

OPTIMASI KOMPOSISI EMULGATOR TWEEN 80 DAN SPAN 80 TERHADAP STABILITAS FISIK DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EMULGEL MINYAK ATSIRI ROSEMARI (*Rosmarinus officinalis*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

OPTIMIZATION OF TWEEN 80 AND SPAN 80 EMULGATOR COMPOSITION ON THE PHYSICAL STABILITY AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTING OF ROSEMARI ESSENTIAL OIL EMULGEL (*Rosmarinus officinalis*) AGAINST *Staphylococcus aureus*

Tansa Salima, Setyo Nurwaini*
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
*E-mail: sn164@ums.ac.id

Abstrak

Staphylococcus aureus sering diidentifikasi sebagai penyebab infeksi kulit, selain itu dapat menyebar ke berbagai organ yang dapat menyebabkan infeksi berat. Tanaman rosemari mengandung linool dan eugenol yang sudah teruji memiliki efek antibakteri pada berbagai bakteri termasuk *Staphylococcus aureus*, sehingga dapat digunakan untuk mengobati penyakit kulit yang diakibatkan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan komposisi tween 80 dan span 80 sehingga didapatkan formula emulgel yang memiliki sifat fisik dan daya antibakteri yang optimum. Evaluasi sifat fisik meliputi uji organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan daya hambat antibakteri yang diujikan pada 8 formula berbeda dengan perbandingan tween 80 dan span 80 yang bervariasi yaitu 5:1; 2:4; 1:5, 4:2 dan 3:3. Optimasi dilakukan dengan mengevaluasi sifat fisik dan daya hambat emulgel menggunakan aplikasi Design Expert versi 11.0 dengan metode Simplex Lattice Design. Setelah mendapatkan data pengujian, maka data dioptimasi sehingga didapatkan formula optimum. Selanjutnya data dianalisis dan diverifikasi menggunakan SPSS. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan one sample t-test yang memiliki taraf kepercayaan 95%. Dari hasil optimasi didapatkan perbandingan tween 80 dan span 80 adalah 4,967%:1,033%. Dari pengolahan data diperoleh nilai desirability yang diperoleh sebesar 0,309. Uji one sample t-test yang menunjukkan hasil signifikansi $p > 0,05$ artinya tidak berbeda signifikan antara nilai prediksi dan hasil verifikasi. Hasil uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan perbedaan daya hambat sebelum dan sesudah minyak atsiri rosemari diformulasi. Minyak atsiri sebelum diformulasi memiliki daya hambat sebesar 1,85 sedangkan setelah diformulasi daya hambat berkurang menjadi 1,18 cm.

Kata Kunci: rosemari, tween 80, span 80, antibakteri, Simplex Lattice Design,

Abstract

Staphylococcus aureus is often identified as the cause of skin infections, besides that it can spread to various organs which can cause severe infections. Rosemary plants contain linool and eugenol which have been tested to have antibacterial effects on various bacteria including *Staphylococcus aureus*, so they can be used to treat skin diseases caused by *Staphylococcus aureus*. This study aims to determine the comparison of the composition of tween 80 and span 80 in order to obtain an emulgel formula that has optimal physical properties and antibacterial power. Evaluation of physical properties included organoleptic tests, homogeneity, pH, viscosity, adhesion, dispersion, and antibacterial inhibitory power which were tested on 8 different formulas with varying ratios of tween 80 and span 80, namely 5:1; 2:4; 1:5, 4:2 and 3:3. Optimization was carried out with the physical properties and inhibition of the emulgel using the Design Expert application version 11.0 with the Simplex Lattice Design method. After getting the test data, the data is optimized so that the

optimum formula is obtained. Furthermore, the data were analyzed and used using SPSS. Data processing was carried out using a one sample t-test which had a 95% confidence level. From the optimization results, the comparison of tween 80 and span 80 is 4.967%:1.033%. From the data processing, the desire value obtained is 0.309. One sample t-test, which shows a significance result of $p > 0.05$, means that there is no significant difference between the prediction and the result of the lever. The results of the antibacterial test showed differences in inhibition before and before the rosemary essential oil was formulated. The essential oil before being formulated had an inhibitory power of 1.85 while after being formulated the inhibitory power was reduced to 1.18 cm.

Keywords: rosemary, tween 80, span 80, antibacterial, Simplex Lattice Design

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus paling sering diidentifikasi bertanggung jawab untuk infeksi kulit dan jaringan lunak. Infeksi jaringan dapat berkembang menjadi infeksi berat yang melibatkan otot atau tulang dan dapat menyebar ke paru-paru atau jantung katup (yaitu, endokarditis) (McCaig *et al.*, 2006). Infeksi kulit dan jaringan lunak sering terjadi dan tingkat keparahannya berkisar dari ringan, sembuh sendiri, infeksi superfisial hingga penyakit yang mengancam jiwa yang membutuhkan semua sumber daya pengobatan modern (Dryden, 2009).

Rosemari secara signifikan mengurangi pertumbuhan bakteri penyebab penyakit dan memperlambat pertumbuhan bakteri yang semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi. Mengingat pentingnya tanaman obat dan turunan metabolitnya, tanaman ini memiliki potensi ekonomi yang tinggi (Kloy *et al.*, 2020). *Rosmarinus officinalis* memiliki senyawa utama yakni α -pinene (22,85%), 1,8-cineole (19,50%) dan verbenone (13,51%). *Rosmarinus officinalis* merupakan tumbuhan herbal yang termasuk dalam famili Lamiaceae, komposisi minyak atsiri rosemari di antaranya adalah linool dan eugenol (Wibowo, 2012). Minyak atsiri berasal dari metabolisme sekunder tanaman yang terdiri dari campuran kompleks dari aromatik yang mudah menguap. Alfa-pinene merupakan salah satu komponen minyak atsiri yang memiliki aktivitas antibakteri (Eduardo *et al.*, 2017). Pinene adalah kelompok monoterpen, dan ditemukan di banyak minyak esensial tanaman. Berbagai aktivitas farmakologisnya telah dilaporkan, termasuk modulasi resistensi antibiotik, antikoagulan, antitumor, antimikroba, antimalaria, antioksidan, antiinflamasi, anti-Leishmania, dan efek analgesik (Salehi *et al.*, 2019). Menurut Duman *et al.* (2010), MIC minyak murni rosemari menunjukkan hasil bahwa eugenol memiliki zona hambat paling besar dengan diameter rata-rata 17 mm, diikuti oleh linalool dengan diameter rata-rata 10 mm, dan metil eugenol dengan diameter rata-rata: 7,7 mm terhadap semua mikroorganisme yang diujikan.

Penelitian ini menggunakan minyak atsiri yang diformulasi menjadi sediaan emulgel. Emulgel memiliki beberapa keunggulan seperti tidak berminyak, mudah menyebar, mudah dilepas, emolien dan transparan. Pembuatan emulgel dilakukan dengan metode inkorporasi. Emulgel biasanya digunakan untuk analgesik, anti inflamasi, anti jamur, obat anti jerawat dan berbagai formulasi kosmetik (Sreevidya, 2019). Emulgel adalah sistem penghantaran obat yang menjanjikan untuk penghantaran obat hidrofobik. Banyak keuntungan dari gel, namun gel memiliki keterbatasan dalam penghantaran obat hidrofobik. Salah satu cara untuk mengatasinya adalah dibuat emulgel (Phad *et al.*, 2018). Penelitian ini menggunakan tween 80 dan span 80 karena merupakan emulgator yang cocok digunakan untuk formulasi emulgel minyak atsiri. Tween 80 dan Span 80 adalah campuran surfaktan *nonionic* (Nurlaela *et al.*, 2012).

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex), timbangan, mortir, stamper, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, penangas air, viskometer RION dengan rotor nomor 2 (viskometer VT-04F), pH meter (HANNA 211), vortex, autoklaf, laminar air flow, oven sterilisasi, cawan petri, mikro pipet, jarum inoculum (ose), alumunium foil, bunsen.

Bahan yang digunakan adalah Minyak atsiri rosemary (*Rosmarinus officinalis*) dibeli pada Toko Agung Jaya di Solo pada tanggal 22 September 2021 sebanyak 100 ml disertai *Certificate of Analysis.*, *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Fakultas Farmasi UMS, DMSO (pro analisis), HPMC (teknis), parafin cair (teknis), Span 80 (teknis), propilen glikol (teknis), Tween 80 (teknis), metil paraben (teknis), propil paraben (teknis), aquadest (teknis), etanol 70% (teknis), Mueller Hinton agar (pro analisis), mannitol salt agar (pro analisis), dan NaCl (pro analisis).

Rencana Penelitian

Pembuatan Emulgel

Batas atas dan bawah untuk tween 80 dan sapan 80 ditetapkan sebesar 1% dan 5% (Tabel 1).

Tabel 1. Batas atas dan bawah emulgator emulgel minyak atsiri rosemary

Nama Bahan	Batas Bawah (%)	Batas Atas (%)
Tween 80	1	5
Span 80	1	5

Penentuan formula awal menggunakan aplikasi *Design Expert*® v.11 dengan menggunakan metode *Simplex Lattice Design* yang menghasilkan 8 run dengan perbandingan jumlah emulgator sebanyak 6% (Tabel 2).

Tabel 2. Run perbandingan Tween 80 dan Span 80 dengan Design Expert® v.11

Emulgator	Run (%)							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Tween 80	1	3	2	1	5	4	3	5
Span 80	5	3	4	5	1	2	3	1

Sediaan emulgel yang dibuat adalah tipe o/w dan formula dasar yang digunakan berasal dari penelitian sebelumnya (Daud dan Suryanti, 2017). Formulasi emulgel minyak atsiri rosemary dibuat dengan menggunakan minyak rosemary sebanyak 10% (Tabel 3).

Tabel 3. Formula emulgel minyak atsiri rosemary

Bahan	%
Minyak atsiri rosemary	10
HPMC	6,5
Parafin cair	5
Tween 80 dan Span 80	6
Propilen glikol	10
Metil paraben	0,18
Propil paraben	0,02
Aquadest	sampai 100

Emulgel minyak atsiri rosemary dibuat dalam 100 mL dengan menggunakan kombinasi emulgator Tween 80 (emulsifier) dan Span 80 (*emulsifier*) (Tabel 4).

Tabel 4. Formula emulgel minyak atsiri rosemari dengan optimasi tween 80 dan span 80

Bahan	Komposisi (%)							
	FI	FII	FIII	FIV	FV	FVI	FVII	FVIII
Minyak atsiri rosemari	10	10	10	10	10	10	10	10
HPMC	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
Parafin cair	5	5	5	5	5	5	5	5
Tween 80	1	3	2	1	5	4	3	5
Span 80	5	3	4	5	1	2	3	1
Propilen glikol	10	10	10	10	10	10	10	10
Metil paraben	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Propil paraben	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Aquadest sampai	100	100	100	100	100	100	100	100

Dalam membuat emulgel dilakukan beberapa tahap. Mula-mula dibuat fase minyak dengan mencampur propilenglikol, span 80, paraffin cair dan propil paraben dalam cawan porselen. Fase minyak dilebur pada suhu 70°C di atas penangas air sambil diaduk hingga homogen. Fase air dibuat dengan mencampurkan tween 80 dan metil paraben. Basis emulsi dibuat dengan menggabungkan fase minyak ke dalam fase air, dengan cara ditambahkan tetes demi tetes sambil terus diaduk hingga terbentuk emulsi yang homogen. Basis emulsi yang telah homogen, ditambahkan minyak atsiri rosemari, dengan cara ditambahkan tetes demi tetes sambil terus diaduk hingga campuran homogen. Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) dimasukkan ke dalam mortir kemudian ditambah sedikit demi sedikit air panas bersuhu 80 °C. Campuran kemudian didiamkan selama 20-30 menit hingga mengembang. Setelah mengembang, HPMC diaduk sampai terbentuk basis gel. Basis gel ditambahkan basis emulsi, kemudian diaduk dalam mortir hingga terbentuk emulgel yang homogen.

Karakterisasi dan Evaluasi Sediaan

Sediaan emulgel minyak atsiri yang sudah diformulasi dilakukan karakterisasi dan evaluasi sediaan untuk mengetahui sifat fisik sediaan emulgel minyak atsiri.

Uji Organoleptis

Uji organoleptik dilakukan secara visual dan dilihat secara langsung bentuk, bau, dan warna dari gel yang di buat. Gel dengan konsentrasi setengah padat, gel yang baik biasanya jernih (Ansel, 1998).

Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara sampel gel dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar.

Uji pH

Uji ini dilakukan dengan alat pH meter (HANNA 211) yang sebelumnya telah dikalibrasi. Pengujian dilakukan dengan cara mencelupkan elektroda khusus sediaan semi solid pada

formula gel. Sebanyak 20 gram sediaan dimasukkan dalam beker glass. Pengujian dengan pH meter dilakukan sebanyak 3 kali pengukuran untuk tiap formula.

Uji Viskositas

Uji viskositas emulgel dilakukan dengan menyiapkan sampel dalam rion VT-04F viskometer sampai spindel terendam. Spindel dan kecepatan yang akan digunakan kemudian diatur. Viskometer rion VT04F dijalankan, maka viskositas gel akan terbaca (Herdianty, 2020).

Uji Daya Lekat

Emulgel ditimbang sebanyak 0,5 g, kemudian dipindahkan pada plat kaca dengan luas 2,5 cm². Masing-masing sisi plat saling dilekatkan sampai plat menyatu. Pemberat seberat 1 kg diletakkan di atas plat selama 5 menit. Setelah itu digunakan beban seberat 80 g untuk memisahkan plat kaca sebagai uji daya lekat. Plat diukur lama waktu hingga plat yang awalnya saling menempel mejadi terpisah satu sama lain. Pengujian daya lekat tiap formula dilakukan replikasi sebanyak tiga kali (Voigt, 1984).

Uji Daya Sebar

Gel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan ditengah kaca bulat berskala. Di atas gel diletakkan kaca bulat lain atau bahan transparan lain dan pemberat sehingga berat kaca bulat dan pemberat 150 gram, didiamkan selama 1 menit, kemudian dicatat diameter penyebarannya. Daya sebar gel yang baik antara 5-7cm (Sayuti, 2015).

Uji Antibakteri

Kultur bakteri disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2 mL larutan NaCl 0,9 %. Suspensi diencerkan atau bisa juga dikeruhkan hingga didapatkan kekeruhan yang sesuai dengan standar kekeruhan yang digunakan, yakni standar McFarland (Ngajow *et al.*, 2013). Standar McFarland yang digunakan untuk kultur bakteri adalah 0,5 (Velasco *et al.*, 2005). Standar McFarland ini digunakan untuk memprediksi jumlah bakteri dalam suspensi, agar kultur bakteri yang dihasilkan tumbuh dengan kerapatan yang sesuai yakni tidak terlalu rapat atau renggang. Suspensi bakteri dipipet sebanyak 100 mikroliter dan diteteskan di atas cawan petri berisi media mueller hinton dan disebar menggunakan gelas penyebar bakteri. *Cork borer* (diameter 7 mm) digunakan untuk membuat sumuran pada cawan agar yang sudah berisi inokulum. Kemudian, 100 mg dari masing-masing emulgel ditambahkan ke masing-masing sumur (Gonelimali *et al.*, 2018). Petri diletakkan dengan posisi tidak dibalik kemudian dimasukkan ke dalam inkubator yang telah diatur suhunya menjadi 37°C untuk diinkubasi selama 24 jam. Setelah inkubasi semalam, diameter zona hambat yang terbentuk dapat diukur (Debalke *et al.*, 2018). Kontrol positif yang digunakan adalah gel Clindamysin 1%. Pengujian daya hambat minyak atsiri rosmari murni 10% juga dilakukan untuk mengetahui perbedaan diameter hambat sebelum dan sesudah diformulasi menjadi emulgel.

Analisis Data

Pendekatan Formula Optimum

Data yang diperoleh meliputi hasil pengujian organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya lekat, daya sebar pada formula emulgel minyak atsiri rosemary. Data berupa angka dirata-rata. Hasil tersebut selanjutnya dianalisa menggunakan aplikasi Design Expert metode Simplex Lattice Design. Aplikasi Design Expert metode Simplex Lattice Design akan menunjukkan nilai optimum yang didapatkan.

Pendekatan Statistik

Analisis statistik terhadap data hasil pengujian kelima sediaan emulgel minyak atsiri rosemary dilakukan menggunakan software Design Expert metode Simplex Lattice Design. Hasil prediksi

diverifikasi dan dianalisis menggunakan one sample t-test dengan software SPSS dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Formula Emulgel

Tabel 5. Hasil evaluasi pengujian formula sediaan emulgel minyak atsiri rosemary

Formula (T:S)	Organoleptis			Homogenitas	pH	Viskositas (dPas)	Daya lekat (detik)	Daya sebar (cm)	Daya hambat (cm)
	Warna	Bau	bentuk						
I (1:5)	Putih tulang	Khas	Kental	Homogen	4,14 ± 0	100 ± 0	0,52 ± 0,161	4,83 ± 0,362	1,33 ± 0,144
II (3:3)	Putih tulang	Khas	Kental	Homogen	3,82 ± 0,0	400 ± 0	0,86 ± 0,202	5,12 ± 0,176	1,33 ± 0,126
III (2:4)	Putih tulang	Khas	Kental	Homogen	4,05 ± 0,0	150 ± 0	0,80 ± 0,050	4,90 ± 0,218	0,90 ± 0,173
IV (1:5)	Putih tulang	Khas	Kental	Homogen	4,13 ± 0,0	100 ± 0	0,58 ± 0,134	4,80 ± 0,132	0,92 ± 0,797
V (5:1)	Putih tulang	Khas	Kental	Homogen	4,06 ± 0,0	350 ± 0	1,71 ± 0,340	4,37 ± 0,126	1,05 ± 0,087
VI (4:2)	Putih tulang	Khas	Kental	Homogen	3,85 ± 0,0	500 ± 0	0,88 ± 0,231	4,57 ± 0,058	1,43 ± 0,029
VII (3:3)	Putih tulang	Khas	Kental	Homogen	3,82 ± 0,0	400 ± 0	0,82 ± 0,237	5,12 ± 0,284	1,43 ± 0,076
VIII (5:1)	Putih tulang	Khas	Kental	Homogen	4,06 ± 0,0	350 ± 0	1,96 ± 0,707	4,32 ± 0,202	1,07 ± 0,076

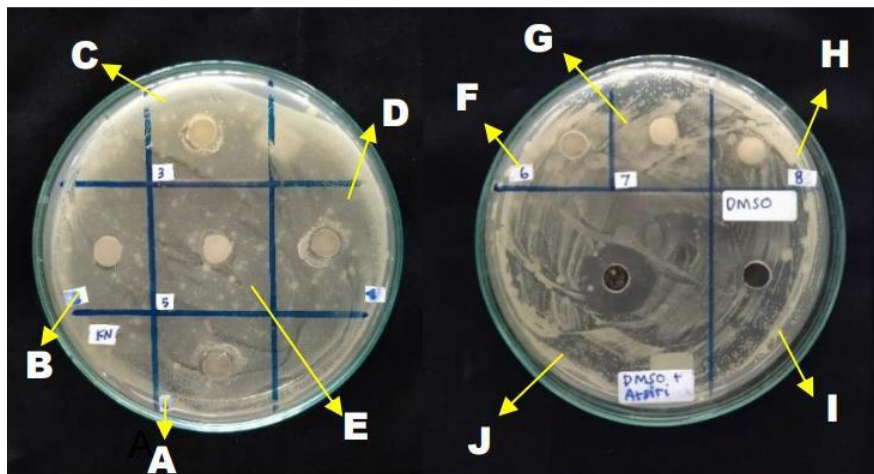
Data menunjukkan bahwa semua formula memiliki hasil uji organoleptis yang sama yakni memiliki warna putih tulang, memiliki bau khas minyak atsiri rosemary dan memiliki bentuk yang kental (Tabel 5). Semua formula terdistribusi secara homogen, tidak ditemukan gumpalan atau butiran kasar dalam formula emulgel. Semakin baik proses pembuatan emulgel maka semakin homogen formula karena seluruh bahan tercampur merata. Homogenitas formula dapat memengaruhi kehomogenan zat aktif dan juga dapat memengaruhi kenyamanan pengguna sediaan. Nilai pH kulit telah dilaporkan dalam literatur memiliki rentang berkisar dari pH 4,0 hingga 7,0 (Lambers *et al.*, 2006). Menurut Danimayostu (2017), pH sediaan topikal yang baik adalah 4-8 karena masih masuk rentang pH kulit. Berdasarkan hasil uji pH, terdapat perbedaan pH yang tidak signifikan dengan rentang pH 3,82-4,14 (Tabel 5). Formula memiliki pH yang mendekati asam namun masih masuk rentang yang aman digunakan pada kulit. Dari data yang diperoleh dapat dilihat bahwa perbandingan tween 80 dan span 80 yang berbeda menghasilkan pH yang bervariasi.

Syarat viskositas gel yang baik adalah 2000 cP - 4000 cP atau setara dengan 200 dPa.s - 400 dPa.s (Sarlina *et al.*, 2017). Viskositas diuji dengan viskometer RION dengan rotor nomor 2 (viskometer VT-04F). Berdasarkan hasil uji viskositas menunjukkan terdapat 4 formula yang masuk dalam rentang viskositas yang baik yakni formula V, VIII dengan viskositas 350 dPa.s dan formula II VII dengan viskositas 400 dPa.s. Hasil uji viskositas menunjukkan bahwa perbandingan tween 80 dan span 80 yang berbeda menyebabkan viskositas tiap formula juga berbeda (Tabel 5). Jumlah tween 80 yang semakin banyak memiliki viskositas yang umumnya lebih tinggi daripada formula dengan kandungan span 80 yang lebih banyak.

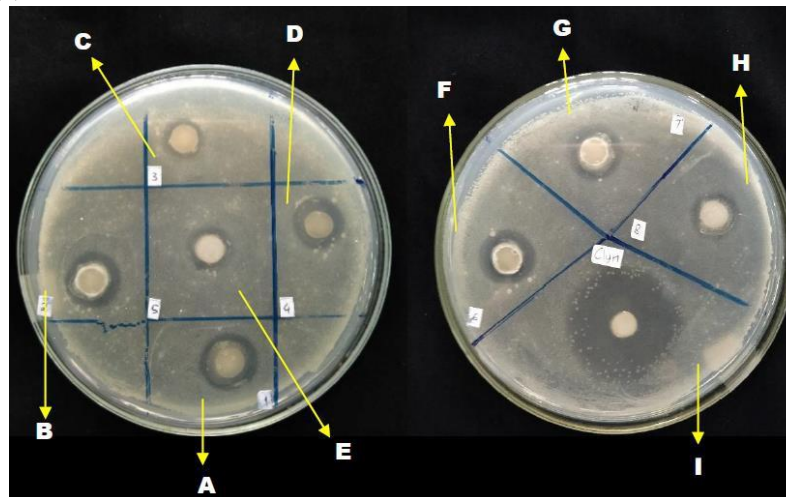
Daya lekat gel yang baik adalah lebih dari 1 detik (Voigt, 1984). Semakin lama daya lekat maka semakin baik sediaan bisa bertahan di kulit sehingga dapat memberikan efek terapi yang lebih optimal. Berdasarkan hasil uji daya lekat, menunjukkan bahwa perbandingan tween 80 dan span 80 yang berbeda menyebabkan daya lekat tiap formula juga berbeda. Data

menunjukkan daya lekat berbanding lurus dengan jumlah tween 80, semakin banyak tween 80 maka semakin meningkat pula daya lekat emulgel. Daya lekat memiliki hubungan dengan viskositas yakni semakin besar viskositas maka semakin besar pula daya lekat. Data hasil uji daya lekat cenderung berbanding lurus dengan viskositas (Tabel 5).

Sediaan gel yang baik memiliki daya sebar antara 5-7 cm (Sayuti, 2015). Semakin luas daya sebar maka semakin mudah sediaan diratakan di kulit. Berdasarkan hasil uji daya sebar, menunjukkan bahwa perbandingan tween 80 dan span 80 yang berbeda menyebabkan daya sebar tiap formula juga berbeda (Tabel 5). Span 80 yang semakin banyak memiliki daya sebar yang umumnya lebih tinggi daripada formula dengan kandungan tween 80 yang lebih banyak. Daya sebar memiliki hubungan dengan viskositas yakni semakin besar viskositas maka semakin kecil.



Gambar 1. Hasil uji daya hambat kontrol negatif formula I (A), kontrol negatif formula II (B), kontrol negatif formula III (C), kontrol negatif formula IV (D), kontrol negatif formula V (E), kontrol negatif formula VI (F), kontrol negatif formula VII (G), kontrol negatif formula VIII (H), DMSO (I), dan atsiri rosemary 10% (J)



Gambar 2. Hasil uji daya hambat formula I (A), formula II (B), formula III (C), formula IV (D), formula V (E), formula VI (F), formula VII (G), formula VII (H), dan gel clindamycin 1% (I)

Uji daya hambat digunakan untuk mengukur kekuatan suatu zat aktif dalam menghambat bakteri tertentu. Penelitian ini menguji apakah minyak atsiri rosemary masih memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* setelah diformulasikan menjadi sediaan emulgel. Penelitian ini juga menguji apakah perbedaan konsentrasi emulgator dapat

memengaruhi daya hambat, apabila minyak atsiri rosemary tersebut masih memiliki daya hambat setelah diformulasikan menjadi emulgel. Berdasarkan hasil uji daya hambat bakteri, menunjukkan bahwa minyak atsiri rosemary yang diformulasikan menjadi sediaan emulgel masih memiliki aktivitas antibakteri, namun aktivitas antibakteri tersebut mengalami penurunan yang signifikan. Minyak atsiri sebelum diformulasikan menjadi emulgel memiliki rata-rata daya hambat sebesar 1,85 cm, setelah diformulasikan rata-rata daya hambat yang dihasilkan menjadi 1,18 cm (Gambar 1 dan 2). Hal ini dapat disebabkan berbagai faktor, salah satunya minyak atsiri yang menguap selama proses penelitian atau ada bahan tambahan dalam emulgel yang ternyata dapat menurunkan sifat antibakteri minyak atsiri tersebut. Daya hambat berubah seiring dengan perubahan konsentrasi tween 80 dan span 80. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah gel clindamycin 1%, dengan rata-rata diameter hambat yang terbentuk sebesar 3,13 cm (Tabel 5).

Analisis Simplex Lattice Design

Formula optimum dianalisis dengan mengatur goal, kriteria dan *importance* pada saat menggunakan metode *Simplex Lattice Design*.

Tabel 6. Pengaturan parameter untuk penetapan formula optimum emulgel minyak atsiri rosemary

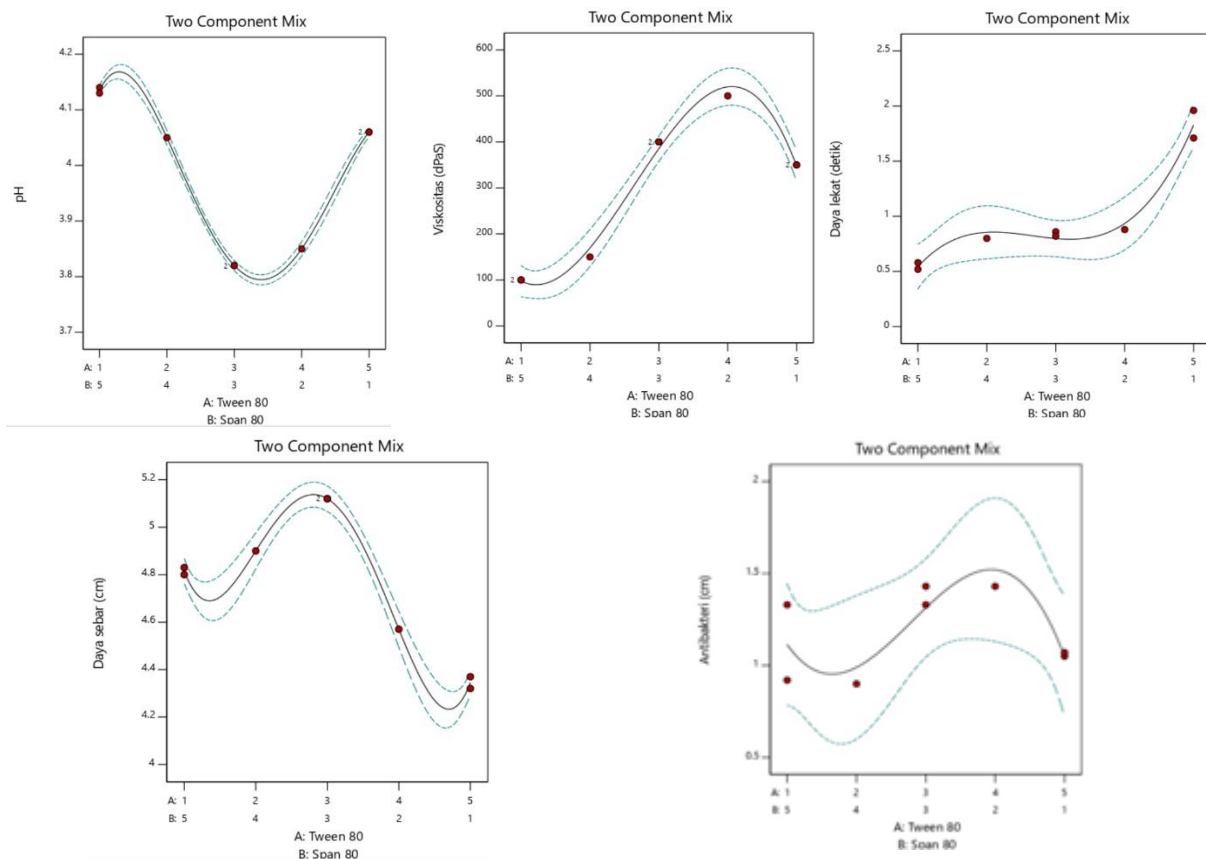
Parameter	Goal	Kriteria	Importance
pH	maximize	4-5	+++
Viskositas	In range	200-400 dPa.s	+++
Daya lekat	maximize	1-2 detik	+++
Daya sebar	maximize	3-5,12 cm	+++
Daya hambat	maximize	0,9-1,43 cm	+++

Goal pada uji pH dipilih *maximize* dengan kriteria pH 4-5. Pemilihan kriteria didasarkan pada pH tertinggi formula dan pH kulit manusia. *Goal* pada uji viskositas dipilih *in range* dengan kriteria viskositas 200-400 dPa.s karena disesuaikan dengan hasil viskositas namun tetap masih masuk range viskositas emulgel yang baik, sehingga sediaan emulgel memiliki tekstur yang baik. *Goal* daya lekat dipilih *maximize* dengan kriteria 1-2 detik sesuai dengan syarat sediaan topikal yang baik, yakni memiliki daya lekat minimal 1 detik. *Goal* daya sebar dipilih *maximize* dengan kriteria diameter 3-5,12 cm sesuai dengan rentang hasil uji dari delapan formula dan standar daya sebar yang baik yakni 5-7 cm. *Goal* daya hambat bakteri dipilih *maximize* dengan kriteria diameter 0,9-1,43. Pemilihan kriteria daya hambat bakteri ini didasarkan pada rentang diameter hambat yang dihasilkan delapan formula. Pada uji minyak atsiri murni 10% didapatkan zona hambat sebesar 3,7 cm, sedangkan pada optimasi daya hambat menunjukkan zona sebesar 1,081 cm. Pengaturan kolom *importance* tiap uji dibuat sama, hal ini dikarenakan semua sifat yang diuji memiliki peran penting pada formula emulgel.

Tabel 7. Hasil persamaan Simplex Lattice Design pada respon uji emulgel minyak atsiri rosemary

Respon	Persamaan Simplex Lattice Design	Model
pH	$Y = 4,06A + 4,13B - 1,11AB - 0,867AB(A-B) + 1,29AB(A-B)^2$	Quartic
Viskositas	$Y = 347,55A + 97,55B + 650,98AB + 1200,00AB(A-B)$	Cubic
Daya Lekat	$Y = 1,83A + 0,5431B - 1,55AB - 3,00AB(A-B)$	Cubic
Daya Sebar	$Y = 4,34A + 4,81B + 2,16AB - 0,5067AB(A-B) - 5,33AB(A-B)^2$	Quartic
Daya Hambat	$Y = 1,05A + 1,11B + 0,9255AB + 3,00AB(A-B)$	Cubic

Berdasarkan persamaan hasil uji pH menunjukkan bahwa yang paling mempengaruhi hasil pH adalah span 80, kemudian saat tween 80 dan span 80 dikombinasikan dapat meningkatkan pH dilihat dari nilai koefisien yang negatif (Tabel 7). Hasil uji viskositas menunjukkan bahwa yang paling mempengaruhi hasil viskositas adalah tween 80, kemudian saat tween 80 dan span 80 dikombinasikan dapat meningkatkan viskositas dilihat dari nilai koefisien yang positif. Hasil uji daya lekat menunjukkan bahwa yang paling mempengaruhi hasil daya lekat adalah tween 80, kemudian saat tween 80 dan span 80 dikombinasikan dapat menurunkan daya lekat dilihat dari nilai koefisien yang negatif. Hasil uji daya sebar menunjukkan bahwa yang paling mempengaruhi hasil daya sebar adalah span 80, kemudian saat tween 80 dan span 80 dikombinasikan dapat meningkatkan daya sebar dilihat dari nilai koefisien yang positif. Hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa yang paling mempengaruhi hasil daya hambat adalah span 80, kemudian saat tween 80 dan span 80 dikombinasikan dapat meningkatkan daya hambat dilihat dari nilai koefisien yang positif.



Gambar 3. Grafik respon sifat fisik dan antibakteri emulgel minyak atsiti rosemarikombinasi tween 80 dengan span 80

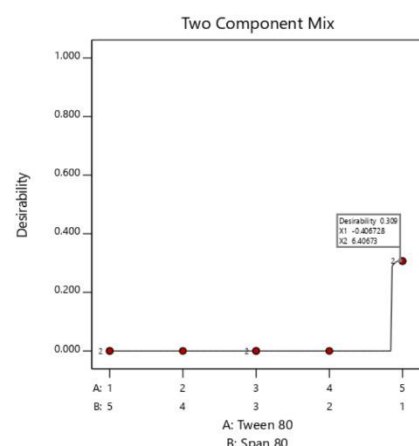
Penelitian ini menghasilkan nilai *lack of fit* yang berbeda-beda pada tiap respon. Nilai *lack of fit* yang diharapkan adalah yang tidak signifikan, karena *lack of fit* yang tidak signifikan menunjukkan bahwa data memiliki kesesuaian antara prediksi dan verifikasi (Keshani *et al.*, 2010). Berdasarkan hasil optimasi didapatkan *lack of fit* daya lekat dan daya hambat yang tidak signifikan maka dapat dikatakan bahwa formula replikasi memberikan hasil mendekati

data respon daya lekat dan daya hambat yang diperoleh. Selain itu yang perlu dilihat dari hasil optimasi adalah hasil anova.

Penelitian ini menghasilkan nilai *p-value* anova yang berbeda-beda pada tiap respon. Nilai *anova* yang diharapkan adalah yang signifikan. Uji anova semua respon menghasilkan persamaan yang signifikan kecuali pada respon daya hambat bakteri. Hasil respon pH, viskositas, daya lekat, daya sebar, daya hambat diperoleh *p-value* berturut-turut sebesar 0,0001; 0,0001; 0,0009; 0,0003; 0,1834. *P-value* <0,05 yang memiliki makna persamaan yang dihasilkan signifikan dalam mempresentasikan pola sebaran data respon pH, viskositas, daya lekat dan respon daya sebar.

Hasil Optimasi Formula

Berdasarkan hasil analisis optimasi didapatkan formula optimum tween 80 4,967% dan span 80 1,033%. Kemudian dari perbandingan formula optimum tersebut diperoleh prediksi pH yakni 4,055; viskositas 360,283 dPa.s; daya lekat 1,781 detik; daya sebar 4,321 cm; daya hambat 1,081 cm dan didapatkan nilai *desirability* sebesar 0,309. *Simplex lattice design* digunakan untuk mempelajari efek komponen campuran pada respon variabel. *Desirability* menunjukkan seberapa terpenuhi atau mendekati titik optimum. Nilai *desirability* berkisar dari 0-1, namun titik optimum yang baik akan memiliki *desirability* yang tinggi atau mendekati 1 (Montgomery, 2013).



Gambar 4. Hasil optimasi (nilai desirability) tween 80 dan span 80 pada emulgel minyak atsiri rosemary

Hasil uji verifikasi pH, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan daya hambat formula optimum yaitu 4,058; 350 dPa.s; 1,835 detik; 4,342 cm dan 1,058. Setelah diverifikasi selanjutnya dianalisis secara statistik dengan SPSS *one sample t-test*.

Hasil Uji Statistik Menggunakan Aplikasi SPSS One Sample T-Test

Data verifikasi formula optimum diuji normalitas untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal jika sudah selanjutnya dilakukan uji statistik. Uji statistik dilakukan dengan membandingkan hasil prediksi dengan hasil verifikasi tiap pengujian formula emulgel minyak atsiri rosemary.

Hasil statistik uji SPSS *one sample t-test* menunjukkan sebagian besar formula yang diuji memiliki signifikansi $p > 0,05$ kecuali pada daya lekat. Berdasarkan hasil tersebut maka

sebagian besar nilai prediksi dengan nilai verifikasi tidak memiliki perbedaan yang signifikan, hal ini menunjukkan bahwa optimasi formula yang dilakukan dapat memprediksi uji pH, daya lekat, daya sebar, dan daya hambat dengan baik.

Tabel 8. Hasil uji statistik *one sample t-test* emulgel minyak atsiri rosemary

Parameter	Prediksi	Verifikasi	Signifikansi	Keterangan
pH	4,055	4,058	0,212	Tidak berbeda signifikan
Viskositas (dPa.s)	360,28	350	0,014	Berbeda signifikan
Daya lekat (detik)	1,781	1,835	0,224	Tidak berbeda signifikan
Daya sebar (cm)	4,321	4,342	0,752	Tidak berbeda signifikan
Antibakteri (mm)	10,81	10,58	0,242	Tidak berbeda signifikan

KESIMPULAN

Sediaan emulgel minyak atsiri rosemary (*Rosmarinus officinalis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Zona hambat yang terbentuk lebih kecil dibandingkan dengan minyak atsiri rosemary sebelum diformulasi. Tween 80 dan span 80 dalam formulasi emulgel dapat mempengaruhi sifat fisik dan sifat antibakteri sediaan emulgel. Tween 80 dan span 80 dapat menghasilkan sifat fisik optimum dengan tween 80 4,967% dan span 80 1,033%. Pada hasil analisis dengan SPSS *one sample t-test* pH, daya lekat, daya sebar, dan daya hambat menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara prediksi optimasi dengan verifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel H., 1998, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, edisi ke-4., UI Press, Jakarta.
- Danimayostu et al, 2017, Pengaruh Penggunaan Pati Kentang (*Solanum tuberosum*) Termodifikasi Asetilasi-Oksidasi Sebagai Gelling Agent Terhadap Stabilitas Gel Natrium Diklofenak, *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 3 (1), 25–32.
- Daud N.S. dan Suryanti E., 2017, Formulasi Emulgel Antijerawat Minyak Nilam (*Patchouli oil*) Menggunakan Tween 80 dan Span 80 sebagai Pengemulsi dan HPMC sebagai Basis Gel, *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 3 (02), 90–95.
- Debalke D., Birhan M., Kinubeh A. dan Yayeh M., 2018, Assessments of Antibacterial Effects of Aqueous-Ethanollic Extracts of *Sida rhombifolia*'s Aerial Part, *Scientific World Journal*, 2018
- Dryden M.S., 2009, Skin and soft tissue infection: microbiology and epidemiology, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 34 (SUPPL. 1), S2–S7. Terdapat di: [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(09\)70541-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(09)70541-2).
- Duman A.D., Telci I., Dayisoylu K.S., Digrak M., Demirtas I. dan Alma M.H., 2010, Natural Product Communications: Editorial, *Natural Product Communications*, 9 (8)
- Eduardo L.D.S., Farias T.C., Silva G.N.D., Lopes F.P.D.S. dan Ferreira S.B., 2017, MDPI MOL2NET, International Conference Series on Multidisciplinary Sciences Employment of hyphenated approach for metabolomics fingerprinting of phenolics from *Torilis leptophylla* roots, (November 2017), 3. Terdapat di: <http://sciforum.net/conference/mol2net-03>.
- Gonelimali F.D., Lin J., Miao W., Xuan J., Charles F., Chen M. dan Hatab S.R., 2018, Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms, *Frontiers in Microbiology*, 9 (JUL), 1–9.

- Herdianty J., 2020, Test the burn healing activity of the ethanolic extract cream of pineapple leaves (*Ananas comosus* M) on the skin of the backs of male rats, , 2 (1), 33–40.
- Keshani S., Luqman Chuah A., Nourouzi M.M., Russly A.R. dan Jamilah B., 2010, Optimization of concentration process on pomelo fruit juice using response surface methodology (RSM), *International Food Research Journal*, 17 (3), 733–742.
- Kloy A., Ahmad J., Yusuf U., and Muhammad M., 2020, Antibacterial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), *South Asian Research Journal of Pharmaceutical Sciences*, 02 (01), 4–7.
- Lambers H., Piessens S., Bloem A., Pronk H. dan Finkel P., 2006, Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora, *International Journal of Cosmetic Science*, 28 (5), 359–370.
- McCaig L.F., McDonald L.C., Mandal S. dan Jernigan D.B., 2006, *Staphylococcus aureus*-associated skin and soft tissue infections in ambulatory care, *Emerging Infectious Diseases*, 12 (11), 1715–1723.
- Montgomery D.C., 2013, *Design and Analysis of Experiments Eighth Edition*. Arizona State University,
- Ngajow M., Abidjulu J. dan Kamu V.S., 2013, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro, *Jurnal MIPA*, 2 (2), 128.
- Nurlaela E., Sugihartini N. dan Ikhsanudin A., 2012, Optimasi Komposisi Tween 80 dan Span 80 Sebagai Emulgator Dalam Repelan Minyak Atsiri Daun Sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf) Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti* Betina Pada Basis Vanishing Cream Dengan Metode Simplex Lattice Design, *Pharmaciana*, 2 (1)
- Phad A.R., Dilip N.T. dan Ganapathy R.S., 2018, Emulgel: A comprehensive review for topical delivery of hydrophobic drugs, *Asian Journal of Pharmaceutics*, 12 (2), S382–S393.
- Salehi B., Upadhyay S., Orhan I.E., Jugran A.K., Baghalpour N., Cho W.C. dan Sharifi-rad J., 2019, Therapeutic Potential of α - and β -Pinene_A *Miracle*, 1–34.
- Sarlina S., Razak A.R. dan Tandah M.R., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Daun Sereh (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Jerawat, *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 3 (2), 143–149.
- Sayuti N., 2015, Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.), *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5 (2), 74–82.
- Sreevidya V.S., 2019, An Overview on Ebola, *Global Dermatology*, 2 (1), 92–97.
- Velasco D., del Mar Tomas M., Cartelle M., Beceiro A., Perez A., Molina F., Moure R., Villanueva R. dan Bou G., 2005, Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55 (3), 379–382.
- Voigt R., 1984, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, 5 ed. Moch. Samhoedi Reksohadiprodjo, ed., Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wibowo A., 2012, Minyak Atsiri dari Daun Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Sebagai Insektisida Alami Melalui Metode Hidrodestilasi, *Sains dan Seni*, 1 (1), 1–4.