

## Pembuatan salep minyak atsiri daun jeruk limau (*Citrus amblycarpa*) dan uji stabilitas terhadap tipe basis yang digunakan

### Preparation of essential oil ointment of lime leaves (*Citrus amblycarpa*) and stability test on type-based used

NINDYA NARESWARI, ANANG KUNCORO

Prodi Diploma 3 Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36a, Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuscript received: 5 December 2016. Revision accepted: 1 April 2017.

**Abstract.** Nareswari N, Kuncoro A. 2016. Preparation of essential oil ointment of lime leaves (*Citrus amblycarpa*) and stability test on type-based used. *Biofarmasi* 14: 63-68. Citrus lime has volatile oil content in the leaves and the skin—essential oils from the leaves of citrus lime-containing  $\beta$ -pinene, linalool, citronellal, and geraniol citronellol. The yield of essential oil of citrus lime leaves at 0,47% could inhibit the growth of bacteria *S. aureus* with KBM and the MIC values of 0,039% (v / v). This research is a design experiment that used Pre-Test/Post-Test Control Desain. The essential oil for skin medication must be made in practical and stable preparation. The ointment is a semi-solid preparation that is easy to apply and use as an external medicine. The use of essential oil of citrus lime leaf was made in ointment preparation with three varieties of basis: water-soluble basis, absorptive bases, and base hydrocarbon, for the ointment to be easily applied the skin. The physical stability test series, which consisted of the homogeneity, organoleptic, viscosity, adhesiveness, dispersiveness, and the acidity level (pH) of the ointment preparation, were tested for 8 weeks to investigate the most stable ointment basis out of the three formulae to make the ointment of the essential oil of citrus lime (*Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse). Next, the stability of the ointment preparations was investigated from the data, which contained the observation results from the first week to the eighth week. The data were analyzed statistically by using the Kolmogorov-Smirnov analysis technique. Finally, the data were analyzed using the one-way Analysis of Variance (ANOVA) to investigate the effect of the difference in the ointment's basis on the ointment preparations' stability. The research results indicate that all three types of base oils used in ointment citrus lime leaves have a good physical stability test based on viscosity, acidity level (pH), dispersiveness, and adhesiveness.

**Keywords:** *Citrus amblycarpa*, essential oils, ointment stability, type of ointment base

### PENDAHULUAN

Penggunaan bahan yang berasal dari alam sebagai obat bukan hal yang baru. Sejak dahulu manusia mencoba mengobati penyakit yang dideritanya dengan menggunakan bahan alam. Pada saat ini banyak orang telah kembali pada pengobatan tradisional dengan menggunakan tanaman obat, baik untuk mengobati atau menjaga kesehatan. Trend gaya hidup yang mengarah kembali ke alam (*back to nature*) membuktikan bahwa hal-hal yang alami bukanlah yang ketinggalan jaman atau kampungan. Dalam dunia kedokteran banyak yang kembali mempelajari obat-obat tradisional, tanaman obat ditelaah dan dipelajari secara ilmiah. Hasilnya mendukung bahwa tanaman obat memang memiliki kandungan zat-zat atau senyawa yang secara klinis terbukti bermanfaat bagi kesehatan. Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan keanekaragaman tanaman terutama hasil pertanian dan rempah-rempah. Hal ini didukung oleh keadaan geografis Indonesia yang beriklim tropis dengan curah hujan rata-rata tinggi sepanjang tahun. (Muhlisah, 2004).

Beberapa tanaman dari marga *Citrus*, suku Rutaceae seperti *C. limau*, dan *C. reticulo* telah dimanfaatkan sebagai aromaterapi dengan efek antiseptik dan

meredakan stress atau relaksasi (Keville 1999). Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap tumbuhan *Citrus* diantaranya adalah efek apoptosis pada *cell line* A549 kanker paru-paru dari nobeletinnya (Luo et al. 2008). Penelitian efek pencegahan 8 tanaman *Citrus* terhadap bahaya kanker lambung (Bae et al. 2008), juga penelitian mengenai efek ekstrak *C. aurantium* terhadap peningkatan anti oksidan dan penurunan kerusakan pada hepar (Jiao et al. 2007). Di Indonesia banyak terdapat tanaman *Citrus* yang lain, salah satunya adalah *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse (jeruk limau). Menurut Agusta (2000), kulit buah jeruk limau segar mengandung minyak atsiri yang komponen penyusunnya terdiri dari  $\alpha$ -pinena,  $\beta$ -pinena,  $\beta$ -mirsena, linalool, limonena, mirsenol, kamfena hidrat, dan  $\alpha$ -terpineol.

Penelitian Mulyani (2009) menyatakan bahwa minyak atsiri daun jeruk limau (*C. amblycarpa*) lebih aktif terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan kulitnya. Rendemen minyak atsiri dari daun jeruk limau sebesar 0.47% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan nilai KBM dan KHM sebesar 0.039% (v/v). Pengujian dari Mulyani (2009) tentang minyak atsiri daun jeruk limau ini belum dibuat dalam bentuk sediaan

salep, sehingga perlu dikembangkan lagi agar lebih mudah diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari.

Sediaan yang cocok untuk sediaan topikal adalah salep (Ansel, 1989). Penggunaan salep dapat memungkinkan kontak dengan tempat aplikasi lebih lama sehingga pelepasan zat aktif minyak atsiri akan lebih maksimal. Selain itu sediaan salep juga lebih disukai karena lebih mudah, praktis, menimbulkan rasa dingin, melindungi daerah yang terluka dari udara luar dan mempermudah perbaikan kulit, menjadikan kulit lebih lembab atau untuk menghasilkan efek emolient serta menghantarkan obat pada kulit untuk efek khusus topikal atau sistemik (Tjay dan Rahardja 2008).

Pelepasan obat dari bentuk sediaan salep sangat dipengaruhi oleh faktor antara lain jenis basis salep, kelarutan, karakteristik dari obat, konsentrasi obat dalam basis, waktu difusi kekentalan dan viskositas (Tjay dan Rahardja 2008). Basis dan bahan pembantu salep harus memenuhi persyaratan umum yaitu tidak tersatukan dengan bahan pembantu lainnya dan juga dengan bahan obat yang digunakan dalam terapi salep. Basis salep biasanya memiliki daya sebar yang baik dan menjamin pelepasan bahan obat yang memuaskan (Voight 1995).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian tentang pembuatan salep minyak atsiri yang dibuat dengan 3 macam basis salep yang berbeda. Salep minyak atsiri daun jeruk limau dibuat dengan basis larut air, basis serap dan basis hidrokarbon. Perbedaan basis ini dilakukan untuk mengetahui apakah ketiga basis tersebut mempunyai stabilitas fisik yang baik berdasarkan pengujian sifat fisik salep yang dilakukan selama 8 minggu. Basis salep yang paling stabil dalam uji sifat fisik selama 8 minggu merupakan basis salep yang baik untuk pembuatan salep minyak atsiri daun jeruk limau. Pengujian iritasi salep dilakukan pada minggu ke 8 untuk mengetahui salep aman digunakan untuk sediaan topikal dan tidak terjadi iritasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas tipe basis yang digunakan dalam salep minyak atsiri daun jeruk limau (*Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochsle) dan mengetahui tipe basis salep yang paling baik ditinjau dari hasil uji stabilitas fisik.

## BAHAN DAN METODE

### Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode *Pre Test Post Test Control*. Dalam metode terdapat kelompok kontrol yang dipakai sebagai perbandingan terhadap kelompok yang diberi perlakuan eksperimental.

### Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di dua laboratorium. Untuk penyulingan minyak atsiri dilakukan di laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta sedangkan untuk pembuatan dan uji sifat fisik salep dilakukan di laboratorium Farmasetika Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

### Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Daun jeruk limau segar 2 kg yang diambil dari tanaman berumur 6 bulan, dari daerah ceper, Klaten; Vaseline album; Parafin encer; Basis salep berupa lanolin (adepts lanae dan akuades; 75:25); Basis salep berupa unguentum simplex (cera flava dan minyak wijen; 30:70); Basis salep berupa PEG 400 dan PEG 4000 dengan perbandingan 70:30.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Seperangkat alat destilasi uap air; Labu erlemeyer ukuran 1000 mL (*pyrex*); Corong pisah (*pyrex*); Gelas ukur 10 mL (*pyrex*); Timbangan digital (HWH); Kaca arloji; Kaca objek; Mortir dan stamper; Water bath (Termo star); pH meter (*Friwo inolab*); Alat uji daya sebar salep; Viskotester (*VT-04 E-RION CO*); Anak timbang 10 g, 20 g, 50 g, dan 500 g.

### Cara kerja

#### Pembuatan minyak atsiri daun jeruk limau

Daun jeruk limau segar sebanyak 2 kg yang sudah dicuci bersih dimasukkan ke dalam dandang alat destilasi uap air seluruhnya. Alat destilasi dirangkai dengan pendingin (kondensor), kemudian dipanaskan dengan suhu yang sesuai. Air dialirkan pada kondensor dan dijaga agar air terus mengalir. Temperatur dijaga sehingga dihasilkan destilat minyak atsiri. Minyak atsiri kemudian ditambahkan dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat untuk memurnikan minyak atsiri dengan cara menarik air yang masih bercampur dengan minyak atsiri. Minyak atsiri yang sudah ditambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat kemudian disaring sehingga didapat minyak atsiri murni.

#### Penentuan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk limau

Penentuan bobot jenis minyak atsiri dihitung dengan piknometer ukuran 10 mL. Berat piknometer kosong kemudian ditimbang dan dicatat beratnya. Timbang piknometer yang sudah berisi minyak atsiri daun jeruk limau dicatat beratnya. Piknometer yang sudah berisi air ditimbang dan dicatat beratnya. Bobot minyak atsiri dihitung dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Berat jenis minyak atsiri} = \frac{B-A}{C-A} = \dots \text{ g/mL}$$

Keterangan:

Berat pikno kosong	: A (g)
Berat pikno + minyak atsiri	: B (g)
Berat pikno + air	: C (g)

#### Penentuan indeks bias minyak atsiri daun jeruk limau

Penentuan indeks bias minyak atsiri menggunakan alat refraktometer. Tetesi refraktometer dengan akuades, kemudian bersihkan sisa akuades dengan tisu. Teteskan minyak atsiri daun jeruk limau pada permukaan kaca prisma pada refraktometer. Lihat ditempat yang bercahaya dan pada suhu ruangan sekitar 25-28°C. Akan terlihat berapa nilai indeks bias pada skala dalam refraktometer.

#### Penghitungan rendemen minyak atsiri

Penghitungan rendemen minyak atsiri dihitung dengan % v/b :

$$\% \text{ kadar minyak atsiri} = \text{Vol/M} \times 100\%$$

Keterangan:

Volume minyak atsiri : vol (mL)

Berat daun segar : M (g)

#### *Perhitungan dosis minyak atsiri daun jeruk limau*

Minyak atsiri daun jeruk limau aktif pada bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 0.039 % v/v (Mulyani, 2009). Hal ini berarti:  $0.039 \% \text{ v/v} = 0.039 \text{ mL} / 100 \text{ mL} = 0.039 \text{ mL} / 92.8 \text{ g}$

#### *Formulasi salep*

Formulasi salep minyak atsiri daun jeruk limau ditunjukkan pada Tabel 1.

#### *Pembuatan salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan basis larut air*

PEG 4000 dilelehkan diatas waterbath kemudian ditambahkan PEG 400 masukkan dalam mortir panas sekitar suhu 80°C, digerus sampai dingin dan terbentuk masa salep. Tambahkan minyak atsiri daun jeruk limau aduk sampai homogen. Masukkan dalam pot salep. Kemudian dilakukan uji sifat fisik salep yang dilakukan setiap satu minggu sekali selama 2 bulan.

#### *Pembuatan salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan basis salep hidrokarbon*

Vaselin album dan paraffin cair dilebur diatas waterbath secara bersamaan sambil diaduk. Kemudian dituang dalam mortir panas sekitar suhu 80°C, digerus sampai homogen dan tambahkan minyak atsiri. Basis yang sudah dicampurkan minyak atsiri diaduk sampai homogen. Masukkan dalam pot salep. Kemudian dilakukan uji sifat fisik salep yang dilakukan setiap satu minggu sekali selama 2 bulan.

#### *Pemeriksaan kestabilan fisik*

Sediaan salep diamati secara organoleptis untuk mengetahui homogenitas, warna dan bau setiap minggu selama delapan minggu pada suhu kamar.

**Tabel 1.** Formulasi salep minyak atsiri daun jeruk limau

Bahan	Formula I	Formula II	Formula III
Minyak atsiri	0.01 mL	0.01 mL	0.01 mL
PEG 400	17.46 g	-	-
PEG 4000	7.48 g	-	-
Lanolin	-	14.9 g	-
Unguentum simplek	-	10.1 g	-
Paraffin cair	-	-	23.6 g
Vaselin album	-	-	1.3 g
Nipagin	0.025 g	0.025 g	0.025 g
Nipasol	0.025 g	0.025 g	0.025 g
Jumlah	25 g	25 g	25 g

Keterangan: (i) Formula I: Salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan basis larut air. (ii) Formula II: Salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan basis absorpsi / serap. (iii) Formula III: Salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan basis hidrokarbon.

#### *Uji homogenitas*

Sediaan diuji homogenitasnya dengan mengoleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan yang cocok. Diamati sediaan salep menunjukkan susunan yang homogen. Cara diatas diulangi masing-masing 3 kali (Anonim, 1979)

#### *Uji daya sebar salep*

Di timbang 0.5 g salep, kemudian diletakkan di tengah alat (kaca bulat). Ditimbang dahulu kaca yang satunya. Kaca di letakkan diatas massa salep dan dibiarkan selama 1 menit. Kemudian diukur berapa diameter salep yang menyebar (dengan mengambil panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi). Ditambahkan 10 g beban tambahan, diamkan selama 1 menit dan dicatat diameter salep yang menyebar seperti sebelumnya. Diteruskan dengan menambah tiap kali dengan beban tambahan 10 g sampai salep tidak menyebar dan dicatat diameter salep yang menyebar. Uji ini diulang masing-masing 3 kali untuk tiap salep yang diperiksa.

#### *Uji daya melekat salep*

Salep diletakkan secukupnya diatas gelas objek yang telah diketahui luasnya. Diletakkan gelas objek yang lain diatas salep tersebut. Kemudian ditekan dengan beban 500 kg selama 5 menit. Dipasang gelas objek pada alat tes. Kemudian dilepaskan beban seberat 50 g dan dicatat waktunya hingga kedua gelas objek ini terlepas. Dilakukan tes untuk formula salep dengan masing-masing 3 kali percobaan.

#### *Uji viskositas*

Uji viskositas salep dilakukan dengan alat viskotester. Viskotester dipasang pada klemnya dengan arah horizontal atau tegak lurus dengan arah klem. Rotor kemudian dipasang viskotester dengan menguncinya berlawanan arah dengan jarum jam. Mangkuk diisi sampel salep yang akan diuji, rotor ditempatkan tepat berada ditengah-tengah yang berisi salep, kemudian alat dihidupkan dan ketika rotor mulai berputar jarum penunjuk viskositas secara otomatis akan bergerak menuju kekanan kemudian setelah stabil, viskositas dibaca pada skala dari rotor yang digunakan. Cara diatas diulangi masing-masing 3 kali.

#### *Pemeriksaan pH*

Sebanyak 0,5 g sediaan salep dilarutkan dalam 30 mL akuades. Diukur nilai pH-nya menggunakan pH meter sampai menunjukkan nilai pH yang konstan. Pemeriksaan pH dilakukan setiap minggu selama delapan minggu pada suhu kamar.

#### *Uji iritasi*

Uji iritasi dilakukan dengan mengoleskan salep ke kulit tangan sukarelawan. Dibiarkan selama 5 menit. Pengujian keamanan sediaan salep yang dibuat dilakukan terhadap dua puluh orang sukarelawan dengan uji tempel terbuka (*patch test*), yakni : Sejumlah sediaan uji dioleskan pada punggung tangan kanan sukarelawan dan dibiarkan terbuka selama 5 menit. Punggung tangan kanan diolesi sediaan basis salep. Selanjutnya perubahan warna yang terjadi pada punggung tangan kanan masing-masing sukarelawan

diamati. Jika tidak terjadi reaksi (tidak merah dan tidak bengkak) diberi tanda (-), jika terjadi reaksi (kulit memerah) diberi tanda (+), selanjutnya jika terjadi pembengkakan diberi tanda (++). Pada punggung tangan dilihat apakah tampak adanya iritasi (kemerahan) ada kulit yang dioleskan salep tersebut dibandingkan dengan kontrol yaitu punggung tangan kiri (Padmadisastra et al. , 2007).

#### Analisis data

Data yang diperoleh dari uji sifat fisik salep dianalisis secara statistik untuk mengetahui data terdistribusi secara normal atau tidak menggunakan Kolmogorov-Smirnov. Hasil data yang diperoleh dilanjutkan dengan analisis ANOVA satu jalan dan Uji Tukey.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Determinasi tanaman

Determinasi daun jeruk limau (*Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochs) dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan, Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah.

#### Hasil penentuan rendemen minyak atsiri

Daun jeruk limau segar sebanyak 2 kg (2.000 g) didestilasi dengan destilasi uap air dan didapat minyak atsiri 15 mL. Bobot jenis minyak atsiri daun jeruk limau didapat 0,928 g/mL. Rendemen minyak atsiri daun jeruk limau didapat sebesar 0,696 %.

#### Hasil uji sifat fisik salep minyak atsiri daun jeruk limau *Homogenitas salep*

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui homogenitas dari formula salep yang diteliti. Hasil uji homogenitas dari ketiga formula salep ditunjukkan pada Tabel 2.

Hasil pengujian homogenitas masing-masing formula salep saat dioleskan pada sekeping kaca menunjukkan hasil yang homogen yaitu olesan terlihat rata dan tidak ada perbedaan warna. Selama waktu delapan minggu, salep disimpan dalam suhu kamar dan saat diamati salep tetap homogen dan konsistensi bentuknya tidak mengalami perubahan yaitu tidak ada pemisahan komponen ataupun ketidakseragaman bentuknya. Hasil pengujian homogenitas ini sesuai dengan persyaratan Ekstra Farmakope Indonesia 1974 yaitu jika salep dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok harus menunjukkan susunan yang homogen yang dapat dilihat dengan tidak adanya partikel yang bergerombol dan menyebar secara merata. Hal ini berarti ketiga tipe basis salep yang digunakan dalam pembuatan salep minyak atsiri daun jeruk limau mempunyai homogenitas yang baik.

#### *Uji viskositas salep*

Viskositas merupakan tahanan dari suatu cairan untuk mengalir. Semakin besar tahanan, maka viskositasnya semakin besar. Hasil uji viskositas salep minyak atsiri daun jeruk limau ditunjukkan pada Tabel 2.

Data hasil viskositas ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data terdistribusi secara normal atau tidak. Hasil yang diperoleh dari analisis Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa besarnya signifikan untuk Formula I, Formula II dan Formula III terhadap kontrolnya yaitu sebesar 0.062, 0.061, dan 0.060 > 0.05 sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi secara normal. Selanjutnya, untuk mengetahui adanya pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap viskositas basis salep yang digunakan maka dilakukan uji ANOVA satu jalan. Hasil perhitungan analisis anova didapat nilai F hitung untuk Formula I, Formula II dan Formula III terhadap kontrolnya masing masing sebesar 0.146, 0.131 dan 0.272 dengan nilai signifikansi masing-masing 0.931, 0.941 dan 0.704. Nilai F tabel (df 3-28) pada tingkat signifikansi 0,05 adalah 2.95. Nilai F hitung (0.931, 0.941, 0.704) < F tabel (2.95). Artinya tidak ada pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap ketiga basis salep yang digunakan. Selanjutnya dilakukan uji Post Hoc Test yaitu metode Tukey. Dipilih metode tukey karena sebelumnya data dianalisa dengan ANOVA dimana jika data diuji menggunakan ANOVA selanjutnya diteruskan dengan uji Post Hoc Test metode Tukey. Salah satu fungsi uji Post Hoc Test adalah mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar kelompok variabel. Dari hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok variabel. Tidak adanya tanda bintang (\*) pada *mean difference* menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kontrol dan formula. Dapat disimpulkan tidak ada pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap viskositas ketiga basis salep yang digunakan.

#### *Uji organoleptis salep*

Pengujian organoleptis salep minyak atsiri daun jeruk limau meliputi bentuk warna dan bau. Hasil uji organoleptis ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil pengujian menunjukkan kestabilan warna, bau dan bentuk yang tidak mengalami perubahan selama 8 minggu. Dari hasil yang didapat, sediaan salep dengan basis larut air, adsorpsi dan hidrokarbon dapat dikatakan memiliki kestabilan yang cukup baik.

#### *Uji pH*

Pemeriksaan pH adalah salah satu bagian dari kriteria pemeriksaan sifat kimia dalam memprediksi kestabilan sediaan salep. Hasil pengamatan uji pH selama 8 minggu ditunjukkan pada Tabel 2. Dari Tabel 2 dapat dilihat tidak terjadi penurunan pH yang signifikan dari minggu ke minggu untuk masing-masing formula salep. Besarnya nilai pH telah memenuhi persyaratan nilai pH basis salep yang baik yaitu antara 5,5 hingga 7 (Troy et al. 2005). Penurunan yang terjadi karena ketidakstabilan suhu dan kondisi penyimpanan pada waktu pengamatan.

Uji pH penting dilakukan untuk mengetahui stabilitas pH salep dan pH harus sesuai dengan pH kulit supaya tidak terjadi iritasi pada kulit. Kestabilan pH harus stabil dari minggu ke minggu agar salep aman digunakan pada kulit.

**Tabel 2.** Hasil berbagai parameter salep minyak atsiri daun jeruk limau selama 8 minggu

Formula	Uji homogenitas	Uji viskositas	Uji pH	Daya Sebar	Daya Lekat	Uji Iritasi
		$\bar{x} \pm Sd$	$\bar{x} \pm Sd$	$\bar{x} \pm Sd$	$\bar{x} \pm Sd$	
I	Homogen	$618.96 \pm 2.944$	$7.26 \pm 0.0185$	$2.44 \pm 0.0259$	$6.26 \pm 0.0185$	(-)
II	Homogen	$225 \pm 8.9078$	$6.64 \pm 0.0383$	$5.56 \pm 0.0988$	$1.73 \pm 0.0709$	(-)
III	Homogen	$311.46 \pm 7.635$	$6.29 \pm 0.0372$	$4.28 \pm 0.0309$	$3.42 \pm 0.0555$	(-)

**Tabel 3.** Hasil uji organoleptis selama 8 minggu

Uji	Formula I	Formula II	Formula III
Warna	Putih	Agak kekuningan	Putih
Bau	Khas minyak atsiri	Khas minyak atsiri	Khas minyak atsiri
Bentuk	Konsistensi salep	Konsistensi salep	Konsistensi salep

Keterangan: (i) Formula I: Salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan basis larut air. (ii) Formula II: Salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan basis absorpsi / serap. (iii) Formula III: Salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan basis hidrokarbon. Masing-masing formula direplikasi 3 kali dengan kontrol negatif untuk tiap formula

Data hasil pH ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data terdistribusi secara normal atau tidak. Hasil yang diperoleh dari analisis Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa besarnya signifikan untuk Formula I, Formula II dan Formula III terhadap kontrolnya yaitu sebesar 0.061, 0.152, dan  $0.053 > 0.05$  sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi secara normal. Selanjutnya, untuk mengetahui adanya pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap pH basis salep yang digunakan maka dilakukan uji ANOVA satu jalan. Hasil perhitungan analisis anova didapat nilai F hitung untuk Formula I, Formula II dan Formula III terhadap kontrolnya masing masing sebesar 0.301, 0.506 dan 0.196 dengan nilai signifikansi masing-masing 0.824, 0.681 dan 0.898. Nilai F tabel (df 3-28) pada tingkat signifikansi 0,05 adalah 2.95. Nilai F hitung ( $0.301, 0.506, 0.196 < F$  tabel (2.95)). Artinya tidak ada pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap ketiga basis salep yang digunakan. Selanjutnya dilakukan uji Post Hoc Test yaitu metode Tukey. Dipilih metode tukey karena sebelumnya data dianalisa dengan ANOVA dimana jika data diuji menggunakan ANOVA selanjutnya diteruskan dengan uji Post Hoc Test metode Tukey. Salah satu fungsi uji Post Hoc Test adalah untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar kelompok variabel. Dari hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok variabel. Tidak adanya tanda bintang (\*) pada *mean difference* menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kontrol dan formula. Dapat disimpulkan tidak ada pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap pH ketiga basis salep yang digunakan.

#### Daya sebar salep

Daya sebar salep dapat didefinisikan sebagai kemampuan menyebarnya salep pada permukaan kulit yang akan diobati. Suatu sediaan salep diharapkan mampu menyebar dengan mudah ditempat pemberian, tanpa

menggunakan tekanan yang berarti. Semakin mudah dioleskan maka luas permukaan kontak obat dengan kulit semakin besar, sehingga absorpsi obat ditempat pemberian semakin optimal.

Daya menyebar berhubungan dengan viskositas, semakin besar viskositas salep maka daya penyebarannya menjadi semakin kecil. Permukaan penyebaran yang dihasilkan dengan peningkatan beban yang ditambahkan merupakan karakteristik daya sebar salep. Luas penyebaran berbanding lurus dengan kenaikan beban yang ditambahkan, semakin besar beban yang ditambahkan maka luas penyebarannya semakin lama.

Hasil uji daya sebar salep minyak atsiri daun jeruk limau ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil pengujian menunjukkan bahwa luas penyebaran pada formula II memberikan hasil penyebaran yang paling besar, karena formula II memiliki viskositas yang paling rendah. Formula I memiliki daya sebar paling kecil karena formula I memiliki viskositas yang paling besar.

Data hasil penyebaran ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data terdistribusi secara normal atau tidak. Hasil yang diperoleh dari analisis Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa besarnya signifikan untuk Formula I, Formula II dan Formula III terhadap kontrolnya yaitu sebesar 0.052, 0.135, dan  $0.052 > 0.05$  sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi secara normal. Selanjutnya, untuk mengetahui adanya pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap diameter penyebaran basis salep yang digunakan maka dilakukan uji ANOVA satu jalan. Hasil perhitungan analisis anova didapat nilai F hitung untuk Formula I, Formula II dan Formula III terhadap kontrolnya masing masing sebesar 0.467, 1.031 dan 0.246 dengan nilai signifikansi masing-masing 0.708, 0.394 dan 0.864. Nilai F tabel (df 3-28) pada tingkat signifikansi 0,05 adalah 2.95. Nilai F hitung ( $0.467, 1.031, 0.246 < F$  tabel (2.95)). Artinya tidak ada pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap diameter penyebaran ketiga basis salep yang digunakan.

Selanjutnya dilakukan uji Post Hoc Test yaitu metode Tukey. Dipilih metode tukey karena sebelumnya data dianalisa dengan ANOVA dimana jika data diuji menggunakan ANOVA selanjutnya diteruskan dengan uji Post Hoc Test metode Tukey. Salah satu fungsi uji Post Hoc Test adalah untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar kelompok variabel. Dari hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok variabel. Tidak adanya tanda bintang (\*) pada *mean difference* menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kontrol dan formula. Dapat disimpulkan tidak ada pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap diameter penyebaran ketiga basis salep yang digunakan.

#### Daya lekat salep

Pengujian daya lekat salep dilakukan untuk mengetahui kemampuan salep untuk menempel pada permukaan kulit. Semakin besar daya lekat salep maka absorpsi obat akan semakin besar karena ikatan yang terjadi antara salep dengan kulit semakin lama, sehingga basis dapat melepaskan obat lebih optimal. Hasil uji daya lekat salep minyak atsiri daun jeruk limau ditunjukkan pada Tabel 2.

Pada data pengamatan menunjukkan formula I memiliki daya lekat yang paling lama dibanding formula yang lainnya. Hal ini dikarenakan formula I juga memiliki viskositas yang besar, sehingga kemampuan melekatnya pada kulit juga semakin lama. Formula II memiliki daya melekat yang paling kecil. Hal ini dikarenakan formula I memiliki viskositas yang paling rendah.

Data hasil daya lekat ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data terdistribusi secara normal atau tidak. Hasil yang diperoleh dari analisis Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa besarnya signifikan untuk Formula I, Formula II dan Formula III terhadap kontrolnya yaitu sebesar 0.060, 1.175, dan 0.058 > 0.05 sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi secara normal. Selanjutnya, untuk mengetahui adanya pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap daya lekat basis salep yang digunakan maka dilakukan uji ANOVA satu jalan. Hasil perhitungan analisis anova didapat nilai F hitung untuk Formula I, Formula II dan Formula III terhadap kontrolnya masing masing sebesar 0.115, 1.083 dan 0.520 dengan nilai signifikansi masing-masing 0.951, 0.373 dan 0.672. Nilai F tabel (df 3-28) pada tingkat signifikansi 0,05 adalah 2.95. Nilai F hitung (0.115, 1.083, 0.520) < F tabel (2.95). Artinya tidak ada pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap daya lekat ketiga basis salep yang digunakan. Selanjutnya dilakukan uji Post Hoc Test yaitu metode Tukey. Dipilih metode tukey karena sebelumnya data dianalisa dengan ANOVA dimana jika data diuji menggunakan ANOVA selanjutnya diteruskan dengan uji Post Hoc Test metode Tukey. Salah satu fungsi uji Post Hoc Test adalah untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar kelompok variabel. Dari hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok variabel. Tidak adanya tanda bintang (\*) pada *mean difference* menunjukkan tidak ada perbedaan yang

signifikan antara kontrol dan formula. Dapat disimpulkan tidak ada pengaruh penambahan minyak atsiri daun jeruk limau terhadap daya lekat ketiga basis salep yang digunakan.

#### Uji Iritasi

Uji iritasi dilakukan pada akhir minggu ke delapan. Hasil uji iritasi ditunjukkan pada Tabel 2. Dari data hasil pengamatan, dapat diketahui bahwa setiap formula sediaan salep minyak atsiri daun jeruk limau dengan variasi basis salep tidak memberikan reaksi iritasi baik reaksi kemerahan maupun pembengkakan pada tangan kanan yang dioleskan dibandingkan dengan tangan kiri sebagai kontrol pada kulit sukarelawan sehingga dapat disimpulkan bahwa sediaan salep minyak atsiri daun jeruk limau aman untuk digunakan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa sediaan salep minyak atsiri daun jeruk limau aman untuk digunakan.

### KESIMPULAN

Berdasarkan uji stabilitas salep yang dilakukan, ketiga tipe basis yang digunakan dalam salep minyak atsiri daun jeruk limau mempunyai stabilitas fisik yang baik; Formulasi pertama yaitu dengan menggunakan tipe basis salep larut air (campuran PEG 400 dan PEG 4000 70:30) merupakan tipe basis yang paling stabil untuk digunakan sebagai basis minyak atsiri daun jeruk limau karena mempunyai hasil yang paling kecil yaitu uji viskositas sebesar 2.944, uji pH sebesar 0.0185, uji daya sebar sebesar 0,0259 dan uji daya lekat sebesar 0,0185.

### DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A. 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropik Indonesia. Penerbit ITB, Bandung.
- Anonim. 1979. Farmakope Indonesia, edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Ansel HC. 1989. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Penerj.: Ibrahim F, Asmanizar, Aisyah I. Edisi ke-4. UI Press, Jakarta.
- Bae JM, Lee EJ, Guejati G. 2008. Citrus Fruit in take and Stomach Cancer Risk a Quantitative Systematic review. *Gastric Cancer* 2 (1): 23-32.
- Jiao S, Huang C, Wang H, Yu S. 2007. Effects of *Citrus aurantium* extract on Liver Antioxidant Defense Function in Experimental Diabetic Mouse. *Wei Sheng Yan Ju* 36 (6): 689-692.
- Luo G, Guan X, Zhou L. 2008. Apoptotic effect of *Citrus* fruit extract nobletin on Lung Cancer Cell Line A549 in vitro and in vivo. *Cancer Biol Ther* 1 (1): 76.
- Muhlisah F. 2004. Tanamaan Obat Keluarga. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Mulyani S. 2009, Analisis GC-MS dan daya anti bakteri minyak atsiri *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Padmadisastra Y, Anggia S. 2007. Formulasi sediaan salep antikeloidall yang mengandung ekstrak terfasilitasi panas microwave dari herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). *Jurnal Farmasi* 1 (1): 1-5.
- Tjay TH, Rahardja K. 2008. Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya. Edisi Keenam. Penerbit PT. Elex. Media Komputindo, Jakarta.
- Voight R. 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.