

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di zaman modern seperti sekarang dengan teknologi yang membuat segala sesuatu menjadi lebih praktis dan mudah, termasuk dalam menjaga kebersihan tangan. Tangan merupakan anggota tubuh yang sering kontak langsung dengan benda-benda disekitar kita sehingga dapat menyebabkan kuman dan bakteri cepat menyebar. Untuk itu kita harus dapat menjaga kebersihan tangan dari bakteri dan kuman yang merugikan tubuh, salah satunya bakteri *Staphylococcus aureus* (Rejeki, 2015).

Bakteri *Staphylococcus aureus* mikroorganisme parasit yang berada di kulit terutama pada kulit bagian tangan dan hidung sehingga dapat mengakibatkan gangguan pada paru, tulang, jantung serta infeksi pada pembuluh darah (Umayu, 2017). Studi di Amerika Serikat dan Eropa menunjukkan bahwa *S.aureus* mikroorganisme yang sering berpotensi menyebabkan infeksi dengan prevalensi 18-30% (Syafira, 2017). Infeksi bakteri *S.aureus* menyebabkan bakterimia, endokarditis, osteoartikular, osteomielitis akut hematogen, infeksi pada kulit dan jaringan lunak, meningitis dan infeksi paru-paru. Infeksi yang sering terjadi pada masyarakat yaitu infeksi pada dinding saluran pencernaan terutama pada lambung serta usus, dikenal dengan nama diare (Utomo dkk, 2018). Penyebab diare pada tubuh

disebabkan karena kurangnya kesadaran diri untuk mencegah kebersihan tangan sehingga bakteri mudah tertelan dan menyebabkan infeksi yang bersifat fatal pada tubuh manusia (Tisa, 2014). Bakteri *Staphylococcus aureus* memicu terjadinya infeksi jika telah mencapai jumlah 1.000.000 atau 10^6 per gram, suatu jumlah yang bisa berbahaya bagi tubuh dan kesehatan manusia (Rachmawati Julintina Farida, 2008).

Mencuci tangan merupakan suatu tindakan sanitasi dengan membersihkan tangan dan jari-jemari, menggunakan air dan sabun atau menggunakan cairan antiseptik seperti *hand sanitizer*, mencuci tangan dapat menurunkan angka kematian satu juta pertahun, selain itu, angkakuman pada telapak tangan dapat diturunkan hingga 58% (Binzati, 2017)

Terdapat beberapa cara sederhana untuk memperhatikan kebersihan tangan yaitu dengan menggunakan *hand sanitizer* atau mencuci tangan dengan sabun. Tetapi penggunaan air dan sabun dinilai kurang praktis sehingga dikembangkan produk inofatif yang dinilai lebih praktis yaitu *hand sanitizer*. *Hand sanitizer* adalah produk kesehatan yang secara praktis dapat mematikan kuman tanpa menggunakan air, dapat digunakan dimana saja dan kapan saja. Produk pembersih tangan ini dapat digunakan saat tidak adanya air dan sabun. (Radji, 2021). *Hand sanitizer* umumnya berbahan aktif alkohol sebagai antibakterial. Penggunaan bahan aktif alkohol pada kulit dirasa kurang aman karena alkohol adalah pelarut organik yang dapat melarutkan sebum pada kulit, dimana sebum tersebut bertugas melindungi kulit dari mikroorganisme, penggunaan alkohol dalam jangka waktu lama akan menyebabkan kulit terasa

kering dan iritasi. Oleh karena itu, diperlukan bahan aktif yang bersifat antibakteri dan aman digunakan dalam jangka waktu yang lama. Bahan aktif dari tanaman dapat menjadi salah satu alternatif sebagai pengganti alkohol didalam pembuatan *hand sanitizer* (Sari & Isadiartuti, 2021).

Daun salam (*Syzygium polyanthum leaves*) merupakan daun dari tumbuhan salam yang digunakan oleh masyarakat sebagai bumbu dapur dan obat tradisional untuk berbagai macam penyakit. Daun salam mengandung metabolite sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, sponin, tannin dan triterpenoid (Dzulkarnain, 2017). Selain itu juga mengandung zat samak, zat bahan warna dan minyak atsiri yang memlik sifat sebagai antibakteri. Kandungan metabolite sekunder tersebut mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Harismah & Chusniatu, 2018).

Minyak atsiri daun salam memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Vibrio Cholerae* (Hamad, 2018). Ekstrak etanol daun salam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epiderms*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteria*, *Escherichiacoli*, dan jamur *Candida albicans* (Yuliati, 2018).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sudirman (2018) ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum leaves*) dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100% memberikan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Daya hambatan diperoleh berdasarkan pengukuran zona hambat yang terbentuk disekitar kertas dan diukur menggunakan jangka sorong.

Berdasarkan latar belakang diatas diketahui bahwa daun salam memiliki aktivitas antibakteri. Oleh karena itu, dilakukan penelitian lebih lanjut pada uji efektifitasan formulasi *spray hand sanitizer* ekstrak etanol daun salam. penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Dimana peneliti menggunakan tiga formulasi dengan konsentrasi yang berbeda diantaranya 5%, 10%, 15% yang didapat dari penelitian sebelumnya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah konsentrasi pada sediaan *spray hand sanitizer* ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum leaves*) yang menunjukkan efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara difusi cakram ?
2. Berapakah daya hambat yang dihasilkan dari setiap formulasi sediaan *spray hand sanitizer* ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum leaves*) ?

1.3 Tujuan

Mengetahui efektivitas sediaan *spray hand sanitizer* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara difusi cakram.

1.4 Manfaat

1.1 Bagi Peneliti

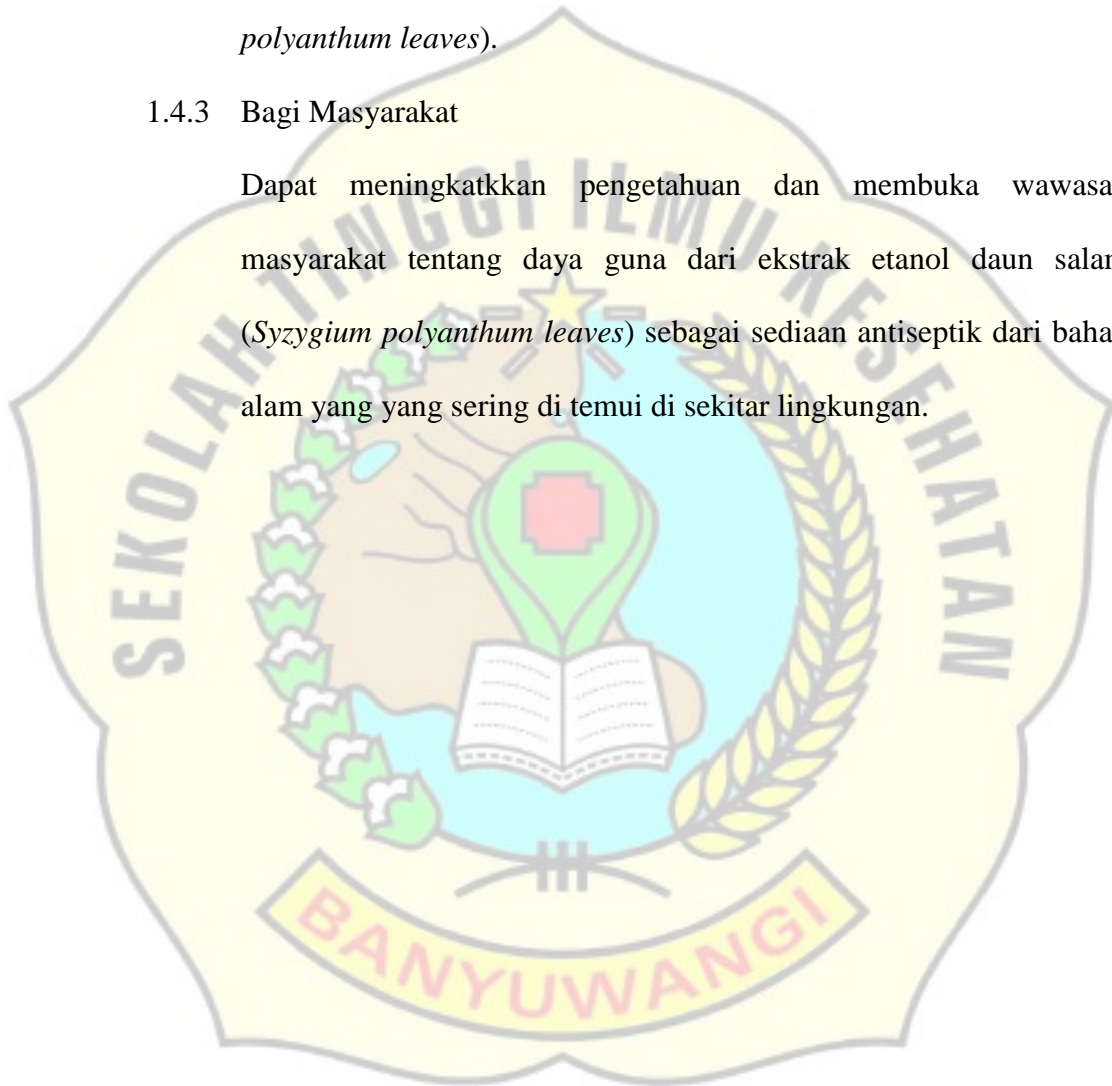
Menambah wawasan ilmu pengetahuan alam bagi peneliti dan dapat digunakan sebagai acuan referensi dan pengembangan ilmu pengetahuan bagi peneliti selanjutnya.

1.4.2 Bagi Institusi

Menjadi bahan pembelajaran dan referensi bagi kalangan yang akan melakukan penelitian lanjutan dengan topik yang berhubungan dengan pemanfaatan ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum leaves*).

1.4.3 Bagi Masyarakat

Dapat meningkatkan pengetahuan dan membuka wawasan masyarakat tentang daya guna dari ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum leaves*) sebagai sediaan antiseptik dari bahan alam yang sering di temui di sekitar lingkungan.



BAB II

TINJAUN PUSTAKA

2.1 Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

2.1.1 Klasifikasi Salam (Tjitrosoepomo, 2005)

Salam merupakan tanaman asli Indonesia yang tumbuh di iklim tropis dan subtropis, termasuk di Asia Tenggara dan Cina. Tumbuhan salam bisa tumbuh di daerah ketinggian 5 m sampai 1.000 m di atas permukaan laut. Pohon salam dapat tumbuh pada dataran rendah hingga pegunungan dengan ketinggian 1800 m, banyak tumbuh di hutan maupun rimba belantara.



Gambar 2.1 Daun salam (Suciati, 2017)

- Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Anak Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Anak Kelas : Dialypetalae
Bangsa : Myrtales
Famili : *Myrtaceae*

Genus : *Syzygium*

Spesies : *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.

2.1.2 Morfologi Salam

Tumbuhan salam termasuk pohon atau perdu, termasuk daun tunggal, letak daunnya adalah bersilang sejajar pada cabang mendatar tersusun dalam 2 baris pada 1 bidang. Kebanyakan tanpa daun penumpu. Termasuk bunga banci karena memiliki 2 alat kelamin dalam satu bunga, kelopak daun mahkota masing-masing berjumlah 4 hingga lima daun kelopak dan kadang kelopak berhadapan dengan daun-daun mahkota. Tangkai sari pada tumbuhan salam berwarna cerah, mempunyai 1 tangkai putik, berbunga majemuk, berwarna putih berbau harum serta berrongga, dengan 1-8 bakal biji dalam tiap rongga, yang paling menarik bakal buah tenggelam berbentuk bulat, buah muda berwarna hijau, jika masak akan berubah menjadi gelap dan mempunyai rasa agak sepat (Van Steenis, 2003).

2.1.3 Manfaat Salam

Daun salam banyak digunakan untuk obat pada penyakit diabetes, jantung koroner, hipertensi, sakit maag dan diare (Dalimartha, 2003). Daun salam juga dapat menurunkan kadar gula dalam tubuh, menurunkan kadar kolesterol darah, menurunkan kadar asam urat, mengobati sakit maag (*gastritis*), gatal-gatal (*pruritus*), kudis (*scabies*) dan eksim. Selain daun salam yang berpotensi sebagai obat alam. Pada kulit batang pohon dan buah salam juga bisa

digunakan sebagai obat antidiare. Buah salam memiliki kelebihan lain yaitu dapat menetralkan efek mabuk karena mengonsumsi alkohol terlalu banyak (Enda, 2009).

2.1.4 Kandungan Salam

Daun salam memiliki kandungan tanin, alkaloid, galokatekin, flavonoid, dan minyak atsiri (seskuiterpen). Selain senyawa tersebut terdapat kandungan lain pada daun salam yakni vitamin A, vitamin C, Vitamin B12, Niacin, Vitamin B6, Riboflavin, Folat dan Thiamin. Turunan senyawa flavonoid pada daun salam adalah kuarsetin, yang mempunyai aktivitas antibakteri (Prahastuti, 2011).

2.2 Metabolit Sekunder

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan. Flavonoid pada tanaman telah diketahui memberikan efek farmakologis yaitu. Sebagai antioksidan, penetralisir racun, antimikroba dan antivirus (Hassanein, 2018). Flavonoid pada tumbuhan berperan memberi warna, rasa pada biji, bunga, dan buah serta aroma (Mierziak dkk, 2018).

Flavonoid disintesis pada tanaman salah satunya untuk melindungi diri dari infeksi bakteri. Aktivitas antibakteri flavonoid telah banyak dilakukan penelitian secara *in vitro* dan memperlihatkan aktivitas sebagai antibakteri (Kumar & Pandey, 2018). Beberapa kandungan flavonoid terbukti memiliki aktivitas antibakteri adalah

galangin, naringenin, epigallocatein galat, dan flavon dan isoflavon (Cushnie & Lamb, 2018).

2.2.2 Tanin

Tanin adalah suatu senyawa polifenol berasal dari tumbuhan yang memberikan rasa pahit dan sepat, tanin juga dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung alkaloid dan asam amino.

Senyawa tanin terdapat pada banyak jenis tumbuhan. Tanin berfungsi untuk melindungi suatu tumbuhan dari pemangsa herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur dan metabolisme tumbuhan (Julianto, 2019).

2.2.3 Alkaloid

Alkaloid termasuk senyawa metabolite sekunder yang memiliki aktivitas biologis yang sangat penting (Lenny dkk, 2013). Alkaloid mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dengan mengganggu mekanisme komponen utama dinding sel bakteri yang bersifat kaku, sehingga lapisan luar yang terdapat pada sel tidak terbentuk secara sempurna dan menyebabkan kematian pada sel tersebut (Regina F dkk, 2020).

2.2.4 Minyak Atsiri

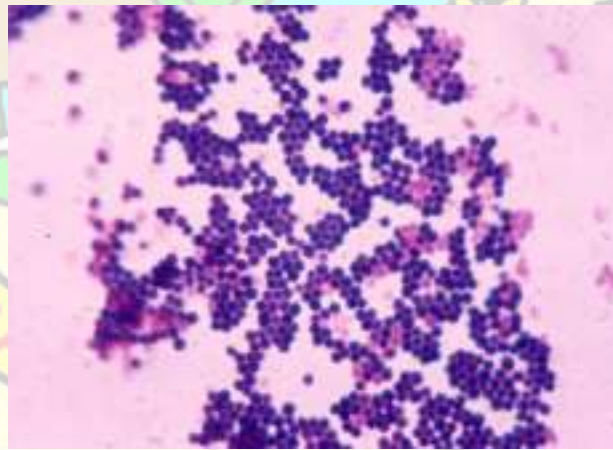
Minyak atsiri merupakan salah satu jenis minyak yang dihasilkan dari ekstraksi salah satu tanaman, yang berwujud cairan kental dan mudah menguap pada suhu ruangan sehingga memberikan

aroma khas. Minyak atsiri juga dapat digunakan sebagai salah satunya senyawa antibakteri (Violantika, 2020). Dalam penghambatan pertumbuhan bakteri yaitu bekerja dengan meracuni sitoplasma, merusak dan menembus dinding serta mengendapkan protein sel bakteri (Devi, 2019).

2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.3.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

S.aureus adalah bakteri kokus gram positif yang merupakan anggota Filum bakteri, dan ditemukan di saluran pernapasan, hidung dan pada kulit. Bakteri ini merupakan penyebab umum infeksi kulit, infeksi saluran nafas seperti sinusitis, keracunan makanan (Shahin Asadi, 2017).



Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Shahin Asadi, 2017)

Menurut Shahin *dkk*, (2017) klasifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Domain : Bacteria

| | |
|---------|--------------------------------|
| Kingdom | : Eubacteria |
| Ordo | : Eubacteriales |
| Famili | : <i>Micrococcaceae</i> |
| Genus | : <i>Staphylococcus</i> |
| Spesies | : <i>Staphylococcus aureus</i> |

2.3.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus* adalah bakteri berbentuk bulat dimana koloni bakteri cenderung berbentuk menyerupai buah anggur. Menurut bahasa Yunani, *Staphyle* berarti anggur dan *coccus* berarti bulat atau bola. Salah satu spesies menghasilkan pigmen berwarna kuning emas sehingga dinamakan *aureus*. Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tidak bantuan oksigen (Radji M, 2016). *S.aureus* mempunyai diameter 0,8-1,2 μm , tidak membentuk spora, tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh dengan optimum pada suhu 37°C dengan waktu pembelahan 0,47 jam, membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar 20-25°C (Radji M, 2016).

2.3.3 Patogenisitas

Sebagian bakteri *Staphylococcus* adalah flora normal pada kulit, saluran pencernaan, dan saluran pernafasan. Bakteri ini juga dapat ditemukan pada udara dan lingkungan sekitar kita. Bakteri *S. aureus* bersifat patogen dan invasif, membentuk koagulase, mampu memfermentasi manitol dan menyebabkan hemolisis (Warsa, 1994). *S. aureus* juga dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi pada kulit

yaitu bisul, furunkulosis, infeksi yang serius seperti pneumonia, mastitis, flebitis dan meningitis (Radji M, 2016).

2.4 Antiseptik *Hand Sanitizer*

Berdasarkan hasil penelitian pada tahun 2013 CDC (*Centers for Disease Control Prevention*) membuktikan bahwa *hand sanitizer* lebih efektif untuk memutus rantai bakteri dibandingkan menggunakan air mengalir. Air yang mengalir tidak ditemukan adanya zat antiseptik. Zat antiseptik sendiri adalah zat dimana dapat merusak metabolisme dan pertumbuhan pada bakteri, sehingga dapat menyebabkan kematian pada sel bakteri. *Hand sanitizer* ada dua macam yang yaitu *spray hand sanitizer* dan *gel hand sanitizer*.

2.4.1 *Spray*

Spray hand sanitizer merupakan bentuk sediaan semprot antikuman praktis berupa cairan antiseptik. Pemakaian dengan cara disemprotkan pada bagian tangan yaitu telapak tangan, kemudian ratakan pada permukaan tangan tanpa luka. Bahan antiseptik yang banyak digunakan dalam sediaan formula *spray* yaitu golongan alkohol (propanol, isopropanol, etanol) menggunakan konsentrasi lebih kurang 50% sampai dengan 70% dan jenis desinfektan lain seperti klorheksidi dan triklosan (Block S, 2020). *Hand sanitizer* berfungsi sebagai penghambat dan pembunuh bakteri. *Hand sanitizer* yang juga dikenal sebagai detergen sintetis cair pembersih tangan merupakan sediaan pembersih yang dibuat dari bahan aktif detergen sintetis

dengan atau tanpa penghambat zat lain yang tidak menimbulkan iritasi pada kulit (Asih, 2020).

Menurut Marriot (1999). *Hand sanitizer* yang dikendaki memiliki beberapa hal meliputi :

1. Mudah digunakan.
2. Memiliki aktivitas spektrum melawan fase vegetatif bakteri, sifat penghancur mikroba, kapang dan khamir.
3. Dapat membersihkan tangan dengan baik.
4. Tahan terhadap beberapa faktor lingkungan yang mengandung bahan organik, deterjen, sisa sabun, kesadahan air atau air yang mempunyai kadar mineral yang tinggi, dan perbedaan PH.
5. Tidak larut dalam air dengan berbagai konsentrasi.
6. Tidak beracun dan tidak menimbulkan iritasi.
7. Bau dapat diterima.
8. Konsentrasi stabil.

2.4.2 *Spray Gel*

Formulasi sediaan *Spray gel* adalah salah satu produk antiseptik inovatif dengan sediaan gel yang memiliki tingkat kontaminasi rendah, lebih praktis digunakan dan waktu kontak yang lebih lama. Menurut “ (Farmakope Indonesia) edisi IV 2014 ” gel juga biasah disebut dengan jeli. Gel merupakan zat berbeda fase padat dan cair yang dibuat dari partikel organik besar maupun partikel organik

yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan. *Gelling agent* merupakan komponen polimer yang mempunyai berat molekul tinggi dan merupakan gabungan dari beberapa molekul dan lilitan dari polimer yang akan memberikan sifat kental pada gel. Untuk menjamin homogenitas, *spray gel hand sanitizer* harus dikocok dahulu sebelum digunakan (Danimayostu, 2017).

2.5 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian aktivitas antibakteri menurut Pratiwi (2008) sebagai berikut :

2.5.1 Metode Difusi

1. Metode Kertas Cakram

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba. Agen antimikroba yang berada di beaker glass ditempatkan pada media agar yang telah ditanam mikroorganisme lalu difusikan dan dihitung volume zona hambatnya. Tanda adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen anti mikroba dengan munculnya area bening pada permukaan media tersebut.

2. Metode difusi agar strip/epsilometer (*E-test*)

Metode ini bertujuan untuk memperkirakan KHM (Kadar Hambat Minimum), dengan minimal konsentrasi suatu agen antimikroba dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Difusi strip plastik yang berisi agen antimikroba dari konsentrasi terendah dan tertinggi ditempatkan pada permukaan media agar

yang telah ditanami mikroorganisme. agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar meunjukkan adanya zona bening.

3. Metode Sumuran

Pada lempeng agar membuat lubang selanjutnya diinokulasi dengan bakteri uji, letak jumlah lubang disesuaikan. Setelah itu setiap lubang diisi dengan zat penguji. Lalu dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan mengamati adadan tidaknya zona hambatan di sekeliling obat.

2.5.2 Metode Dilusi

1. Metode Dilusi Cair (*Borth dilution test*)

Metode ini KHM (Kadar Hambat Minimum), dan KBM (Kadar Bunuh Minimu) yang dilakukan adalah membuat seri pengenceran dilakukan pada agen antimikroba dengan media cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji disebut sebagai KHM.

2. Metode Dilusi Padat (*solid dilution test*)

Metode ini sama dengan metode cair hanya menggunakan media padat. kelebihan menggunakan dilusi padat yaitu satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroboba uji.

Tabel 2.5 Klasifikasi Daya Hambat (Davis and Stout, 1971)

| Diameter Zona Hambat (mm) | Kekuatan Daya Hambat |
|---------------------------|----------------------|
| < 5 mm | Lemah |
| 5-10 mm | Sedang |
| 11-20 M | Kuat |
| >21 mm | Sangat Kuat |

2.6 Pelarut

2.6.1 Pelarut polar

Pelarut polar adalah pelarut yang memiliki tingkat kepolaran tinggi. Pelarut yang bersifat polar yaitu metanol, aseton, etanol dan air (Nico Kemit, 2017).

2.6.2 Pelarut Semi Polar

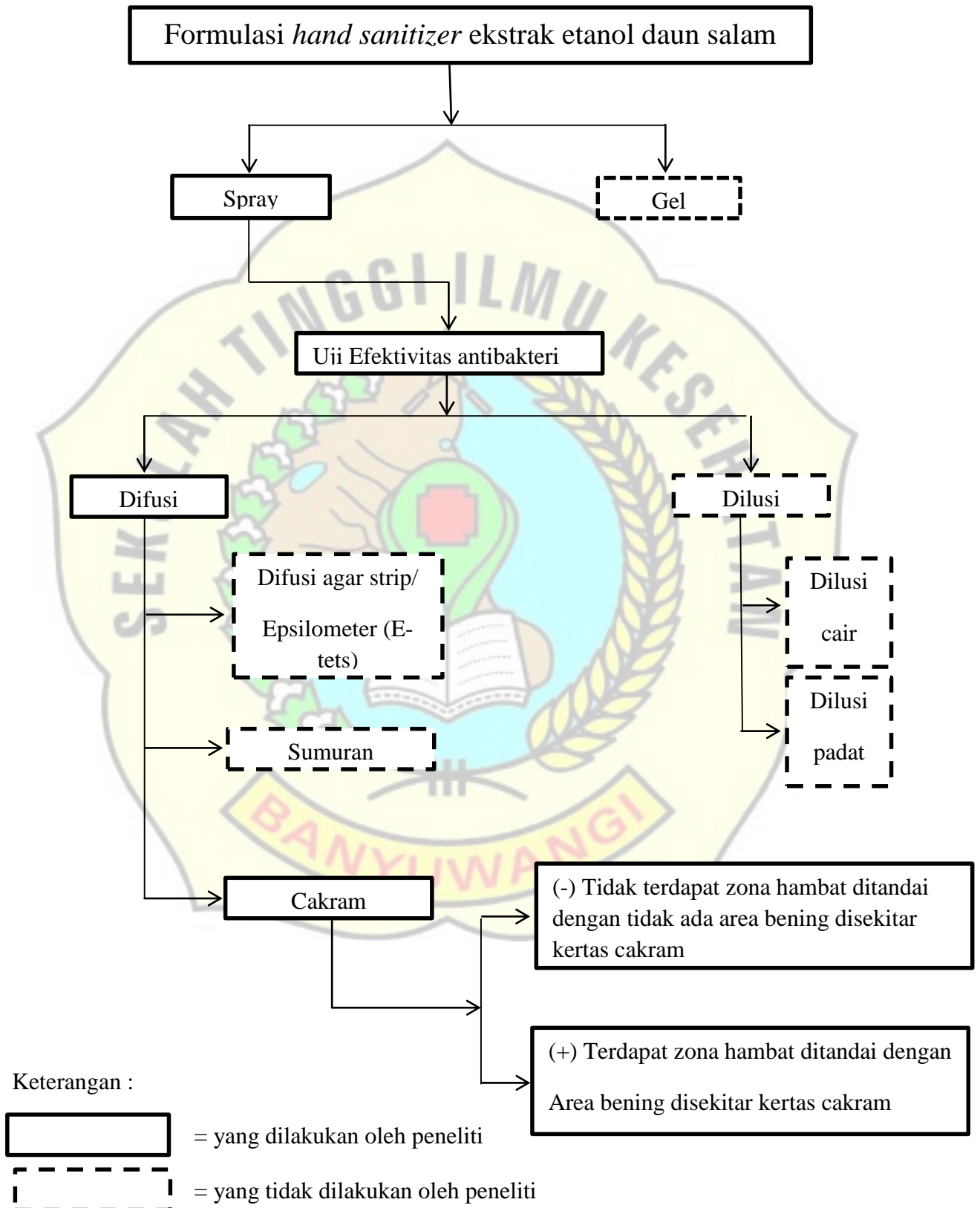
Pelarut semi polar adalah pelarut yang mempunyai tingkat kepolaran yang rendah dari pelarut polar tetapi lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut non polar. Pelarut yang bersifat semi polar adalah aseton, etil asetat, dikloromethan (Yuliani, 2019).

2.6.3 Pelarut Non Polar

Pelarut non polar merupakan pelarut yang memiliki sifat yang tidak larut air dan konstanta dielektrik yang rendah. Pelarut ini baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar seperti minyak. Contoh pelarut non polar heksana, kloroform, eter (Yuliani, 2019).



2.7 Kerangka Konseptual



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dimana peneliti melakukan pengamatan atau kontrol terhadap suatu pengamatan dengan satu atau lebih variabel.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di laboratorium bahan alam STIKES Banyuwangi pada bulan Juli-Agustus 2022.

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu inkubator, autoklaf, mikropipet, laminar air flow, tabung reaksi, hot plate, bunsen, pipet volume, cawan petri, jarum ose, erlenmeyer, rak tabung reaksi, beaker glas, kertas cakram. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah *spray hand sanitizer* ekstrak etanol daun salam dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% yang telah didapat dari penelitian sebelumnya, mikroba yang digunakan adalah bakteri *staphylococcus aureus*, media *Nutrien Agar* (NA), *Clindamycin*, Aquades, NaCl 0,9%.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Uji Determinasi Tanaman

Digunakan untuk memastikan kebenaran tanaman daun salam termasuk kedalam spesies *Syzyium polyanthum* (Wight) Walp. Maka dilakukan determinasi di Universitas Banyuwangi.

3.4.2 Sterilisasi

Alat yang digunakan dalam penelitian ini seperti gelas atau kaca dan media harus disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan pinset dibakar menggunakan pembakaran diatas api langsung.

3.4.3 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Melarutkan 5 gram bubuk media *Nutrient Agar* (NA) dengan aquades 250 ml dalam erlenmeyer. Larutan dipanaskan sampai bubuk benar-benar larut sambil diaduk hingga homogen diatas hot plate, kemudian disterilisasi dengan cara menutup bagian mulut erlenmeyer dengan kapas lalu di masukkan kedalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.4 Inokulasi Bakteri Pada Media Agar Miring

Bakteri uji diambil dengan menggunakan jarum ose steril, ditanamkan kedalam media agar miring dengan cara menggoreskan. Lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *S. aureus* yang dipergunakan, dibuat dengan mengambil 1 koloni dengan menggunakan jarum ose dari biakkan agar miring. Setelah itu, dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 10 mL NaCl 0,9% steril.

3.4.6 Pengenceran Bakteri

Diambil bakteri *S. aureus* satu jarum ose lalu di masukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9%, dilakukan pengenceran bertingkat yang berfungsi untuk mengencerkan jumlah mikroorganisme di dalam sampel, kemudian setelah diencerkan ambil 100 ml hasil sampel dengan mikro pipet dan dituang ke dalam tabung reaksi ke dua diulangi kembali sampai tabung reaksi ke lima.

3.6.2 Pembuatan Larutan Uji

Penelitian ini dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok perlakuan, kelompok kontrol positif dan kelompok negatif. Kelompok perlakuan menggunakan sediaan *spray hand sanitizer* ekstrak etanol daun salam dengan menggunakan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Kelompok kontrol positif menggunakan larutan antibiotik *Clindamycin* dengan konsentrasi 5%. Pembuatan larutan *Clindamycin* 5% yaitu dengan 2,5 gram clindamycin dalam 50 mL aquadest. Sedangkan untuk kelompok kontrol negatif menggunakan Aquades steril.

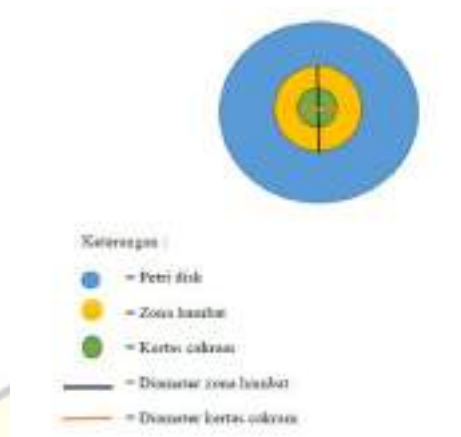
3.4.8 Pengujian Efektivitas Antibakteri

Prosedur pengujian bakteri *S.ureus* secara difusi cakram :

1. Menyiapkan sediaan *spray hand sanitizer* ekstrak etanol daun salam dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15%.
2. Di pipet suspensi bakteri uji sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam cawan petri steril kemudian ditambahkan media agar sebanyak 15 mL kedalam cawan petri, kemudian digoyang agar suspensi bakteri homogen dan didiamkan hingga media memadat.
3. kemudian kertas cakram kosong diletakkan diatas cawan petri yang berisi sediaan *spray hand sanitizer* ekstrak etanol daun salam dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% dan direndam selama 20 menit dengan pengulangan sampai kertas cakram tidak mampu menyerap cairan uji.
4. Letakkan kertas cakram yang telah direndam larutan uji di atas media.
5. Di inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.
6. Lakukan replikasi sebanyak 3 kali pada masing-masing konsentrasi.

3.4.9 Mengukur Daya Hambat

Pengukuran dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Area bening menunjukkan indikasi kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri pada *spray hand sanitizer* ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum leaves*) yang digunakan sebagai larutan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur dalam satuan mm menggunakan jangka sorong. (Ratih Purwanti dkk, 2018).



Gambar 3.1 Ilustrasi penetapan diameter zona hambatan bakteri (Purwanti dkk, 2018)

3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian efektifitas sediaan *spray hand sanitizer* ekstrak eanol daun salam (*Syzygium polyanthum leaves*) dengan menggunakan metode difusi cakram dianalisis menggunakan metode deskriptif.

3.6 Alur Penelitian

