

**FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN KRIM
EKSTRAK ETANOL DAUN PALA (*Myristica fragrans* Houtt) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Endah Kartikawati, Kusdi Hartono, Dimas Muchamad Iqbal

Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Al-Ghifari Bandung

ABSTRAK

Krim memiliki nilai estetika dan kenyamanan yang cukup tinggi. Krim yang mengandung bahan alam kini lebih diminati karena adanya tren *back to nature*, salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif antibakteri adalah daun pala (*Myristica fragrans* Houtt). Daun pala mengandung tanin, saponin, alkaloid, steroid/terpenoid, dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari krim ekstrak etanol daun pala terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Jenis penelitian adalah pengujian formulasi yang dibedakan pada bahan baku basis krimnya. Kontrol positif adalah krim sagestem dan kontrol negatif yaitu basis krim. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan cara sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim memenuhi persyaratan homogenitas, organoleptis, pH (4,5–6,5), daya sebar (5–7 cm), viskositas (2.000 - 50.000 cp), uji iritasi dan uji aktivitas antibakteri krim ekstrak etanol daun pala dengan konsentrasi 10% memiliki rata-rata diameter zona hambat formula 1 yaitu 15 mm, formula 2 yaitu 13,3 mm dan formula 3 yaitu 14,7 mm.

Kata kunci : Daun pala, antibakteri, formulasi krim, *Staphylococcus aureus*, difusi agar

ABSTRACT

*The cream has a fairly high aesthetic and comfort value. Creams containing natural ingredients are now more desirable because of the trend back to nature, one of the plants that can be used as an antibacterial alternative is nutmeg leaf (*Myristica fragrans* Houtt). Nutmeg leaves contain tannins, saponins, alkaloids, steroids/terpenoids, and flavonoids.*

*This study aims to determine the antibacterial activity of nutmeg leaf ethanol extract cream against *Staphylococcus aureus* bacteria. This type of research is a formulation test that is distinguished by its cream base raw material. Positive control is sagestem cream and negative control is cream base. Antibacterial test was carried out by agar diffusion method by means of wells.*

The results showed that the cream met the requirements of homogeneity, organoleptic, pH (4.5–6.5), dispersion (5–7 cm), viscosity (2,000 - 50,000 cp), irritation test and antibacterial activity test of nutmeg leaf ethanol extract cream. with a concentration of 10%, the average diameter of the inhibition zone of formula 1st is 15 mm, formula 2nd is 13.3 mm and formula 3rd is 14.7 mm.

Keywords: *Nutmeg leaf, antibacterial, cream formulation, Staphylococcus aureus, agar diffusion*

PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri flora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. *Staphylococcus* dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun hewan. Bakteri *S. aureus* dapat mengakibatkan infeksi kerusakan pada kulit atau luka pada organ tubuh jika bakteri ini mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh. Saat bakteri masuk ke peredaran darah bakteri dapat menyebar ke organ lain dan menyebabkan infeksi. Hampir setiap organ akan mengalami beberapa tipe infeksi dari *S. aureus*, infeksi tersebut bervariasi mulai dari keracunan, infeksi kulit ringan seperti jerawat dan bisul, sampai infeksi berat seperti meningitis, osteomyelitis, pneumonia dan mastitis. (Bota, 2015)

Seiring meningkatnya keinginan masyarakat untuk menggunakan bahan alam, maka dikembangkanlah sediaan dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan adalah daun pala. Daun pala merupakan salah satu bagian tanaman yang belum banyak dimanfaatkan. (Yamami, 2016). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh saudari Nurjannati, 2018 terhadap skrining fitokimia bahwa daun pala mengandung senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid/triterpenoid, ekstrak etanol daun pala memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Dan pada konsentrasi 10% ekstrak etanol daun pala dengan pelarut etanol 96%

memiliki aktivitas antibakteri sebesar 12,3 mm (kategori kuat).

Krim merupakan suatu sediaan semisolid berisi satu atau lebih bahan obat yang terlarut atau terdispersi dalam fase air dalam bentuk emulsi minyak (A/M) atau minyak dalam air (M/A) atau tipe lain dengan basis yang dapat dicuci dengan air. Sediaan krim umumnya digunakan secara topikal pada kulit dan digunakan pula pada membran mukosa, seperti pada rekal. Krim (M/A) lebih dipilih karena lebih mudah dioleskan dan lebih mudah untuk dibilas daripada tipe air dalam minyak (A/M). (Ansel, 2005).

Berdasarkan uraian diatas peneliti ingin mengembangkan lebih lanjut mengenai potensi ekstrak etanol daun pala sebagai sediaan krim terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dengan tahap awal pembuatan serbuk simplisia, selanjutnya dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak etanol yang kemudian di formulasikan dalam bentuk sediaan krim yang akan diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode agar dengan cara sumuran, selain itu di lakukan evaluasi sifat fisik formula sediaan krim yang telah dibuat meliputi uji organoleptis (mengamati warna, bau, dan tekstur), uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji viskositas dan uji iritasi sediaan krim.

Identifikasi Masalah

1. Bagaimana formulasi dan evaluasi krim ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dengan variasi basis krim?

2. Apakah krim ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

Tujuan Penelitian

1. Mengetahui formulasi dan evaluasi krim ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dengan variasi basis krim.
2. Mengetahui krim ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Mengetahui nilai zona hambat dari masing-masing formula krim ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang efek antibakteri dari krim ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang diformulasikan dalam sediaan krim dengan variasi basis krim.
2. Sebagai salah satu alternatif sediaan krim herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri.
3. Menjadi referensi untuk bahan penelitian selanjutnya.

Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai dengan Juli 2021 di Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium Mikrobiologi jurusan farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Al-Ghifari, Bandung.

Metodelogi Penelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas saring, oven, timbangan analitik, mortir dan stamper, alat-alat gelas, cawan porselin, batang pengaduk, pH meter, waterbath, bejana maserasi, blender, botol semprot, pembakar bunsen, pinset, *hot plate* mikropipet, *rotary evaporator*, ayakan, Spekrinkubator, dan wadah krim.

Bahan

Daun pala, krim sagestem, aquadest, etanol 70%, asam stearat, cera alba, cera flava, vaselin alba, vaselin flava, TEA, PPG, nipagin, larutan BaCl 1%, larutan H₂SO₄ 1%, larutan NaCl Fisiologis 0.9%, media MHA, bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengumpulan Bahan Tanaman

Tanaman yang diambil untuk penelitian ini adalah daun pala yang didapatkan dari Taman Herbal Teknologi Lansida Yogyakarta dan telah dilakukan identifikasi.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Taman Herbal Teknologi Lansida Yogyakarta.

Kadar Air

Digunakan alat *moisture balance*, yaitu dimasukkan 2g serbuk simplisia dalam panggan berlapis alumunium foil yang telah ditara dengan memposisikan jarum di tengah skala terlebih dahulu kemudian diukur kadar air pada suhu 105°C hingga jarum pada alat tidak berubah atau konstan, kemudian jarum pada alat diputar

hingga jarum berada di posisi tengah kembali, maka akan didapat persen kadar air (Elfiyani dkk, 2014).

Penapisan Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloida

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml akuades, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipakai untuk uji alkaloida sebagai berikut :

- 1) Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes larutan pereaksi Meyer akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning.
- 2) Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes larutan pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman.
- 3) Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes larutan pereaksi Dragendorff, akan terbentuk endapan merah atau jingga. Alkaloida positif jika terjadi endapan atau kekeruhan paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas (Depkes, 1989).

Pemeriksaan Flavonoida

Sebanyak 10 g serbuk simplisia ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, kedalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoida positif jika terjadi warna merah atau

kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Farnsworth, 1966).

Pemeriksaan tanin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia disari dengan 10 ml akuades lalu disaring, filtratnya diencerkan dengan akuades sampai tidak berwarna. Larutan diambil 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1 %, jika terjadi warna biru atau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes RI, 1989).

Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kemudia dikocok kuat-kuat selama 10 detik, jika terbentuk buih yang mantap setinggi 1 sampai 10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1989).

Pemeriksaan

Steroida/triterpenoida

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dimaserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam, disaring, filtrat diuapkan dalam cawan penguap dan pada sisanya ditambahkan 20 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi LiebermannBurchard). Apabila terbentuk warna ungu atau merah yang berubah menjadi biru hijau menunjukkan adanya steroida/triterpenoida (Harborne, 1987).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pala

Sebanyak 300 g serbuk simplisia daun pala dimaserasi dengan pelarut

etanol 96% dengan perbandingan 1:10 sebanyak 3000ml, ditutup dan dibiarkan selama 3 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring sehingga didapat maserat. Ampas dimaserasi kembali dengan etanol 96% secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan kedalam wadah tertutup, dibiarkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari. Disaring lalu seluruh maserat digabung dan dipekatkan dengan bantuan alat *rotary evaporator* kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Pala

Formula dasar sediaan krim didapat dari buku Ilmu Meracik Obat (Anief, 1997).

Tabel 1 Formulasi Basis Krim

Asam Stearat	15%
Cera Alba	2%
Vaselin Alba	8%
TEA	1.5%
PPG	8%
Aqua dest	ad 100%

Formula diberi sedikit modifikasi.

Tabel 2 Modifikasi Formulasi Basis Krim

Bahan	F0	F1	F2	F3
Ekstrak Etanol Daun Pala	-	10%	10%	10%
Asam Stearat	15%	15%	15%	15%
Cera Alba	2%	2%	-	2%
Cera Flava	-	-	2%	-
Vaselin Alba	8%	8%	8%	-
Vaselin Flava	-	-	-	8%
TEA	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%
PPG	8%	8%	8%	8%
Nipagin	-	0.2%	0.2%	0.2%
Aqua dest	ad 100%	ad 100%	ad 100%	ad 100%

Keterangan :

- FI : Formula I
 FII : Formula II
 FIII : Formula III
 F0 : Formula hanya basis krim

Pembuatan Krim Ekstrak Etanol Daun Pala Tipe M/A

Cera, asam stearat dan vaselin dilelehkan diatas penangas air pada suhu 70°C. Methilparaben, Trietanolamin (TEA) dan propilenglikol dilarutkan dalam air hangat suhu 70°C. Campuran TEA dan propilenglikol tersebut kemudian dimasukkan kedalam lelehan cera, asam stearat dan vaselin lalu aduk sampai homogen dalam mortir hangat. Setelah krim dingin tambahkan ekstrak etanol daun pala kemudian homogenkan kembali sampai terbentuk masa krim yang baik. Krim dimasukkan dalam wadah dan ditutup rapat.

Evaluasi Hasil Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Pala

Uji Organoleptis

Pemeriksaan uji organoleptis meliputi bau, warna, dan tekstur (Dirjen POM, 1979).

Pengukuran pH

Uji pH bertujuan untuk mengetahui keamanan sediaan krim saat digunakan sehingga tidak mengiritasi kulit. Ditimbang sebanyak 1 gram krim dan diencerkan dengan 10 ml aquadest, lalu diukur menggunakan pH meter. pH sediaan krim yang baik sesuai dengan pH kulit yaitu 4.5 – 6.5 (Tranggono dan Latifa, 2007).

Uji Homogenitas

Sebanyak 1 gram krim dioleskan pada sekeping kaca transparan. Kemudian diamati, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Ida dan Noer, 2012).

Uji Daya Sebar

Timbang 0,5 gram krim, lalu letakkan ditengah cawan petri dengan posisi terbalik, didiamkan selama 1 menit dan diberi beban 50 gram sampai 250 gram setiap 1 menit. Standar daya sebar krim yaitu 5 cm – 7 cm (Ulaen et al, 2012).

Uji Viskositas

Pengukuran viskositas sediaan krim menggunakan viscometer brookfield dengan kecepatan rotasi 60 rpm dan menggunakan spindle no. 4. (Lusi dan Ira, 2016).

Uji Iritasi Kulit

Sebanyak 0.1 gram krim ditimbang, dioleskan pada kulit lengan bagian dalam dengan ukuran 2x2 cm, kemudian ditutupi dengan kain kasa dan plester. Setelah itu dilihat gejala yang ditimbulkan setelah 24 jam pemakaian. Uji iritasi ini dilakukan untuk masing-masing formula pada 6 orang panelis (Depkes RI, 1982).

Pengujian Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Etanol Daun Pala

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan Bahan yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu sebelum dipakai. Media pertumbuhan dan alat-alat disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara dibakar dengan nyala api bunsen.

Pembuatan Media MHA (*Mueller Hinton Agar*)

Komposisi:

Beef Extract 2,0 g

Acid Hydrolysate of Casein 17,5 g

Starch
1.5 g

Agar
17,0 g

Aquadest ad 1 L

Cara pembuatan:

Sebanyak 3.8 gram serbuk MHA dilarutkan dalam air suling steril sedikit demi sedikit hingga 100 ml, panaskan dengan *magnetic stirrer* sampai mendidih supaya larut. Kemudian sterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tunggu suhu sampai hangat-hangat kuku (45°C-55°C).

Pembuatan Larutan Standar Turbidity McFarland 0.5

Pembuatan larutan standar *turbidity* Mcfarland menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1% dengan cara pipet larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL lalu masukan ke dalam tabung reaksi kemudian pipet juga larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL masukan ke dalam tabung yang sama, lalu kocok hingga tercampur sempurna (Rosmania dkk., 2020).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diremajakan, disuspensikan ke dalam 10 mL larutan NaCl fisiologis 0,9% lalu dibandingkan absorbansinya dengan kekeruhan standar McFarland menggunakan spektrofotometer uv dengan panjang gelombang 625 nm untuk memperoleh suspensi inokulum yang

sesuai standar, yaitu 10⁸ cfu/mL (Asifa, 2014).

Pembuatan Larutan Uji

Timbang formula I, II, III, K+, K- masing-masing sebanyak 5g, setiap sampel dipanaskan diatas waterbath pada suhu 60°C - 70°C sampai sediaan krim terbagi 2 yaitu fase minyak dan air. Fase minyak dibuang, dan fase air dijadikan sebagai larutan uji.

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi *Kirby-Bauer* dengan metode tuang (*Pour Plate Method*) dan menggunakan teknik sumuran. Sebanyak 1 mL suspensi bakteri dimasukan kedalam cawan petri dan sebanyak 20 mL media Muller Hinton Agar dituangkan ke masing-masing cawan petri, selanjutnya digoyang diatas permukaan meja agar media agar dan suspensi bakteri tercampur rata dan biarkan media memadat.

Pada media yang telah memadat dibuat sumuran dengan menggunakan alat sumuran yaitu perforator dengan diameter 6 mm. Sumuran kemudian diisi dengan konsentrasi larutan uji, kontrol positif yaitu krim sagestam, dan kontrol negatif yaitu basis krim. Media kemudian di tutup rapat lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam (Retnaningsih dkk, 2019).

Parameter Pengamatan

Setelah diinkubasi selama 24 jam zona hambat diamati dengan cara mengukur daerah bening (diameter zona hambat) menggunakan jangka sorong dengan satuan mm (Afifi, 2017).

Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas sediaan krim ekstrak etanol daun pala terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dianalisis secara statistik menggunakan metode *One way anova* dengan *software* SPSS 2.0 dan uji lanjutan Duncan (Rastini dkk., 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengumpulan Bahan Tanaman

Sampel yang digunakan adalah daun pala yang berasal dari Taman Herbal Teknologi Lansida Yogyakarta.

Hasil Pengolahan Tanaman

Sebanyak 3 kg daun pala segar dikeringkan selama 1 minggu hingga mendapatkan 300 g daun pala kering.

Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman, dilakukan dengan cara membandingkan dengan herbarium dan data pustaka. Determinasi dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Taman Herbal Teknologi Lansida Yogyakarta. Berdasarkan surat hasil determinasi No.29/LH/04/2021 tanaman yang digunakan adalah benar (*Myristica fragrans* Houtt).

Hasil Penentuan Kadar Air

Hasil pengukuran kadar air daun pala menggunakan alat *moisture balance* adalah 7.31% hal ini telah memenuhi persyaratan kadar air pada simplisia yaitu < 10% (Elfiyani dkk., 2015).

Hasil Ekstrak Daun Pala

Sebanyak 300 g serbuk simplisia daun pala dimaserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 sebanyak 3000ml, ditutup dan dibiarkan selama 3

hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring sehingga didapat maserat. Ampas dimaserasi kembali dengan etanol 96% secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan kedalam wadah tertutup, dibiarkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari. Disaring lalu seluruh maserat digabung dan dipekatkan dengan bantuan alat *rotary evaporator* kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Lalu hitung rendemen yang diperoleh yaitu, sebanyak 45.67 g, sehingga rendemen yang didapatkan sebesar 15.22%.

Hasil Penapisan Fitokimia

Tabel 3 Hasil Penapisan Fitokimia

Senyawa	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)
Tanin	(+)	(+)
Steroid dan Terpenoid	(+)	(+)

Hasil yang diperoleh pada Tabel 3 menunjukkan bahwa simplisia dan ekstrak daun pala mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid.

Pengujian alkaloid dengan menambahkan pereaksi Dragendorf dan menunjukkan terbentuknya endapan jingga, untuk pereaksi mayer menunjukkan terbentuknya endapan putih yang menandakan adanya senyawa alkaloid.

Pengujian flavonoid dengan menambahkan air panas, serbuk magnesium, asam klorida pekat dan amil alkohol, terbentuknya warna kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menandakan adanya senyawa flavonoid. Penggunaan magnesium ini

bertujuan untuk menghidrolisis ikatan glikosida dengan cara mereduksi ikatan tersebut, karena biasanya senyawa flavonoid berikatan dengan gula membentuk aglikon glikosida, kemudian flavonoid yang ditarik oleh amil alkohol berubah mulanya tidak berwarna menjadi berwarna (Sangi dkk., 2008).

Pengujian saponin dengan menambahkan air panas, terbentuknya buih pada permukaan larutan menandakan adanya senyawa saponin. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marina dkk., 2005).

Pengujian tanin dengan menambahkan aquadest dan FeCl3 1 %, terbentuk warna hijau tua atau kehitaman menandakan adanya kandungan tanin.

Pengujian steroid/terpenoid dengan menambahkan LiebermannBouchard menunjukkan hasil positif karena terbentuknya warna hijau hingga biru yang menandakan adanya senyawa steroid.

Gambar 1 Hasil Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Pala



Uji Organoleptik

Tabel 4 Hasil Uji Organoleptik

Sediaan		Minggu ke-							
		0	1	2	3	4	5	6	7
F1	Warna	Coklat							
	Bau	Aromatika Daun Pala							

	Tekstur	Setengah padat
F2	Warna	Coklat
	Bau	Aromatika Daun Pala
	Tekstur	Setengah padat
F3	Warna	Coklat
	Bau	Aromatika Daun Pala
	Tekstur	Setengah padat

Uji organoleptik dilakukan pengamatan secara visual yang meliputi bau, warna, bentuk dan tekstur sediaan krim ekstrak etanol daun pala selama 8 minggu. Hasil penelitian menunjukkan ketiga formulasi tersebut mempunyai warna, bau, dan tekstur yang sama. Krim ini dinyatakan memenuhi syarat pada uji organoleptik karena tidak terjadi perubahan warna, bau maupun tekstur. Hal ini disebabkan karena sediaan krim tersimpan dalam wadah yang tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

Uji Homogenitas

Tabel 5 Hasil Uji Homogenitas

Sediaan	Minggu ke-							
	0	1	2	3	4	5	6	7
F1	Homogen							
F2	Homogen							
F3	Homogen							

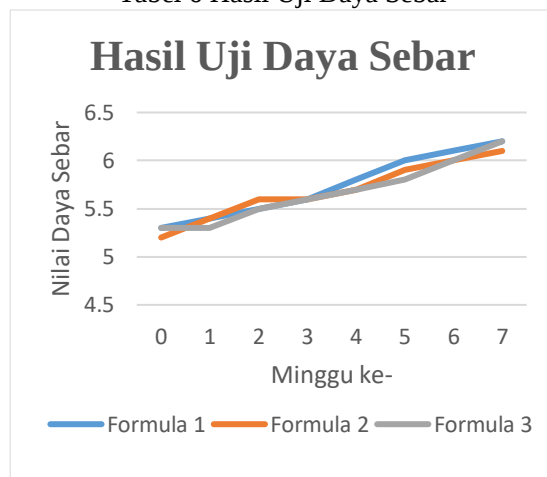
Uji homogenitas bertujuan untuk melihat dan mengetahui tercampurnya bahan-bahan sediaan krim (Juwita, 2013). Pada evaluasi ini uji homogenitas krim dilakukan secara visual dengan mengamati warna krim

dan ada tidaknya bagian-bagian yang tidak tercampurkan dengan baik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga formulasi dinyatakan memenuhi syarat pada uji homogenitas karena tidak ada butiran halus yang terlihat. Syarat sediaan krim yaitu jika dioleskan pada sekeping kaca tidak adanya pemisahan antara komponen penyusun emulsi tersebut (Erungan, 2009).

Cera flava dan cera alba mempunyai sifat sebagai pengikat yang baik, dimana membantu untuk menghasilkan massa yang homogen (Behrer, 1999).

Uji Daya Sebar

Tabel 6 Hasil Uji Daya Sebar



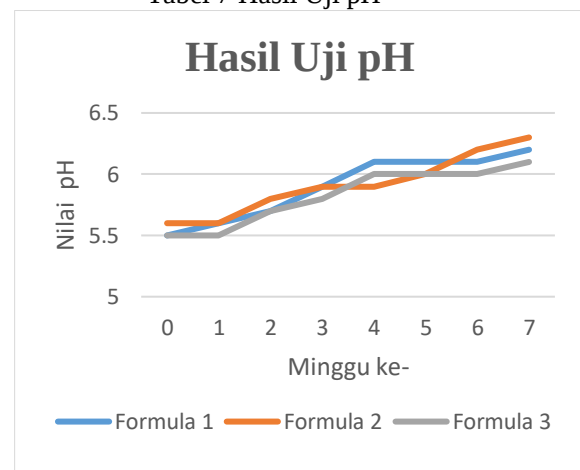
Uji daya sebar krim dilakukan untuk mengetahui luasnya penyebaran krim pada saat dioleskan di kulit, sehingga dapat dilihat kemudahan pengolesan sediaan ke kulit. Permukaan penyebaran yang dihasilkan dengan meningkatnya pembebanan ditujukan untuk menggambarkan karakteristik daya sebar (Voight, 1994). Dimana luas permukaan yang dihasilkan berbanding lurus dengan kenaikan beban yang ditambahkan (Purwasari, 2013), dengan syarat kemampuan daya sebar sediaan topikal sebesar 5-7 cm (Ulaen et al., 2012).

Pada evaluasi ini, ketiga formula krim di uji daya sebar selama 8 minggu,

hasil penelitian menunjukkan ketiga formula krim ini dinyatakan memenuhi syarat pada uji daya sebar karena memiliki nilai daya sebar yang berdekatan dan berada pada parameter 5-7cm. Pada pengujian ini terjadi peningkatan nilai daya sebar pada sediaan krim setiap minggunya, dikarenakan basis krim mengandung propilenglikol yang berfungsi sebagai humektan dengan cara mempertahankan kandungan air yang menyebabkan krim terjaga kelembapannya dan mudah menyebar (Marlinna, 2007).

Uji pH

Tabel 7 Hasil Uji pH

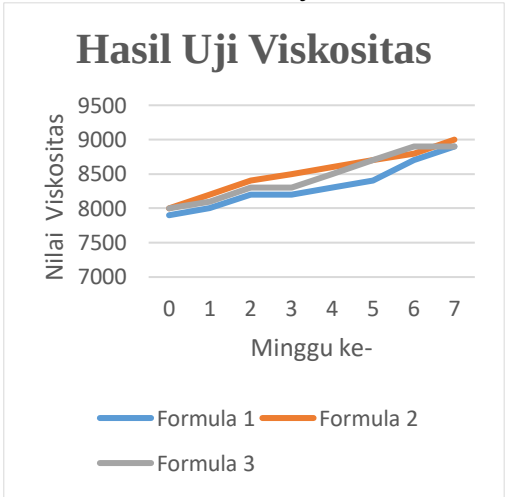


Uji pH bertujuan untuk mengetahui keamanan sediaan krim saat digunakan sehingga tidak mengiritasi kulit (Juwita, 2013). Jika sediaan memiliki pH rendah atau asam dapat mengiritasi kulit, dan sebaliknya jika pH sediaan terlalu tinggi akan mengakibatkan kulit menjadi kering/bersisik saat digunakan (Ainaro et al., 2015). Syarat pH pada sediaan krim harus sesuai dengan rentang pH kulit normal yaitu 4,5 - 6,5. (Azkiya dkk., 2017).

Pada evaluasi ini, ketiga formula krim diuji pHnya selama 8 minggu, hasil penelitian menunjukkan ketiga formula krim memiliki nilai pH yang berdekatan dan berada pada parameter 4,5 - 6,5. Pada pengujian pH terjadi peningkatan nilai pH pada ketiga formula sediaan krim setiap minggunya, dikarenakan krim ekstrak daun pala mengandung senyawa alkaloid yang bersifat basa, sehingga meningkatkan nilai pH pada sediaan krim (Moningka dkk., 2020). Ketiga formula krim ekstrak etanol daun pala dinyatakan memenuhi syarat pada uji pH.

Uji Viskositas

Tabel 8 Hasil Uji Viskositas



Uji Viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan dari sediaan yang dihasilkan. Viskositas merupakan pernyataan dari suatu cairan untuk mengalir, makin tinggi viskositasnya maka makin sulit untuk mengalir / semakin besar tahanannya (Barokah, 2014). Viskositas yang disyaratkan oleh SNI 16-4399-1996 adalah 2.000 - 50.000 cp.

Pada evaluasi ini, ketiga formula krim diuji viskositasnya selama 8 minggu, hasil penelitian menunjukkan ketiga formula krim memiliki nilai pH yang berdekatan dan berada pada parameter

2.000 - 50.000 cp. Pada pengujian ini terjadi penurunan nilai viskositas pada sediaan krim setiap minggunya, dikarenakan krim ini mengandung propilenglikol yang berfungsi sebagai humektan dengan cara mempertahankan kandungan air sehingga menyebabkan konsistensi krim menjadi menurun (Marlinna, 2007). Ketiga formula krim ekstrak etanol daun pala dinyatakan memenuhi syarat pada uji viskositas.

Uji Iritasi

Tabel 8 Hasil Uji Iritasi

Panelis	Formulasi		
	F1	F2	F3
1	Tidak mengiritasi	Tidak mengiritasi	Tidak mengiritasi
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			

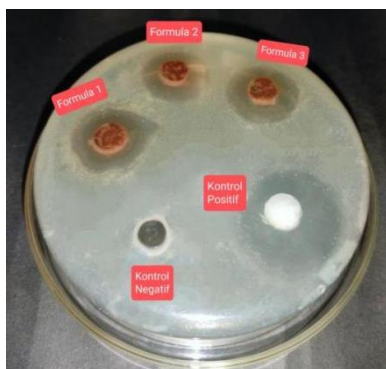
17			
18			
19			
20			

Uji iritasi dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan pada kulit normal panel manusia dengan maksud untuk mengetahui apakah sediaan tersebut dapat menimbulkan iritasi atau tidak (Ditjem POM., 1985), syarat sediaan yang baik dan aman ialah yang tidak menimbulkan eritema, papula, veskula dan edema pada kulit.

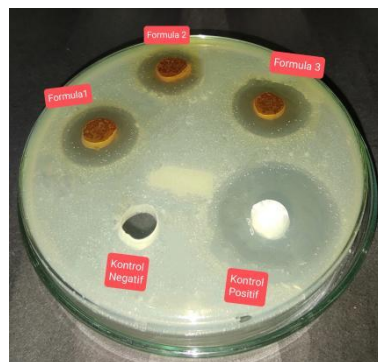
Pada evaluasi ini, ketiga formula krim diuji dengan cara dioleskan pada 20 relawan, hasil pengujian menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak etanol daun pala formula 1, 2, dan 3 memenuhi syarat dan aman untuk digunakan karena tidak menimbulkan iritasi, eritema, papula, veskula dan edema pada kulit.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

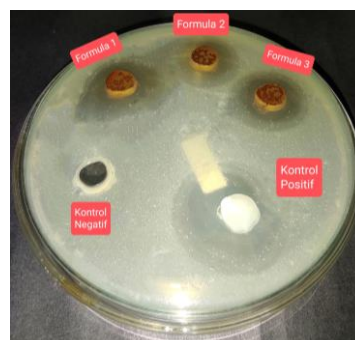
Gambar 2 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Cawan 1



Gambar 3 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Cawan 2



Gambar 4 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Cawan 3



Tabel 9 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Pala

Bahan Uji	Luas Zona Hambat (mm)			
	Pengulangan			rata-rata
	I	II	III	
Formula I	15	15	15	15
Formula II	13	14	13	13,3
Formula III	14	15	15	14,7
Kontrol Positif	20	24	19	21
Kontrol Negatif	6	6	6	6

Uji aktivitas antibakteri ini untuk mengetahui kemampuan sediaan krim ekstrak etanol daun pala dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar sumuran. Hasil pengukuran rata-rata daya hambat yang dihasilkan dari formula 1 (15 mm), formula 2 (13,3 mm), formula 3 (14.7 mm), kontrol positif (21 mm), kontrol negatif (6 mm).

Menurut Hafsari, dkk., (2015) tingkat penghambatan pertumbuhan bakteri dapat dikategorikan jika zona hambat 5 mm atau kurang maka tingkat penghambatannya dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Dengan demikian maka sediaan krim ekstrak etanol daun pala formula 1, formula 2, dan formula 3 dikategorikan memiliki tingkat daya hambat yang kuat.

Pada penelitian ini fase air dari basis krim digunakan sebagai kontrol negatif untuk membuktikan bahwa fase air tidak berperan dalam membentuk zona hambat. Kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat sehingga tidak berpengaruh dalam pembentukan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kontrol positif yang digunakan yaitu krim sagestam yang mengandung gentamicin sulfate 0.1% sebagai pembanding menghasilkan zona hambat yang paling besar yaitu dengan zona hambat rata-rata 21mm (kategori sangat kuat). Gentamisin memiliki mekanisme kerja mensintesis protein bakteri yang memiliki efek bakterisida atau bakteristatik dengan cara mengganggu sintesis protein tanpa mengganggu sel-sel normal (Pratiwi, 2017).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif. Dinding sel gram positif memiliki membran sel dan lapisan peptidoglikan yang tebal, struktur dinding

sel mikroba gram positif relatif lebih sederhana dibanding struktur dinding sel mikroba gram negatif sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Pelzar dan Chan, 1986).

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pala yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu tanin, saponin, alkaloid, steroid/terpenoid, dan flavonoid.

Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Ngajow, dkk., 2013).

Senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma bakteri. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino dan nutrisi dapat keluar dari sel dan apabila enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi

terhambat dan menyebabkan kematian sel (Retnowati, dkk., 2011).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Rangka dasar dinding sel bakteri adalah lapisan peptidoglikan. Peptidoglikan tersusun dari N-asetil glukosamin dan N-asetil asam muramat, yang terikat melalui ikatan 1,4- glikosida. Pada N-asetil asam muramat terdapat rantai pendek asam amino: alanin, glutamat, diaminopimelat, lisin dan alanin, yang terikat melalui ikatan peptida. Peranan ikatan peptida ini sangat penting dalam menghubungkan antara rantai satu dengan rantai yang lain. Mekanisme kerusakan dinding bakteri terjadi karena proses perakitan dinding sel bakteri yang

Bahan Uji	n	rata-rata ± SD	p
Formula I	3	15,0±0	< 0.0001
Formula II	3	13,3±0.58	< 0.0001
Formula III	3	14,7±0.58	< 0.0001
Kontrol Positif	3	21,0±2.65	< 0.0001
Kontrol Negatif	3	6,0±0	< 0.0001

diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel (Sumarsih, 2003).

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. (Madduluri, dkk., 2013).

Mekanisme senyawa flavonoid dengan menghambat fase penting dalam biosintesis prostaglandin, yaitu pada lintasan siklooksigenase, selain itu flavonoid juga menghambat fosfodiesterase, aldoreduktase, monoamine oksidase, protein kinase, DNA polimerase dan lipooksigenase (Fitriyani, dkk., 2011). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel serta menghambat metabolisme energi. Mekanisme antibakteri flavonoid dalam menghambat sintesa asam nukleat adalah pada cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Senyawa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara senyawa flavonoid dengan DNA bakteri (Rijayanti, 2014).

Analisis Data

Tabel 10 Hasil Analisa Data Metode ANOVA

Hasil analisis data dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) diketahui bahwa diameter zona hambat krim ekstrak etanol daun pala menunjukkan nilai signifikansi 0,001 < p (0.05) yang berarti terdapat

perbedaan signifikan pengaruh perlakuan yang diberikan terhadap bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif dan 3 formula krim telah memberikan aktivitas yang menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji lanjut yang digunakan adalah uji Duncan. Uji Duncan digunakan untuk melihat perlakuan mana yang memiliki efek yang sama atau berbeda dan efek yang terkecil hingga efek terbesar antara satu dengan lainnya. (Simanjuntak, 2008).

Tabel 11 Hasil Analisa Data Uji Duncan

Uji Duncan		Subset for alpha = 0.05		
Bahan Uji	n	1	2	3
Kontrol Negatif	3	6		
Formula 2	3		14	
Formula 3	3		14,67	
Formula 1	3		15	
Kontrol Positif	3			21
Sig.		1	0.387	1

Uji Duncan terhadap diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* untuk kontrol negatif, menunjukkan adanya perbedaan nyata terhadap kontrol positif dan berbagai formula krim ekstrak etanol daun pala. Kontrol negatif yang digunakan adalah aqua dest yang menunjukkan tidak adanya zona hambat. Hal ini mengindikasikan efek terkecil pada uji Duncan terdapat pada kontrol negatif.

Kontrol positif menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dalam uji

Duncan, karena menghasilkan efek aktivitas antibakteri yang paling besar terhadap bakteri uji dibandingkan dengan kontrol negatif dan berbagai formula krim ekstrak etanol daun pala. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang dibentuk oleh gentamicin yaitu 21 mm.

Uji Duncan terhadap diameter zona hambat bakteri uji pada formula 1 (15- mm), formula 2 (13,3 mm), dan formula 3 (14,7 mm) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata. Hal ini mengindikasikan ketiga formula krim ekstrak etanol daun pala memiliki efek yang hampir sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Evaluasi sediaan krim ekstrak etanol daun pala yang dilakukan selama 8 minggu, ketiga formula krim yang dihasilkan homogen, tidak berubah warna, tidak berubah bau, tidak berubah tekstur, tidak mengiritasi, dan memenuhi syarat pada pengujian pH, daya sebar dan viskositas. Ketiga formula memiliki hasil pengujian yang hampir sama, dikarenakan ketiga formula dibuat dengan tipe krim yang sama yaitu *vanishing cream*.
2. Sediaan krim ekstrak etanol daun pala memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan hasil formula 1 memiliki nilai rata-rata zona hambat 15 mm, formula 2 memiliki nilai rata-rata 13,3 mm, dan formula 3 memiliki nilai rata-rata 14,7 mm. Ketiga formula sediaan krim ekstrak etanol daun

pala memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori respon hambat pertumbuhan kuat.

Saran

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan:

- 1) Membuat formulasi ekstrak etanol daun pala dalam bentuk sediaan lainnya.
- 2) Meneliti pengaruh ekstrak etanol daun pala terhadap perkembangbiakan bakteri lainnya yang bersifat merugikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifi, R. (2018). **UJI ANTI BAKTERI EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L) TERHADAP ZONA HAMBAT BAKTERI JERAWAT *Propionibacterium acnes* SECARA IN VITRO**. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 17(2), 321. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v17i2.259>
- Ainaro, E.P., Amilia, G., Sani, E.P., (2015). **Formulasi Sediaan Masker Gel Pell-Off Mengandung Lendir Bekicot (*Achatina Fulica* Bodwich) sebagai Pelembab Kulit**. Fakultas MIPA UNISBA ISSN 2460-6472
- Anief, M., 1997. *Ilmu Meracik Obat*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ansel, Howard C. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi (terjemahan Farida Ibrahim)*. Edisi V. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Asifa, S.U., **Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Pertumbuhan *Shigella flexneri* Secara In Vitro**, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura., Kalimantan Barat
- Ayu, S. (2009). *Cara Ampuh Mengobati Jerawat*, Buana Pustaka, Yogyakarta.
- Azkiya, Z., Ariyani, H., Nugraha, T.S., (2017). **Evaluasi Sifat Fisik Krim Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. var. rubrum) Sebagai Anti Nyeri**. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Banjarmasin ISSN 2598-2095
- Barokah, R. (2014). **Variasi Harga HLB Emulgator Berdasarkan Perbandingan Tween 80 Dan Span 80 Terhadap Sifat Fisik Dan Kimia Krim Ekstrak Etanol Curcuma Mangga Val Sebagai Sunscreen**. Surakarta: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret
- Bota, W. (2015), **Potensi Senyawa Minyak Sereh Wangi (*Citronella* Oil) Dari Tumbuhan *Cymbopogon nardus* L. Sebagai Agen Antibakteri**, *Jurnal Seminar Nasional Sains dan Teknologi*.
- Depkes RI. 1982. **Formularium Kosmetika Indonesia**. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dirjen POM, 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi Ke-III. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

- Elfiyani, R., Setadi, N Mei S., 2015., **Humektan Terhadap Sifat Fisik Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Etanol 96% Daun Sosor Bebek (*Bryophyllum pinnatum*)**., Jakarta, Fakultas Farmasi dan Sain, UHAMKA.
- Erungan, A.C., Sri, P., & Syeni, B.D., (2009). **Aplikasi Karaginan Dalam Pembuatan Skin Lotion**. Bogor: Departemen Teknologi dan Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor
- Fitriyani A, Winarti L, Muslichah S, Nuri N., (2011). **Anti-inflammatory Activity of Piper crocatum Ruiz & Pav. Leaves metanolic extract in rats**. Maj Obat Tradis (Traditional Med Journal) 16(1):34–42.
- Ida, N. dan Noer, S.F. 2012. **Uji Stabilitas Fisik Gel Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)**. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 16(2): 79-84.
- Juwita, A. P., Yamlean, P., Edy, H.J., (2013). **Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*)**. Skripsi, Universitas Sam Ratulangi
- Lusi, N. dan Ira, R. 2016. **Uji Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L) Terhadap DPPH**.
- Madduluri, S., Rao, B.K., dan Taram, S.B. (2013). **In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human**. International Journal of Pharmacy and Pharmaceuticals Science. 5(4): 683-684.
- Marina, S.D., Suryati, V., dan Suyono, 2005., **Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swariz) dalam Ekstrak Etanol**., Biofarmasi. 3 (1): 26-31.
- Marlina, (2007). **Optimasi Komposisi Propilen Glikol dan Sorbitol sebagai Humectant dalam Formula Krim Anti Hair Loss Ekstrak Saw Palmetto (*Serenoa Repens*)**: Aplikasi Desain Faktorial. Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
- Mirabella, V.M., Pareta, D., Hariyadi, Potalangi, N., (2020). **Formulasi Dan Uji Aktivitas Sediaan Sabun Cair Ekstrak Daun Pala *Myristica fragrans* Houtt.** Fakultas MIPA Universitas Kristen Tomohon ISSN 2685-3167
- Ngajow, M., Abidjulu, J., Kamu, V, S. (2013). **Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro**. *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE*. 2(2). Halaman 131.
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S. (1986). **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Cetakan I. Terjemahan: R.S. Hadioetomo., T. Imas., S.S. Tjitrosomo., dan S.L. Angka. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Halaman 101.
- Pratiwi, R.H., (2017). **Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik**. *Jurnal pro-life*, 4(3): 418-429.
- Purwasari, C. (2013). **Perbandingan Konsentrasi Lemak Kakao dan**

- Minyak Kelapa Murni sebagai Basis Sediaan Hand and Body Lotion Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl).** Surakarta. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret
- Rastini., Sudarwanto, M., Wientarsih, I., **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* sp.,** Fakultas Kedokteran, Institut Pertanian Bogor., Bogor
- Retnaningsih, A., Primadhamanti, A., Marisa, I., **Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* Dengan Metode Difusi Sumuran.,** Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Lampung., Lampung
- Retnowati, Y., Bialangi, N., dan Posangi, N.W. (2011). ***Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (Andrographis paniculata).*** Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.
- Rijayanti R.P., (2014). **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro.** J Mhs PSPD FK Univ Tanjungpura. ;1(1).
- Rosmania., Yanti, F., **Perhitungan Jumlah Bakteri Di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri.,** Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya., Sumatera Selatan
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I., Makang, V.M.A., 2008., **Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara.,** *Chem. Prog* 1 (1):47-53.
- Sumarsih S., 2003. **Mikrobiologi dasar.** UPN Veteran., Yogyakarta
- Tranggono, R.I. dan Latifa, F. 2007. **Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik.** Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Ulaen, S.P.J., Banne, Y.S., Ririn, A. 2012. **Pembuatan Salep Anti Jerawat dari Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthoriza* Roxb.),** *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(20), 45-59
- Yamami, R., Fakhraina. 2016. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pala (*Myristica Fragrans*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*.** Skripsi, Universitas Sumatra Utara Medan.
- Voight, R. (1994). **Buku Pelajaran Teknologi Farmasi.** Diterjemahkan oleh Soewandi, S.N., Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

