 menunjukkan bahwa PEG 4000 memberikan pengaruh yang lebih besar dalam meningkatkan viskositas salep dibandingkan dengan komponen PEG 400. Kombinasi antara keduanya dapat menurunkan viskositas salep. Semakin banyak komposisi PEG 400 yang digunakan maka akan semakin kecil viskositasnya (Gambar 3). Perbedaan viskositas dipengaruhi oleh besarnya kombinasi jumlah PEG 400 dan PEG 4000 yang berbeda. Hal ini dikarenakan wujud zat yang berbeda di antara keduanya. PEG 400 merupakan cairan kental jernih dan tidak berwarna. Sedangkan PEG 4000 berupa serbuk licin putih (Rowe *et al.*, 2009). Semakin banyak proporsi cairan dalam formula, maka salep akan mempunyai tingkat kekentalan/viskositas yang lebih rendah dibandingkan salep dengan proporsi padatan yang lebih banyak.



Gambar 1. Grafik untuk hubungan antara PEG 400 dan PEG 4000 terhadap viskositas

2. Daya Lekat

Daya lekat menunjukkan waktu yang dibutuhkan oleh salep untuk melekat di kulit (Astuti *et al.*, 2010). Daya melekat semakin besar maka waktu kontak salep dengan kulit semakin lama sehingga absorpsi obat melalui kulit semakin besar. Persamaan daya lekat yang diperoleh berdasarkan *simplex lattice design* menunjukkan bahwa PEG 4000 memberikan pengaruh yang lebih besar daripada PEG 400 dalam meningkatkan daya lekat salep. Kombinasi antara PEG 400 dan PEG 4000 dapat menurunkan (mempercepat) daya lekat salep.



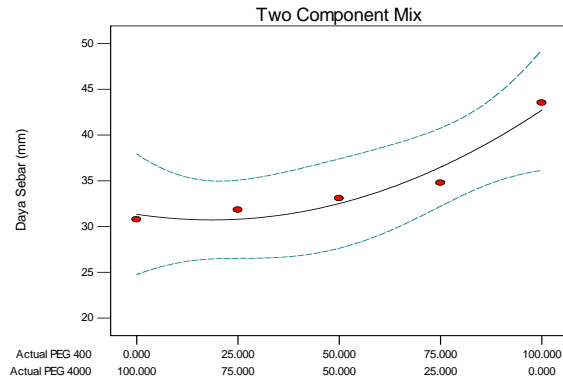
Gambar 2. Grafik hubungan antara PEG 400 dan PEG 4000 terhadap daya lekat

Semakin besar konsentrasi PEG 400 yang digunakan akan menurunkan daya lekat salep sehingga waktu yang dibutuhkan salep untuk melekat akan semakin kecil (Gambar 2). Daya lekat dipengaruhi oleh viskositas. Hubungan daya lekat dan viskositas adalah berbanding lurus. Semakin kecil viskositas maka daya lekat salep akan semakin kecil. Viskositas yang kecil cenderung mempunyai konsistensi yang lebih cair sehingga kemampuannya untuk melekat akan lebih kecil.

3. Daya sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk melihat salep dapat menyebar dengan baik atau tidak dan mengetahui kelunakan massa salep sehingga dapat dilihat kemudahan pengolesan sediaan ke kulit (Chhetri *et al.*, 2010). Persamaan daya sebar pada Tabel 5 menunjukkan bahwa PEG 400 mempunyai koefisien yang paling besar sehingga komponen PEG 400 lebih berpengaruh besar dalam meningkatkan daya sebar dibandingkan dengan komponen PEG 4000. Kombinasi antara PEG 400 dan PEG 4000 dapat menurunkan daya sebar.

Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Daya Sebar (mm)
 -- CI Bands
 • Design Points
 X1 = A: PEG 400
 X2 = B: PEG 4000



Gambar 3. Grafik hubungan antara PEG 400 dan PEG 4000 terhadap daya sebar

Semakin tinggi jumlah PEG 400 pada formula, maka semakin besar diameter penyebaran salep sehingga semakin luas pula penyebaran salep (Gambar 3). Kenaikan daya sebar salep disebabkan oleh turunnya viskositas salep sehingga salep menjadi lebih lunak dan lebih mudah menyebar.

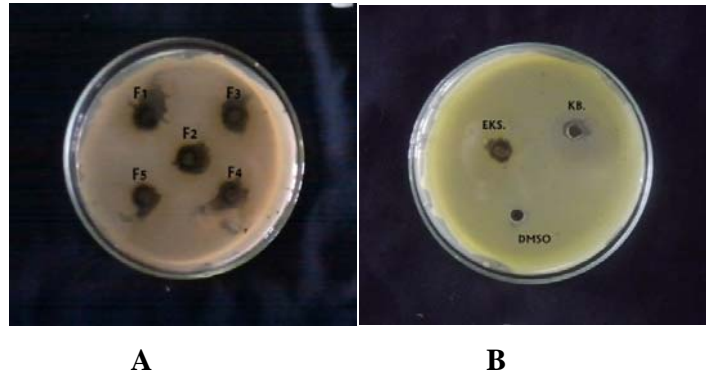
4. pH

Pengukuran pH dalam penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui sifat dari salep dalam mengiritasi kulit. Kulit normal berkisar antara pH 4,5-6,5. Nilai pH yang melampaui 7 dikhawatirkan dapat menyebabkan iritasi kulit (Gozali *et al.*, 2009). Pada pemeriksaan salep ekstrak pegagan didapatkan pH sebesar 6 pada kelima formula. Hal itu menunjukkan bahwa salep ekstrak herba pegagan tidak menyebabkan iritasi jika diaplikasikan pada kulit.

Profil pH berdasarkan *simplex lattice design* menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara PEG 400 dan PEG 4000. Hal ini disebabkan karena penggunaan pH stik universal pada pengukuran sehingga nilai pH yang ditunjukkan tidak dapat menggambarkan nilai pH yang sebenarnya secara lebih teliti.

C. Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil dari uji antibakteri yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak herba pegagan, basis salep, dan salep ekstrak etanol herba pegagan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang terbentuk di sekeliling sumuran (Gambar 4).

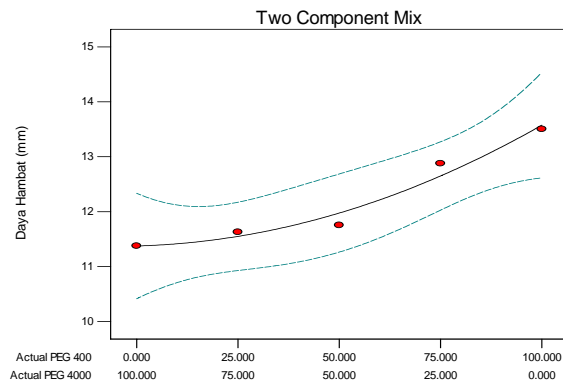


Gambar 4. Hasil uji aktivitas antibakteri formula salep ekstrak pegagan (A) dan kontrol (B) dengan metode sumuran

Keterangan :

- F1 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 100% : 0%
- F2 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 75% : 25%
- F3 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 50% : 50%
- F5 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 0% : 100%
- F4 : kombinasi PEG 400 : PEG 4000 = 25% : 75%
- EKS. : Ekstrak herba pegagan dengan konsentrasi 8%
- KB. : Kontrol basis
- DMSO : Kontrol pelarut ekstrak (DMSO)

Design-Expert® Software
Component Coding: Actual
Daya Hambat (mm)
-- CI Bands
• Design Points
X1 = A: PEG 400
X2 = B: PEG 4000



Gambar 4. Grafik hubungan antara PEG 400 dan PEG 4000 terhadap daya hambat

Semakin tinggi konsentrasi PEG 400, maka semakin besar diameter daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Gambar 4). Perbedaan besar aktivitas antibakteri dari kelima formula tersebut dipengaruhi oleh perbedaan viskositas dari masing-masing formula. Semakin meningkat viskositas salep dapat menurunkan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol herba pegagan. Berdasarkan hukum Stokes-Einstein, viskositas berbanding terbalik dengan laju difusi (Buchari *et al.*, 2003). Semakin besar viskositas, maka laju difusi akan semakin kecil sehingga kecepatan pelepasan zat aktif dari basis akan semakin lambat.

Tabel 6. Hasil pengukuran diameter zona hambat terhadap *S.aureus*

Agen Antibakteri yang Diuji	Diameter Zona Hambat (mm)
F1	13,50 ± 1,41
F2	12,87 ± 1,65
F3	11,75 ± 1,32
F4	11,62 ± 1,44
F5	11,37 ± 0,48
Ekstrak 8%	10,62 ± 1,55
Kontrol Basis	9,62 ± 1,93
Kontrol DMSO	6,00 ± 0,00

Persamaan daya hambat pada Tabel 5 menunjukkan bahwa PEG 400 mempunyai koefisien yang paling besar sehingga komponen PEG 400 lebih berpengaruh besar dalam meningkatkan daya hambat dibandingkan dengan komponen PEG 4000. Sedangkan kombinasinya dapat menurunkan daya hambat terhadap bakteri *S.aureus*. Ekstrak etanol herba pegagan digunakan sebagai kontrol positif yang memiliki daya hambat sebesar 10,62±1,55 mm. Aktivitas antibakteri dari ekstrak herba pegagan disebabkan karena adanya senyawa golongan triterpenoid terutama asiaticosida, asam asiatik, dan asam madekasat (Arumugam *et al.*, 2011). Menurut Mamtha *et al.* (2004) senyawa triterpenoid merupakan antibakteri alami yang dapat merusak dinding sel bakteri. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Analisis data antibakteri dengan ANOVA satu jalan menunjukkan signifikansi sebesar 0,022 ($p < 0,05$). Artinya, paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai varians data yang berbeda bermakna. Analisis kemudian dilanjutkan dengan LSD (*post hoc*) dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui kelompok-kelompok data yang mempunyai varians data berbeda bermakna. Data signifikansi yang diperoleh analisis tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) untuk formula 1 dan formula 2 jika dibandingkan dengan ekstrak dan kontrol basis. Sedangkan antara formula satu dengan formula yang lain diperoleh nilai signifikansi yang lebih besar daripada 0,05 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelima formula dalam hal memberikan aktivitas antibakteri. Viskositas yang berbeda antar formula menghasilkan rata-rata zona hambat yang berbeda, namun tidak berbeda signifikan secara statistik.

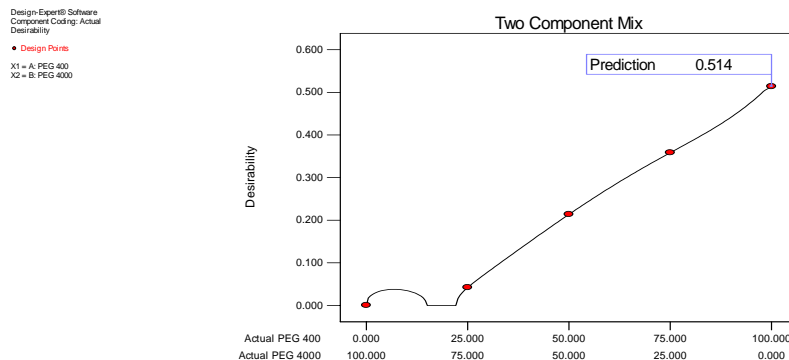
D. Penentuan Formula Optimum

Optimasi ini menggunakan metode *simplex lattice design* pada salep ekstrak herba pegagan dengan basis PEG 400 dan PEG 4000 dengan parameter viskositas, daya lekat, daya sebar, dan daya hambat. Nilai pH tidak dimasukkan dalam penentuan formula optimum karena besarnya nilai pH tidak menunjukkan adanya interaksi antara PEG 400 dan PEG 4000. Nilai pembobotan hasil uji salep sesuai dengan besarnya pengaruh dari masing-masing respon (Tabel 8). Bobot tiap parameter diberikan berdasarkan sifat yang paling menentukan dalam formulasi salep. Viskositas dan daya lekat diberikan bobot yang lebih kecil dibandingkan dengan daya sebar dan daya hambat karena luas penyebaran salep dan daya hambat yang besar lebih menentukan keberhasilan dalam suatu formula yang ditujukan sebagai agen antibakteri. Formula dengan respon tertinggi dipilih sebagai formula optimum.

Tabel 7. Pembobotan uji sifat fisik salep ekstrak herba pegagan

Uji	Bobot	Target
Viskositas	++	<i>in range</i> (200-2000 dPa.s)
Daya Lekat	++	Maksimal
Daya Sebar	+++	Maksimal
Daya Hambat	+++	Maksimal

Formula dengan respon tertinggi dipilih sebagai formula optimum. Hasil analisis dengan program *Design Expert*® 8.0.5 (*Trial*) diperoleh formula optimum salep dengan perbandingan komposisi 100% PEG 400 dan 0% PEG 4000 yang menunjukkan nilai yang optimal dari parameter sifat fisik dan besarnya daya hambat dengan nilai *desirability* yang ditunjukkan sebesar 0,514 dengan viskositas sebesar 281,428 dPa.s, daya lekat 3,411 detik, daya sebar 42,722 mm, dan daya hambat 13,575 mm (Gambar 5). Dalam hal ini, komposisi yang dimaksudkan adalah 56 gram PEG 400 dan 24 gram PEG 4000 seperti yang tercantum dalam formula.



Gambar 5. Grafik hubungan formula optimum salep ekstrak herba pegagan antara PEG 400 dan PEG 4000 dengan pendekatan *Simplex Lattice Design*

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kombinasi PEG 400 dan PEG 4000 berpengaruh terhadap sifat fisik salep ekstrak etanol herba pegagan, yaitu semakin banyak penambahan PEG 400 akan menurunkan viskositas dan daya lekat, serta meningkatkan daya sebar salep. Namun tidak berpengaruh secara statistik dalam memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Kombinasi PEG 400 dan PEG 4000 dapat membentuk formula optimum dengan perbandingan 100% : 0% atau formula dengan 56 gram PEG 400 dan 24 gram PEG 4000 dalam rancangan formula.

B. Saran

Perlu dilakukan uji stabilitas salep ekstrak etanol herba pegagan untuk mengetahui kestabilan fisik salep selama penyimpanan.

DAFTAR ACUAN

- Agoes, G. & Darijanto, S.T., 1993, *Teknologi Farmasi Likuida Dan Semi Solida*. 112, Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB, Bandung.
- Anief, M., 2006, *Ilmu Meracik Obat*, 53, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ansel, H.C., 2005, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Ibrahim, F., Edisi IV, 505-510, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Arumugam, T., Ayyanar, M., Pillai, Y., & Sekar, T., 2011, Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Leaf and Callus Extracts of *Centella asiatica*, *Bangladesh J. Pharmacol*, 6, 55-60.
- Astuti, I.Y., Hartanti, D., & Aminiati, A., 2010, Peningkatan Aktivitas Antijamur *Candida albicans* Salep Minyak Atsiri Daun Sirih (*Piper bettle* Linn.) Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi dengan β -Siklodekstrin, *Majalah Obat Tradisional*, 15(3), 94-99.
- Aulton, M.E., 2003, *Pharmaceutics The Science of Dosage Form Design*, Second Edition, 408, ELBS, Fouded by British Government.
- Buchari, Testiati, & Sulaeman, A., 2003, Pengaruh Pelarut dan Temperatur terhadap Tranport Europium (III) melalui Membran Cair Berpendukung, *Jurnal Matematika dan Sains*, 8 (4), 151-156.
- Chhetri, H.P., Yogol, N.S., Scherchan, J., Anupa, K.C., Mansoor, S., & Thapa, P., 2010, Formulation And Evaluation Of Antimicrobial Herbal Ointment, *Journal Of Science, Engineering And Technology*, 6 (1), 102-107.
- Cowan, M., 1999, Plant Product as Antimicrobial Agent, *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582.

- Dash, B.K., Faruquee, H.M., Biswas, S.K., Alam, M.K., Sisir, S.M., & Prodhan, U.K., 2011, Antibacterial and Antifungal Activities of Several Extracts of *Centella asiatica* L. Against Some Human Pathogenic Microbes, *Life Science and Medicine Research*, Volume 2011 : LSMR-35.
- Depkes RI, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi I, 113, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Fatmawaty, A., Tjendra, A., Riski, R., & Nisa, M., 2012, Formulasi , Evaluasi Fisik Dan Permeasi Krim Pemutih Asam Kojat Dengan Variasi Enhancer, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 16 (3), 139 – 142.
- Gozali, D., Abdassah M., Subghan, A., & Lathiefah S.A., 2009, Formulasi Krim Pelembab Wajah Yang Mengandung Tabir Surya Nanopartikel Zink Oksida Salut Silikon, *Farmaka*, 7 (1), 37-47.
- Jagtap, N.S., Khadabadi, S.S, Ghorpade, D.S., Banarase, N.B., & Naphade, S.S, 2009, Antimicrobial and Antifungal Activity of *Centella asiatica* (L.) Urban, Umbeliferae, *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 2 (2), 328-330.
- Kurniawan, D.W. & Sulaiman, T.N.S., 2009, *Teknologi Sediaan Farmasi*, 92-93, 97, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Mamtha, B., Kavitha, K., Srinivasan, K. K., & Shivananda, P.G. 2004. An in Vitro Study of The Effect of *Centella Asiatica* [Indian Pennywort] on Enteric Pathogens. *Indian Journal Pharmacol.* 36: 41-4.
- Padmadisastra, Y., Syaugi, A., & Anggia, S., 2007, Formulasi Sediaan Salep Antikeloidal yang Mengandung Ekstrak Terfasilitasi Panas Microwave dari Herba Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban, *Seminar Kebudayaan Indonesia Malaysia Kualalumpur*, 28–31 Mei 2007.
- Rowe, R C., E Queen,M., & Paul J., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients sixth edition*, Pharmacheutical Press, London.
- Ullah, M.O., Sultana, S., Haque, A., & Tasmin, S., 2009, Antimicrobial, Cytotoxic, and Antioxidant Activity of *Centella asiatica*, *European Journal of Scientific Research*, 30 (2), 260-264.
- Vadlapudi, V., Behara, M., Kaladar, D.S.V.G., Kumar, S.V.N.S., Seshagiri, B., & Paul, M.J., 2012, Antimicrobial Profile of Crude Extracts *Calotropis procera* and *Centella asiatica* against Some Important Pathogens, *Indian Journal of Science and Technology*, 5 (8), 3132-3136.
- Voigt, R., 1984, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soedani, N., Edisi V, 312, 338, 381, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
- Winarto, W.P. & Surbakti, M., 2003, *Khasiat dan Manfaat Pegagan : Tanaman Penambah Daya Ingat*, 1, Agromedia Pustaka, Jakarta.