

Formulasi, Uji Stabilitas Fisik, dan Uji Aktivitas Secara *In Vitro* Sediaan *Spray* Antibau Kaki yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Formulation, physical stability, and in vitro activity test of foot odor spray with betel leaf ethanol extract (Piper betle L.)

Raditya Iswandana^{1*}, Lidya KM Sihombing¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

Email : raditya@farmasi.ui.ac.id; *corresponding author

Abstrak

Daun sirih telah lama terbukti dan banyak digunakan di Indonesia untuk aktivitas antibakterinya. Ekstrak etanol 80% daun sirih memiliki kompatibilitas tinggi untuk dijadikan produk farmasi, termasuk sediaan semprot (*spray*). Pada tahun 2014, *American Podiatric Medical Association*, mempelajari peningkatan prevalensi bau kaki yang signifikan pada masyarakat. Salah satu alasan bau kaki disebabkan oleh bakteri, terutama oleh *Bacillus subtilis*. Penelitian ini difokuskan untuk menciptakan produk farmasi dengan sifat antibakteri kuat yang dapat menunjukkan *minimum bactericidal concentration* (MBC) terhadap bakteri penyebab bau kaki. Produk semprot (*spray*) dipilih karena menyenangkan bagi pengguna. Penelitian ini menguji berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun sirih 80%, untuk mempelajari aktivitas antibakterinya. Selain itu, pengujian stabilitas fisik pada penyimpanan 8 minggu dalam tiga suhu berbeda; suhu kamar (28 ± 2 °C), suhu tinggi (40 ± 2 °C), dan suhu rendah (4 ± 2 °C), juga dilakukan. Semua formula stabil secara fisik yang didasarkan pada parameter organoleptik. Ekstrak etanol 80% daun sirih dalam Formula 3 menunjukkan *minimum bactericidal concentration* (MBC) di daerah 2 mm, dengan formula yang mengandung ekstrak ethanolic ≥ 2 mg/ml.

Abstract

Betel leaf has long been proven and widely used in Indonesia for its antibacterial activities. Betel leaf 80% ethanolic extract has high compatibility to be made as a widely used pharmaceutical product, including spray. In 2014 American Podiatric Medical Association, studied a significant increase of foot odor prevalence between our citizens. One of the reasons of foot odor is caused by bacteria, mostly by *Bacillus subtilis*. This study focused on creating a pharmaceutical product with a strong antibacterial that showed minimum bactericidal concentration (MBC) towards bacteria that caused foot odor. Spray product was chosen because of the great pleasant experience for the user. The study tested various concentrations of betel leaf 80% ethanolic extract, to study its antibacterial activity. Furthermore, stability testing towards its physical property on 8-week storage in three different temperature; room temperature (28 ± 2 °C), high temperature (40 ± 2 °C), and low temperature (4 ± 2 °C), was also conducted. All formulae showed great physical stability profile on organoleptic parameters. Betel leaf 80% ethanolic extract, in the Formula 3 showed minimum bactericidal concentration (MBC) in 2 mm area with the Formula that contained ≥ 2 mg/ml ethanolic extract.

Keywords: antibacterial; anti-foot odor; *Piper betle* L.; ethanolic extract; spray

PENDAHULUAN

Bau kaki adalah masalah yang sangat mengganggu penampilan. Hal ini menyebabkan banyak orang menjadi kurang percaya diri saat menggunakan sepatu, terutama sepatu tertutup. Pada tahun 2014 *American Podiatric Medical Association* (APMA) melakukan survei terhadap 1021 manusia dewasa (berusia 18 tahun atau lebih) terkait masalah di kaki dan menemukan berbagai hasil menarik. Sejak tahun 2010, bagian kaki masih menjadi bagian yang kurang diperhatikan oleh masyarakat Amerika. Namun, bertentangan dengan hal tersebut, delapan dari 10 orang Amerika mengaku mengalami permasalahan dengan kaki. (*American Podiatric Medical Association*, 2014).

Produk antibau kaki yang sudah beredar saat ini di antaranya terdapat sabun anti bakteri, serbuk untuk merendam kaki, *anti prespirant*, krim, serbuk antibau kaki. Namun, sediaan-sediaan yang telah disebutkan tersebut belum dijual bebas di Indonesia, bahkan walaupun produk tersebut ada di Indonesia, harganya mahal dan sulit untuk dijangkau.

Berdasarkan pemahaman tersebut, dilakukanlah penelitian dengan tujuan untuk menciptakan produk antibakteri yang dapat mengendalikan bau kaki dalam bentuk *spray*. Bentuk *spray* dipilih atas dasar sifat *spray* yang dapat memberikan suatu kandungan yang konsentrat, namun di saat yang bersamaan memiliki profil yang cepat

kering sehingga memberikan pengalaman yang menyenangkan dan mudah dipakai untuk pengguna (pasien). Kemudian, untuk meningkatkan berbagai keuntungan, dan tepat sasaran dalam mengatasi keadaan yang terjadi, diperlukan suatu produk dengan zat aktif yang mudah ditemui dan murah, yakni daun sirih. Kemampuan antibakteri produk didapatkan dari ekstrak etanol 80% daun sirih yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang amat baik sebagai bakteriostatik karena terdapat tanin, flavonoid, kavikol, dan kavibetol (Scalbert, 1991).

METODE

Ekstrak etanol 80% daun sirih (*Piper betle* L.) (Balitro, Indonesia), asam askorbat (Brataco, Indonesia), gliserin (Brataco, Indonesia), isopropil alkohol (Brataco, Indonesia), mentol (Brataco, Indonesia), propilen glikol (Brataco, Indonesia), pewangi lemon (Brataco, Indonesia), Tween 80 (Brataco, Indonesia), aqua demineralisata (Brataco, Indonesia), *Bacillus subtilis* (FKUI, Indonesia), NaCl 0.9% (Sigma Aldrich, USA), media TSA (Sigma Aldrich, USA).

Pembuatan ekstrak etanol 80% daun sirih

Ekstrak etanol 80% daun sirih yang diharapkan merupakan ekstrak kental. Ditimbang serbuk simplisia sebanyak 500 gr, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya, ditambahkan pelarut etanol 80% sampai serbuk simplisia terendam seluruhnya.

Wadah erlenmeyer tersebut kemudian ditutup, dan dilakukan maserasi selama 2-3 jam sambil sesekali diaduk. Ekstrak yang telah diekstraksi, kemudian didiamkan selama 24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring sampai didapatkan filtrat. Filtrat yang terdapat kemudian disaring kembali dengan menggunakan kertas saring. Selanjutnya, kembali dimaserasi kembali sampai warna tampak lebih pucat. Filtrat yang didapatkan kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* (Buchi, Jerman) sampai didapatkan ekstrak kental (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Seluruh proses ekstraksi dilakukan pada suhu ruang.

Formulasi *spray* daun sirih

Formula *spray* dapat dilihat pada Tabel 1. Pada tahap pertama, karbopol 940 didispersikan di dalam sejumlah air dengan *homogenizer* (Multimix, Malaysia) kecepatan 1200 rpm. Pada wadah terpisah, NaOH dilarutkan

dengan air. Pada tahap berikutnya, campuran karbopol 940 dengan air yang sebelumnya sudah terbentuk dicampurkan dengan NaOH. Selanjutnya, ke dalam larutan ini, ditambahkan propilen glikol sambil diaduk hingga homogen. Kemudian, ditambahkan vitamin C, kemudian diaduk sampai homogen (campuran A).

Pada wadah terpisah, ekstrak etanol 80% daun sirih dilarutkan secukupnya ke dalam isopropil alkohol. Setelah ekstrak etanol daun sirih larut, ditambahkan 5 g mentol dan dihomogenisasi hingga homogen. Kemudian, 1 ml gliserin ditambahkan dan dihomogenisasi hingga bercampur, selanjutnya ditambahkan pewangi dan dihomogenkan hingga bercampur (campuran B).

Campuran B ditambahkan ke dalam campuran A, keduanya dihomogenkan hingga benar-benar bercampur. Selanjutnya, ditambahkan *solubilizing agent*, yaitu Tween 80.

Tabel 1. Formula *spray*

Bahan	Konsentrasi (% b/v)			
	Kontrol	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Ekstrak daun sirih	-	0,05	0,1	0,2
Asam askorbat	0,2	0,2	0,2	0,2
Gliserin	0,2	0,2	0,2	0,2
Isopropil alkohol	25	25	25	25
Mentol	1	1	1	1
Propilen glikol	5	5	5	5
Karbopol 940	0,06	0,06	0,06	0,06
NaOH	0,024	0,024	0,024	0,024
Pewangi lemon	1,5	1,5	1,5	1,5
Tween 80	4,3	4,3	4,3	4,3
Aqua demineralisata	ad. 100	ad. 100	ad. 100	ad. 100

Evaluasi

Pengamatan organoleptis. Sediaan diamati bau, warna, dan aroma secara kualitatif.

Pengukuran derajat keasaman (pH).

Uji pH dilakukan menggunakan pH meter (Eutech Instrument, Singapura). Mula-mula elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan pH 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sediaan. Nilai pH yang muncul di layar dicatat. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang.

Pengukuran viskositas dan sifat alir.

Digunakan viskometer stormer (RH Tech, Jerman). Viskometer ini memungkinkan terbentuknya ruang antara mangkuk dan rotor, serta dibiarkan hingga mencapai kesetimbangan temperatur. Beban dipasangkan di penggantung, kemudian waktu yang diperlukan bagi rotor untuk mencapai 100 kali putaran dicatat. Data ini kemudian diubah ke dalam bentuk rpm, kemudian prosedur dilakukan berulang. Reogram akan terbentuk, yakni plot rpm versus beban yang ditambahkan. Dengan konstanta yang sesuai, nilai rpm akan diubah menjadi laju geser yang sesungguhnya dalam satuan satu per detik (Sinko, 2013). Pengukuran viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan ke-8.

Cycling test. Sampel *spray* disimpan pada suhu 4 °C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu 40 ± 2 °C selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus kemudian dilakukan pengamatan

organoleptis (perubahan warna, bau, dan sineresis).

Uji stabilitas pada suhu rendah. Sampel *spray* disimpan pada suhu rendah (4 ± 2° C) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, dan sineresis), pengukuran pH, dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

Uji stabilitas pada suhu ruang. Sampel *spray* disimpan pada suhu kamar (28 ± 2 °C) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, dan sineresis), pengukuran pH, dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

Uji stabilitas pada suhu tinggi. Sampel *spray* disimpan pada suhu tinggi (40 ± 2 °C) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, dan sineresis), pengukuran pH, dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

Uji penentuan diameter zona hambat bakteri

Metode didasarkan pada difusi cakram, terhadap bakteri uji *Bacillus subtilis*. Pertama-tama, disiapkan biakan mikroba yang berumur 24 jam. Kemudian, diambil 1 ose bakteri kemudian dimasukkan ke dalam pengencer (NaCl 0,9%) dan kemudian dihomogenkan. Agar jumlah bakteri yang terhambat terukur, diukur %T dengan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800, Jepang) pada panjang gelombang 580 nm, hingga 25%T (setara 108 CFU/ml bakteri).

Setelah itu, diambil 0,2 ml suspensi mikroba, masing-masing ditambahkan ke dalam petri. Kemudian, ditambahkan 20-25 ml media TSA (*Trypticase Soy Agar*), dihomogenkan, kemudian dibiarkan memadat. Setelah itu, dimasukkan sampel sebanyak 20 μ L ke dalam cakram, dan dibiarkan hingga jenuh. Cakram yang akan dipakai diletakkan di atas permukaan media agar TSA. Keseluruhan sistem uji kemudian didiamkan selama 1 jam, dan dibiarkan larutan uji menyerap. Sediaan tersebut diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Zona hambat bakteri yang terbentuk kemudian diamati dan diukur (Sabrina *et al.*, 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan ekstrak etanol 80% daun sirih

Ekstrak etanol 80% daun sirih yang didapatkan merupakan ekstrak kental. Ekstrak etanol yang terbentuk berwarna hitam kehijauan pekat, beraroma khas daun sirih bercampur aroma etanol yang tajam. Hasil ekstrak dapat dilihat pada Gambar 1.

Formulasi *spray* daun sirih

Pada penelitian ini, dibuat tiga formula dengan kontrol. Hal ini bertujuan untuk memantau efektivitas kandungan ekstrak etanol yang berbeda-beda terkait aktivitasnya sebagai



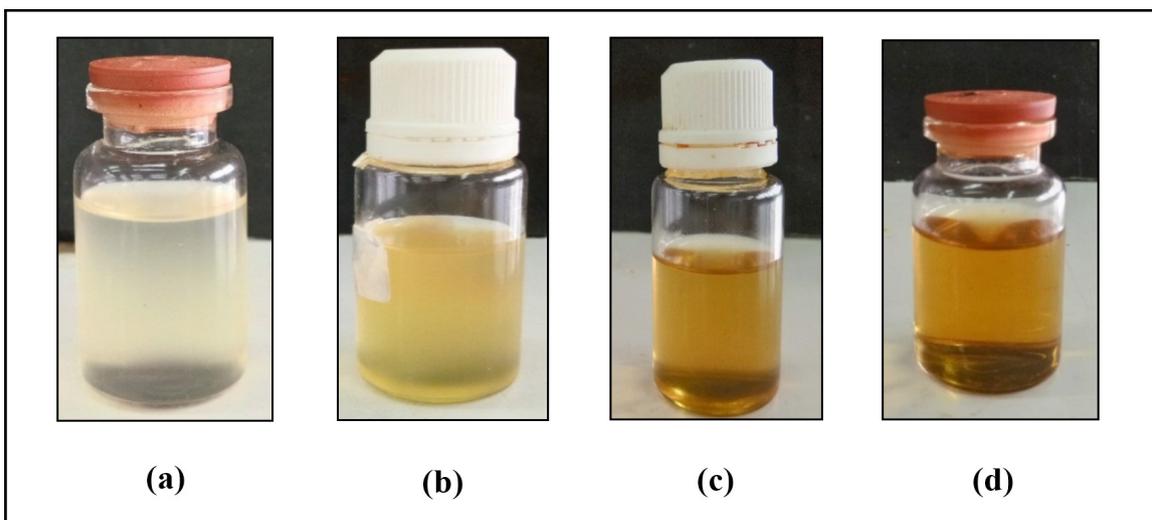
Gambar 1. Ekstrak etanol 80% daun sirih (*Piper betle* L.)

zat anti bakteri. Kontrol tidak mengandung ekstrak etanol daun sirih, formula ini juga berfungsi sebagai blanko negatif. Formula 1, 2, dan 3 masing-masing mengandung ekstrak etanol daun sirih secara berturut-turut dengan konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 0,2%.

Karbopol, sebuah polimer asam arklirat, memiliki sifat hidrofilik yang stabil. Sediaan *spray* dibuat sedikit kental, untuk menjaga kestabilan kandungan di dalam sediaan. Oleh karena itu, pembuatan sediaan *spray* menggunakan salah satu komponen kompleks gel, yakni Karbopol – NaOH, yang perbandingan konsentrasinya sangat rendah (0,06:0,024), agar sediaan *spray* tetap dapat mengalir, namun sedikit kental. Perbandingan konsentrasi tersebut didapatkan setelah optimasi terhadap sediaan yang terbentuk.

Basis karbopol dipilih karena memiliki kompatibilitas dengan bahan dalam formulasi yang sangat baik. Karbopol, pada penggunaan untuk sediaan kosmetik, tidak meninggalkan bekas ataupun kerak saat digunakan, sehingga memberikan kenyamanan. Karbopol yang baik digunakan untuk formulasi sediaan kosmetik merupakan karbopol 940 (Anonim, 2005).

Pada rentang pH 4.5-10, karbopol berubah menjadi kental. Selain itu, pH yang diharapkan dari sediaan kosmetik adalah pada sekitar rentang pH kulit, 4.5-6.5. Oleh karena itu, pembuatan sediaan dibuat pada rentang tersebut. Pengadukan dilakukan menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 1200 rpm. Nilai rpm mengacu kepada kecepatan yang dapat membentuk polimer dengan perlahan dan berhati-hati, agar tidak terbentuk agloromerat besar (Anonim, 2005). Hasil sediaan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Sediaan: (a) Kontrol, (b) Formula 1, (c) Formula 2, (d) Formula 3

Evaluasi

Pengamatan organoleptis. Dari hasil pengamatan, sediaan kontrol memiliki warna transparan, berbau tajam mentol dan lemon, serta tampak homogen. Sediaan Formula 1, 2, dan 3 memiliki karakteristik warna secara berturut-turut, warna putih keruh serta cokelat gelap, serta berbau tajam mentol dan lemon. Adapun warna cokelat tua berasal dari ekstrak etanol daun sirih yang berwarna hijau kecokelatan. Bau tajam berasal dari mentol dan lemon. Seluruh sediaan tidak menunjukkan adanya gelembung udara.

Pengukuran derajat keasaman (pH).

Derajat keasaman sediaan dari kontrol, Formula 1, 2, dan 3 secara berturut-turut adalah 5,75; 5,70; 5,68; 5,65. Keempat sediaan tersebut masih berada dalam rentang pH kulit, yaitu 4,5 – 6,5. Ekstrak etanol daun sirih menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling baik pada pH netral, yakni pH 7. Peningkatan nilai pH menunjukkan penurunan aktivitas antibakteri terhadap patogen (Hoque, Rattila, Shishir, Bari, Inatsu, & Kawamoto, 2012). Aktivitas antibakteri ditunjukkan mulai dari pH 5, dan terus meningkat hingga pH 7, sebelum kemudian turun di pH 9 dan pH 10. Namun, untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, zona hambat bakteri yang paling baik ditunjukkan pada pH 10 (Hoque, Rattila, Shishir, Bari, Inatsu, & Kawamoto, 2012). Pada semua variasi pH, tetap terdapat aktivitas antibakteri, sehingga penelitian yang sebelumnya dilakukan menyimpulkan bahwa nilai pH di rentang 5-10 memberikan aktivitas antibakteri

(Hoque, Rattila, Shishir, Bari, Inatsu, & Kawamoto, 2012). Dapat dikatakan, nilai pH yang tersebut dapat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri-bakteri patogen kulit.

Pengukuran viskositas dan sifat alir.

Pada penelitian ini digunakan viskometer Stormer, merupakan bagian dari viskometer rotasi, atau dikenal juga sebagai viskometer *cup and bob*. Viskometer ini digunakan atas kemampuannya dalam menentukan nilai viskositas dari cairan dengan material viskositas yang rendah, atau suspensi yang cenderung aktif bergerak. Permukaannya yang luas memberikan sensitivitas yang baik, sehingga menghasilkan data yang baik untuk cairan dengan laju alir dan viskositas yang rendah.

Sediaan *spray* yang dibuat diharapkan dapat mengikuti kaidah sifat alir cairan Newton. Sediaan yang mengikuti kaidah cairan Newton dapat memberikan profil yang terbaik saat digunakan, yakni mudah untuk dikeluarkan dari wadah penyimpanan. Profil sifat alir Newton dapat membantu mendorong sediaan cair keluar dengan lebih mudah seperti pada sediaan *spray* yang dibuat tanpa menggunakan *propellant*. Cairan yang mengikuti kaidah aliran Newton menunjukkan hubungan linear standar antara *shear stress* dan *shear rate*. Beberapa cairan yang termasuk dalam aliran Newton mencakup air, pelarut organik, juga gliserin. Untuk cairan ini, saat membandingkan antara *shear rates* dan *shear stress*, akan didapatkan

kurva yang linear. Hal ini menunjukkan bahwa nilai viskositas dari cairan Newton cenderung konstan (Sinko, 2013).

Secara berturut-turut, nilai viskositas yang ditunjukkan dalam satuan Poise untuk kontrol, Formula 1, Formula 2, dan Formula 3 adalah 34,433 Poise, 24,837 Poise, 43,189 Poise, dan 30,492 Poise. Nilai viskositas didapatkan dari rata-rata nilai viskositas yang didapatkan pada 7 titik berbeda. Sebagai pembanding, digunakan nilai viskositas gliserin, yang merupakan bagian dari cairan Newton (Sinko, 2013). Pada tahun 1975, dilakukan penelitian dan ditemukan bahwa nilai viskositas 85% gliserin dalam air, di suhu ruang adalah 58 Poise (Anonim, 1975). Oleh karena itu, viskositas yang ditunjukkan oleh formulasi lebih rendah daripada cairan 85% gliserin dalam air.

Cycling test. *Cycling test* membantu mengetahui stabilitas pada sediaan. Pemeriksaan setelah *cycling test* menunjukkan bahwa keempat sediaan stabil dan tidak mengalami perubahan warna. Dapat dipelajari bahwa bahan pembawa sediaan dapat mempertahankan komponen di dalam sediaan.

Uji stabilitas. Hasil pengamatan organoleptis dan homogenitas sediaan dari kontrol, Formula 1, Formula 2, dan Formula 3, pada suhu tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$), suhu kamar ($28 \pm 2^\circ\text{C}$), dan suhu rendah ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) saat minggu ke-2 sampai minggu ke-8 menunjukkan kestabilan yang sama, sebagaimana ditunjukkan pada

hasil sediaan Minggu ke-0. Bau dari seluruh sediaan selama 12 minggu penyimpanan adalah bau tajam mentol dan lemon. Seluruh sediaan menunjukkan karakteristik organoleptis yang stabil serta homogen. Berdasarkan kaidah yang ditetapkan untuk uji stabilitas, sediaan Formula 1,2, dan 3, dapat dinyatakan stabil secara fisik.

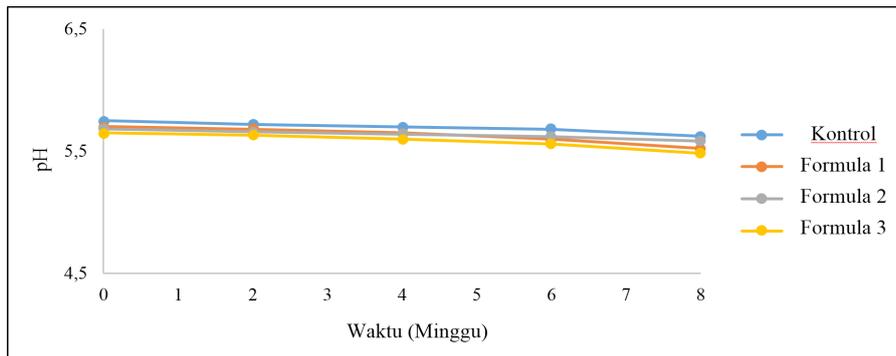
Grafik hubungan pH dengan waktu penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi dapat dilihat pada Gambar 3. Selama 8 minggu, pH sediaan terus mengalami penurunan, namun berada di rentang 5 – 5,8. pH sediaan yang aman berada di rentang pH kulit, yakni 4.5 - 6.5. Oleh karena itu, pH sediaan tetap berada pada rentang aman untuk digunakan.

Salah satu hal yang dapat mempengaruhi penurunan pH adalah adanya hidrolisis yang dapat terjadi di dalam sediaan. Komponen yang dapat mengalami hidrolisis yakni Tween 80. Penyimpanan Tween 80 di suhu ruang menghasilkan hidrolisis dari ester asam lemak. Temperatur di antara ($25 - 408^\circ\text{C}$) dan interaksi dengan air mendukung adanya hidrolisis sehingga terbentuk asam lemak rantai panjang. Hal ini mendukung terjadinya penurunan nilai pH pada sediaan yang mengandung Tween 80 (Kerwin, 2008).

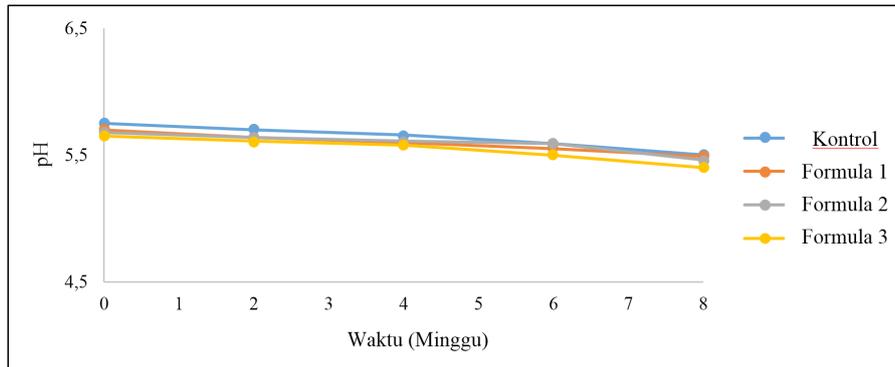
Nilai pH tidak terlalu asam maupun terlalu basa sehingga tidak mengkhawatirkan untuk digunakan, karena diasumsikan tidak dapat menyebabkan iritasi kulit akibat perbedaan pH yang ekstrem. Selain itu, aktivitas

Tabel 2. Uji aktivitas antibakteri

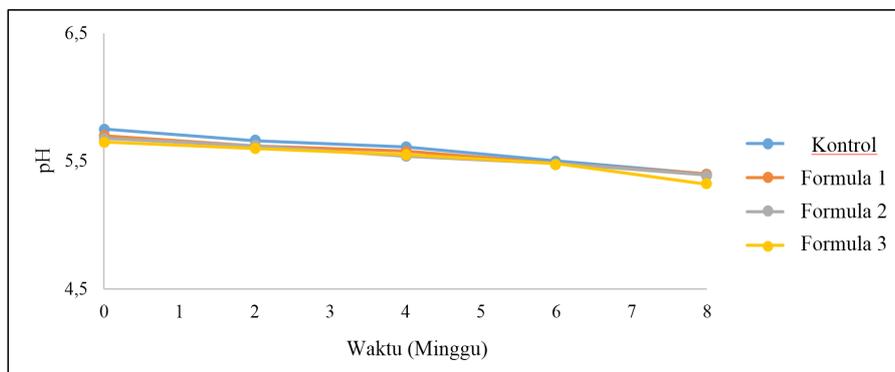
Formula	Diameter zona hambat (mm)
1	6
2	6
3	8



(a)

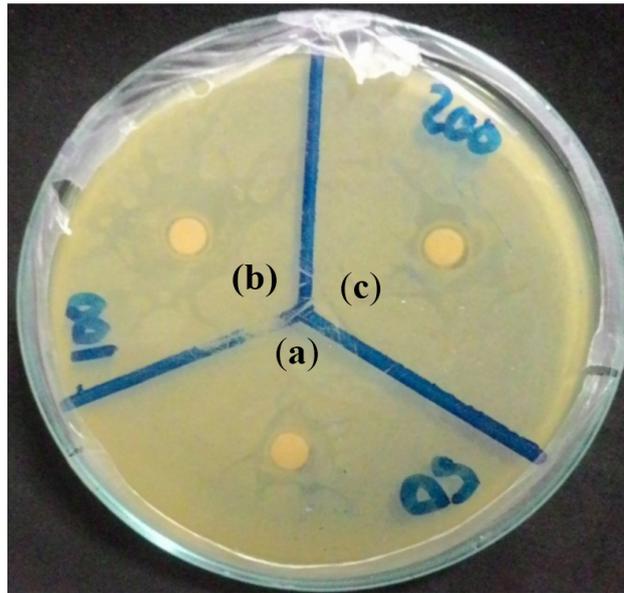


(b)



(c)

Gambar 3. Perubahan pH Selama 8 Minggu pada: (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, (c) suhu tinggi



Gambar 4. Diameter Zona Hambat Bakteri yang Terbentuk untuk: (a) Formula 1, (b) Formula 2, (c) Formula 3

antibakteri dari ekstrak daun sirih tidak terlalu terpengaruh oleh perubahan pH (di sekitar pH normal kulit) atau suhu (Hoque, Rattila, Shishir, Bari, Inatsu, & Kawamoto, 2012).

Uji penentuan diameter zona hambat bakteri

Penetapan diameter zona hambat dilakukan untuk Formula 1, 2, dan 3 dengan konsentrasi ekstrak etanol masing – masing 0,05% b/v, 0,01% b/v, dan 0,2% b/v. Sediaan yang dibuat adalah 100 ml. Diameter zona hambat bakteri hanya terdapat pada formula 3, yang mengandung ekstrak etanol daun sirih sebanyak 0.2% b/v sediaan, atau setara 2 mg/ml (Tabel 2).

Cakram yang digunakan memiliki diameter 6 mm, dan secara berturut-turut, zona hambat

bakteri yang dihasilkan Formula 1, Formula 2, dan Formula 3, adalah 6 mm, 6 mm, dan 8 mm. Diameter zona hambat dilakukan dengan menghitung selisih antara angka zona hambat yang dengan jumlah zona hambat yang terjadi. Diameter zona hambat yang diberikan adalah 2 mm, dan hal ini menunjukkan daya antibakteri yang kuat, karena memiliki cakupan yang cukup besar.

Diameter zona hambat bakteri hanya terdapat pada formula 3, yang mengandung ekstrak etanol daun sirih sebanyak 0,2% b/v sediaan. Sampai dengan saat ini, belum ada penelitian yang dapat menyimpulkan konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol 80% daun sirih yang dapat memberikan kemampuan zona hambat bagi *Bacillus subtilis*. Diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 4.

Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi ekstrak secara berturut-turut, yaitu Formula 1 sebanyak 0,05% b/v (0,5 mg/ml), Formula 2 sebanyak 0,1% b/v (1 mg/ml), dan Formula 3 sebanyak 0,2% (2 mg/ml). Hasil penetapan zona hambat bakteri tersebut menunjukkan bahwa dibutuhkan sebanyak 2 mg/ml ekstrak etanol 80% daun sirih untuk dapat membentuk zona hambat minimum bagi *Bacillus subtilis*, dengan diameter zona hambat minimum sebesar 2 mm. Oleh karena itu, dapat dikatakan sediaan yang memiliki kemampuan bakterisidal (zona hambat) adalah sediaan *spray* Formula 3.

KESIMPULAN

Formulasi sediaan *spray* menunjukkan profil stabilitas fisik yang baik bagi sediaan *spray* antibau kaki yang mengandung ekstrak etanol 80% daun sirih. Diperlukan 2mg/ml ekstrak etanol 80% daun sirih, atau setara dengan 0,2% b/v ekstrak dalam sediaan untuk dapat menghambat bakteri yang paling sering menyebabkan bau kaki (*Bacillus subtilis*).

DAFTAR ACUAN

- American Podiatric Medical Association. (2014). Public Opinion Research on Foot Health and Care. USA: APMA. pp. 3-7
- Anonim. (1975). *Physical Properties of glycerine and its solutions (2nd ed.)*. New York, N.Y.: Glycerine Producer's Assoc
- Anonim. (2005). *Martindale (34th ed.)*. London: Pharmaceutical Press
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. pp. 1-12
- Hoque, M., Rattila, S., Shishir, M., Bari, M., Inatsu, Y., & Kawamoto, S. (2012). Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Betel Leaf (*Piper betle* L.) Against Some Food Borne Pathogens. <http://www.banglajol.info/>. Retrieved 19 June 2017, from <http://www.banglajol.info/index.php/BJM/article/view/11817>
- Kerwin, B. (2008). Polysorbates 20 and 80 Used in the Formulation of Protein Biotherapeutics: Structure and Degradation Pathways. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(8), 2924-2935
- Sabrina, Musdja, M., & Pratiwi, L. (2011). Uji Aktivitas dan Mekanisme Penghambatan Minyak Atsiri Daun Sirih (*Piperis betle*, Linn.) dan Ekstrak Etanol Daun Sirih Terhadap Bakteri Gram (+). *Farmasains*, 1(3), 117-123
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial Properties of Tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883
- Sinko, P. (2013). *Martin: Farmasi Fisika dan Ilmu Farmasetika (Edisi 5)*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC