

1. pH lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam sedangkan yang lain pada pH basa.

2. Spesies mikroorganisme

Spesies mikroorganisme menunjukkan kerentanan yang berbeda-beda terhadap sarana fisik dan bahan kimia. Pada spesies pembentuk spora, sel vegetatif yang sedang tumbuh lebih mudah dibunuh dibandingkan dengan sporanya.

3. Komponen zat di dalam media

Beberapa garam yang terdapat dalam media agar dapat mengikat anti mikroba sehingga antimikroba menjadi inaktif.

4. Jumlah mikroorganisme

Diperlukan banyak waktu untuk membunuh populasi dan bila jumlah selnya banyak, maka perlakuan harus diberikan lebih lama supaya kita cukup yakin bahwa semua sel tersebut telah mati.

5. Aktivitas metabolit mikroorganisme

Pada umumnya mikroorganisme aktif dan tumbuh cepat lebih peka terhadap daya kerja obat dari pada yang berada dalam keadaan istirahat. Mikroorganisme yang bertahan merupakan mikroorganisme yang tidak aktif bermetabolisme dan dapat bertahan terhadap pengaruh obat.

6. Masa inkubasi

Dalam beberapa hal kuman-kuman tidak dimatikan tetapi hanya dihambat pertumbuhannya setelah berhubungan dengan singkat dengan obat antimikroba. Makin lama waktu inkubasi berlangsung makin besar kemungkinan timbulnya

b. Pembuatan media

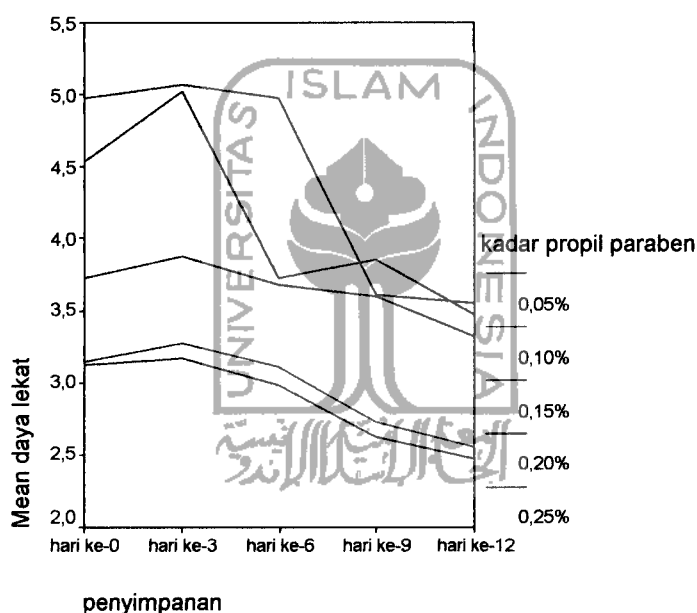
2,8 gram nutrisi agar ditambah 100 ml air, aduk sampai homogen, bila perlu dengan pemanasan. Ditungkat dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan dengan suhu 121°C selama 30 menit. Media disimpan dalam lemari es, jika akan digunakan dapat dilarutkan kembali dengan cara dipanaskan.

c. Perhitungan angka kuman

Satu gram sampel diambil secara steril dan dimasukkan ke dalam gelas beker steril, kemudian ditambahkan pelarut petroleum eter sampai 10 ml, diperoleh pengenceran 10x. Dari pengenceran 10x diambil 1 ml dan ditambahkan pelarut petroleum eter sampai 10 ml, diperoleh pengenceran 100x.

Pada pengenceran 100x sampel diambil 1 ml dan dimasukkan dalam piring petri yang sudah diberi kode pengenceran kemudian dituangi media nutrisi agar sebanyak 15-20 ml dan dicampur sampai homogen dengan cara memutar piring petri sebanyak 5x searah dengan jarum jam dan 5x berlawanan dengan jarum jam. Didiamkan sampai membeku, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35-37°C selama 1x24 jam. Dihitung jumlah koloni bakteri. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan alat *Colony Counter*. Untuk kontrol sterilitas dibuat satu piring petri yang berisi 1 ml petroleum eter dan dituang dengan media nutrisi agar. Jumlah koloni pada seri pengenceran yang akan dihitung dikurangi dengan jumlah koloni pada kontrol, kemudian dikalikan faktor pengenceran untuk mendapatkan jumlah bakteri per gram atau per ml. Didalam perhitungan koloni, koloni besar, kecil, menjalar dianggap berasal dari satu bakteri dan dilakukan replikasi 3x pada setiap sampel.

paraben 0,05% dengan kadar 0,20% dan kadar 0,25%; serta antara kadar 0,10% dengan kadar 0,20% dan kadar 0,25% mempengaruhi daya lekat salep lidokain. Tetapi pada berbagai penyimpanan tidak terjadi perbedaan yang signifikan menunjukkan penyimpanan tidak mempengaruhi daya lekat salep lidokain. Secara jelas statistik *Anova* 1 jalan daya lekat salep lidokain dapat dilihat pada lampiran 10.



Gambar 10. Grafik kemampuan daya lekat salep lidokain terhadap kadar pengawet dan penyimpanan

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa semakin banyak kadar pengawet yang terkandung dalam basis salep maka kemampuan daya lekat salep tersebut juga semakin tinggi, karena pengawet yang digunakan propil paraben termasuk dalam fase lemak, sehingga semakin banyak maka konsistensinya semakin pekat dan viskositasnya meningkat dan menyebabkan kemampuan daya lekatnya meningkat. Semakin lama penyimpanan

mikroorganisme yang memiliki daya hidup pada sediaan salep lidokain dari bahan baku sampai produk akhir. Perhitungan angka kuman ini menggunakan metode *Standar plate count* dengan cara *Viable cell count* yaitu *pour plate* (agar tuang) berdasarkan asumsi bahwa jumlah koloni bakteri yang tumbuh atau hidup setelah diinkubasi dalam media dan lingkungan yang sesuai. Setelah masa inkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroorganisme yang dapat tumbuh dan berbiak yang berasal dari salep yang telah disimpan. Koloni yang tumbuh tidak selalu berasal dari satu sel mikroorganisme, karena beberapa mikroorganisme tertentu cenderung untuk berkelompok atau berantai, bila ditumbuhkan pada media dan lingkungan yang sesuai kelompok bakteri ini hanya akan menghasilkan satu koloni. Berdasarkan hal tersebut sering kali digunakan istilah *Colony Forming Units* (CFU/ml) untuk perhitungan jumlah mikroorganisme yang hidup. Perhitungan angka kuman salep lidokain ini dilakukan setelah salep tersebut disimpan selama satu minggu, hal ini untuk mengetahui apakah setelah salep disimpan akan ada pertumbuhan bakteri atau tidak, dan apakah pengawet yang ada pada formula dengan variasi konsentrasi dapat bekerja secara efektif pada salep untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Pada sampel dilakukan seri pengenceran, untuk mengetahui pada pengenceran berapa terdapat jumlah koloni 30-300, karena pada lempeng agar dengan jumlah koloni yang tinggi (> 300 koloni) sulit untuk dihitung, sehingga kemungkinan kesalahan perhitungan sangat besar. Pengenceran sampel membantu untuk memperoleh perhitungan jumlah koloni yang benar. Namun pengenceran

Selama penyimpanan alat dan media, pengerjaan semua harus dilakukan secara steril dan dalam kondisi aseptis dengan maksud supaya tidak ada kontaminasi dari lingkungan luar, sehingga dengan begitu diharapkan kuman yang tumbuh benar-benar berasal dari sampel.

Setelah diinkubasi, hasil yang diperoleh pada pengenceran 10x bakterinya tidak dapat tumbuh dan medianya terlihat seperti pecah-pecah, hal ini mungkin dikarenakan pengenceran masih terlalu kental dan komposisi lemaknya terlalu banyak sehingga koloninya tidak dapat tumbuh. Oleh karena itu pengujian dilakukan mulai dari pengenceran 100x.

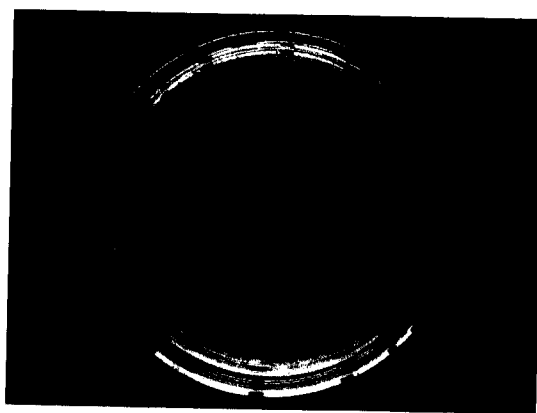
Berdasarkan hasil penelitian jumlah angka kuman dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel V. Hasil perhitungan angka kuman (CFU/gram)

| Rata-rata angka kuman ± SE | | | | | | |
|--|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------|
| Salep Lidokain dengan kadar propil paraben | | | | | | kontrol |
| 0,00% | 0,05% | 0,10% | 0,15% | 0,20% | 0,25% | |
| 26,2x10 ³ ±700,00 | 10,2x10 ³ ±100,00 | 9,3x10 ³ ±737,11 | 6,87x10 ³ ±296,27 | 3,7x10 ³ ±360,56 | 1,3x10 ³ ±251,66 | 0,0±0,0 |

Hasil angka kuman dapat dilihat pada foto di bawah ini :

Foto kontrol angka kuman salep Lidokain



Gambar 12. Foto kontrol angka kuman salep lidokain

Foto angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,00%



Gambar 13. Foto angka kuman pada pengenceran 100x

Foto angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,05%



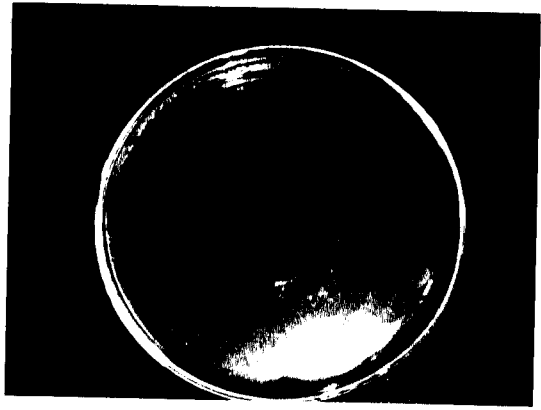
Gambar 14. Foto angka kuman pada pengenceran 100x

Foto angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,1%



Gambar 15. Foto angka kuman pada pengenceran 100x

Foto angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,15%



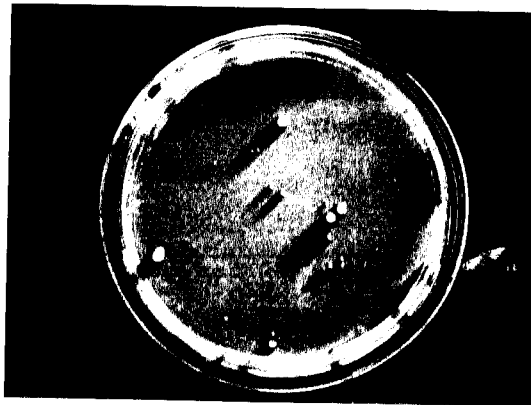
Gambar 16. Foto angka kuman pada pengenceran 100x

Foto angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,20%



Gambar 17. Foto angka kuman pada pengenceran 100x

Foto angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,25%



Gambar 18. Foto angka kuman pada pengenceran 100x

Lampiran 2 (lanjutan)

b. Analisis anova oneway viskositas salep terhadap penambahan kadar propil paraben

Oneway**Descriptives**

viskositas

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 0,05% | 5 | 114,4000 | 8,8487 | 3,9573 | 103,4129 | 125,3871 | 100,00 | 123,00 |
| 0,10% | 5 | 126,4000 | 10,7842 | 4,8229 | 113,0096 | 139,7904 | 115,00 | 143,00 |
| 0,15% | 5 | 148,4000 | 21,0428 | 9,4106 | 122,2719 | 174,5281 | 122,00 | 170,00 |
| 0,20% | 5 | 157,0000 | 14,4049 | 6,4420 | 139,1140 | 174,8860 | 135,00 | 170,00 |
| 0,25% | 5 | 158,0000 | 14,4049 | 6,4420 | 140,1140 | 175,8860 | 140,00 | 170,00 |
| Total | 25 | 140,8400 | 22,1842 | 4,4368 | 131,6828 | 149,9972 | 100,00 | 170,00 |

Test of Homogeneity of Variances

viskositas

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3,192 | 4 | 20 | ,235 |

ANOVA

viskositas

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 7601,760 | 4 | 1900,440 | 9,029 | ,120 |
| Within Groups | 4209,600 | 20 | 210,480 | | |
| Total | 11811,360 | 24 | | | |

Lampiran 9 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: daya sebar

Tukey HSD

| (I) kadar propil paraben | (J) kadar propil paraben | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------------|--------------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|--------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 0,05% | 0,10% | -4,180E-02 | 5,50E-02 | ,939 | -,20630 | ,12270 |
| | 0,15% | 5,2000E-02 | 5,50E-02 | ,875 | -,11250 | ,21650 |
| | 0,20% | ,16200 | 5,50E-02 | ,055 | -2,50305E-03 | ,32650 |
| | 0,25% | ,18600* | 5,50E-02 | ,022 | 2,1497E-02 | ,35050 |
| 0,10% | 0,05% | 4,1800E-02 | 5,50E-02 | ,939 | -,12270 | ,20630 |
| | 0,15% | 9,3800E-02 | 5,50E-02 | ,453 | -7,07031E-02 | ,25830 |
| | 0,20% | ,20380* | 5,50E-02 | ,011 | 3,9297E-02 | ,36830 |
| | 0,25% | ,22780* | 5,50E-02 | ,004 | 6,3297E-02 | ,39230 |
| 0,15% | 0,05% | -5,200E-02 | 5,50E-02 | ,875 | -,21650 | ,11250 |
| | 0,10% | -9,380E-02 | 5,50E-02 | ,453 | -,25830 | 7,0703E-02 |
| | 0,20% | -,11000 | 5,50E-02 | ,301 | -5,45031E-02 | ,27450 |
| | 0,25% | ,13400 | 5,50E-02 | ,146 | -3,05031E-02 | ,29850 |
| 0,20% | 0,05% | -,16200 | 5,50E-02 | ,055 | -,32650 | 2,5031E-03 |
| | 0,10% | -,20380* | 5,50E-02 | ,011 | -,36830 | -3,92969E-02 |
| | 0,15% | -,11000 | 5,50E-02 | ,301 | -,27450 | 5,4503E-02 |
| | 0,25% | 2,4000E-02 | 5,50E-02 | ,992 | -,14050 | ,18850 |
| 0,25% | 0,05% | -,18600* | 5,50E-02 | ,022 | -,35050 | -2,14969E-02 |
| | 0,10% | -,22780* | 5,50E-02 | ,004 | -,39230 | -6,32969E-02 |
| | 0,15% | -,13400 | 5,50E-02 | ,146 | -,29850 | 3,0503E-02 |
| | 0,20% | -2,400E-02 | 5,50E-02 | ,992 | -,18850 | ,14050 |

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogeneous Subsets

daya sebar

Tukey HSD^a

| kadar propil paraben | N | Subset for alpha = ,05 | | |
|----------------------|---|------------------------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 0,25% | 5 | 3,20200 | | |
| 0,20% | 5 | 3,22600 | 3,22600 | |
| 0,15% | 5 | 3,33600 | 3,33600 | 3,33600 |
| 0,05% | 5 | | 3,38800 | 3,38800 |
| 0,10% | 5 | | | 3,42980 |
| Sig. | | ,146 | ,055 | ,453 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 10. Hasil pengukuran daya lekat salep Lidokain (detik)

| Penyimpanan | | Kadar Propil paraben 0,05% | Kadar Propil paraben 0,10% | Kadar Propil paraben 0,15% | Kadar Propil paraben 0,20% | Kadar Propil paraben 0,25% |
|-------------|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Hari ke-0 | 1 | 3,03 | 3,48 | 4,15 | 6,43 | 6,43 |
| | 2 | 3,53 | 3,55 | 3,28 | 6,17 | 6,17 |
| | 3 | 3,47 | 2,55 | 3,87 | 4,22 | 4,22 |
| | 4 | 2,90 | 3,60 | 3,94 | 4,37 | 4,37 |
| | 5 | 2,68 | 2,53 | 3,38 | 3,72 | 3,72 |
| | x | 3,122 | 3,142 | 3,724 | 4,982 | 4,982 |
| Hari ke-3 | 1 | 5,22 | 4,30 | 4,65 | 6,22 | 6,19 |
| | 2 | 2,34 | 5,31 | 3,37 | 4,84 | 6,93 |
| | 3 | 2,31 | 1,90 | 3,95 | 3,53 | 5,58 |
| | 4 | 2,45 | 2,95 | 4,15 | 5,41 | 3,21 |
| | 5 | 3,51 | 1,90 | 3,25 | 5,14 | 3,45 |
| | x | 3,17 | 3,272 | 3,876 | 5,028 | 5,072 |
| Hari ke-6 | 1 | 2,49 | 2,69 | 4,28 | 3,68 | 3,35 |
| | 2 | 3,29 | 3,52 | 3,69 | 4,50 | 4,76 |
| | 3 | 2,05 | 3,23 | 3,21 | 4,70 | 4,80 |
| | 4 | 3,37 | 2,91 | 3,60 | 3,47 | 3,22 |
| | 5 | 3,72 | 3,20 | 3,61 | 2,91 | 3,69 |
| | x | 2,984 | 3,11 | 3,68 | 3,85 | 3,968 |
| Hari ke-9 | 1 | 3,16 | 2,71 | 3,94 | 4,75 | 2,71 |
| | 2 | 2,60 | 3,22 | 3,28 | 2,56 | 3,85 |
| | 3 | 4,20 | 2,52 | 3,45 | 4,20 | 4,26 |
| | 4 | 1,38 | 3,14 | 3,60 | 3,25 | 3,77 |
| | 5 | 1,81 | 3,05 | 3,71 | 3,91 | 3,45 |
| | x | 2,63 | 2,728 | 3,596 | 3,73 | 3,608 |
| Hari ke-12 | 1 | 2,72 | 2,65 | 2,95 | 4,15 | 3,51 |
| | 2 | 3,00 | 3,17 | 1,87 | 3,23 | 3,77 |
| | 3 | 1,87 | 1,92 | 4,75 | 3,52 | 2,65 |
| | 4 | 2,70 | 2,57 | 3,46 | 3,31 | 3,85 |
| | 5 | 2,06 | 2,45 | 3,55 | 3,14 | 3,97 |
| | x | 2,47 | 2,552 | 3,316 | 3,47 | 3,55 |

Lampiran 11 (lanjutan)

b. Analisis anova oneway daya lekat salep terhadap penambahan kadar propil paraben

Oneway

Descriptives

daya lekat

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 0,05% | 5 | 2,87500 | ,31000 | ,13864 | 2,49068 | 3,26052 | 2,470 | 3,170 |
| 0,10% | 5 | 2,96080 | ,30547 | ,13661 | 2,58151 | 3,34009 | 2,552 | 3,272 |
| 0,15% | 5 | 3,63840 | ,20691 | 9,25E-02 | 3,38148 | 3,89532 | 3,316 | 3,876 |
| 0,20% | 5 | 4,12240 | ,64096 | ,28665 | 3,32654 | 4,91826 | 3,470 | 5,028 |
| 0,25% | 5 | 4,43880 | ,78601 | ,35152 | 3,46284 | 5,41476 | 3,550 | 5,072 |
| Total | 25 | 3,80720 | ,77022 | ,15508 | 3,28526 | 3,92914 | 2,470 | 5,072 |

Test of Homogeneity of Variances

daya lekat

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 9,738 | 4 | 20 | ,065 |

ANOVA

daya lekat

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 9,555 | 4 | 2,389 | 9,473 | ,000 |
| Within Groups | 5,044 | 20 | ,252 | | |
| Total | 14,599 | 24 | | | |

Lampiran 13. Perhitungan angka kuman salep Lidokain dengan berbagai kadar pengawet

RUMUS:

Lempeng I, pengenceran 100x = a koloni

Lempeng II, kontrol = b koloni

Jumlah kuman tiap gram = $\frac{(a-b)(100)}{1}$

1

1. Angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,00%

$$\text{Angka kuman} = \frac{(249-0)(100) + (264-0)(100) + (273-0)(100)}{3}$$

$$= 26.200 \text{ CFU/gram}$$

2. Angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,05%

$$\text{Angka kuman} = \frac{(101-0)(100) + (101-0)(100) + (104-0)(100)}{3}$$

$$= 10.200 \text{ CFU/gram}$$

3. Angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,10%

$$\text{Angka kuman} = \frac{(82-0)(100) + (90-0)(100) + (107-0)(100)}{3}$$

$$= 9.300 \text{ CFU/gram}$$

4. Angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,15%

$$\text{Angka kuman} = \frac{(70-0)(100) + (73-0)(100) + (63-0)(100)}{3}$$

$$= 6.870 \text{ CFU/gram}$$

5. Angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,20%

$$\text{Angka kuman} = \frac{(44-0)(100) + (35-0)(100) + (32-0)(100)}{3}$$

$$= 3700 \text{ CFU/gram}$$

6. Angka kuman salep Lidokain dengan kadar Propil paraben 0,25%

$$\text{Angka kuman} = \frac{(10-0)(100) + (11-0)(100) + (18-0)(100)}{3}$$

$$= 1300 \text{ CFU/gram}$$

Lampiran 15 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Angka Kuman
Tukey HSD

| (I) Kadar Pengawet | (J) Kadar Pengawet | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|--------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 0.00% | 0.05% | 16000,0000* | 664,4407 | ,000 | 13768,1659 | 18231,8341 |
| | 0.1% | 16900,0000* | 664,4407 | ,000 | 14668,1659 | 19131,8341 |
| | 0.15% | 19333,3333* | 664,4407 | ,000 | 17101,4992 | 21565,1675 |
| | 0.2% | 22500,0000* | 664,4407 | ,000 | 20268,1659 | 24731,8341 |
| | 0.25% | 24900,0000* | 664,4407 | ,000 | 22668,1659 | 27131,8341 |
| 0.05% | 0.00% | -16000,000* | 664,4407 | ,000 | -18231,8341 | -13768,1659 |
| | 0.1% | 900,0000 | 664,4407 | ,751 | -1331,8341 | 3131,8341 |
| | 0.15% | 3333,3333* | 664,4407 | ,003 | 1101,4992 | 5565,1675 |
| | 0.2% | 6500,0000* | 664,4407 | ,000 | 4268,1659 | 8731,8341 |
| | 0.25% | 8900,0000* | 664,4407 | ,000 | 6668,1659 | 11131,8341 |
| 0.1% | 0.00% | -16900,000* | 664,4407 | ,000 | -19131,8341 | -14668,1659 |
| | 0.05% | -900,0000 | 664,4407 | ,751 | -3131,8341 | 1331,8341 |
| | 0.15% | 2433,3333* | 664,4407 | ,030 | 201,4992 | 4665,1675 |
| | 0.2% | 5600,0000* | 664,4407 | ,000 | 3368,1659 | 7831,8341 |
| | 0.25% | 8000,0000* | 664,4407 | ,000 | 5768,1659 | 10231,8341 |
| 0.15% | 0.00% | -19333,333* | 664,4407 | ,000 | -21565,1675 | -17101,4992 |
| | 0.05% | -3333,3333* | 664,4407 | ,003 | -5565,1675 | -1101,4992 |
| | 0.1% | -2433,3333* | 664,4407 | ,030 | -4665,1675 | -201,4992 |
| | 0.2% | 3166,6667* | 664,4407 | ,005 | 934,8325 | 5398,5008 |
| | 0.25% | 5566,6667* | 664,4407 | ,000 | 3334,8325 | 7798,5008 |
| 0.2% | 0.00% | -22500,000* | 664,4407 | ,000 | -24731,8341 | -20268,1659 |
| | 0.05% | -6500,0000* | 664,4407 | ,000 | -8731,8341 | -4268,1659 |
| | 0.1% | -5600,0000* | 664,4407 | ,000 | -7831,8341 | -3368,1659 |
| | 0.15% | -3166,6667* | 664,4407 | ,005 | -5398,5008 | -934,8325 |
| | 0.25% | 2400,0000* | 664,4407 | ,033 | 168,1659 | 4631,8341 |
| 0.25% | 0.00% | -24900,000* | 664,4407 | ,000 | -27131,8341 | -22668,1659 |
| | 0.05% | -8900,0000* | 664,4407 | ,000 | -11131,8341 | -6668,1659 |
| | 0.1% | -8000,0000* | 664,4407 | ,000 | -10231,8341 | -5768,1659 |
| | 0.15% | -5566,6667* | 664,4407 | ,000 | -7798,5008 | -3334,8325 |
| | 0.2% | -2400,0000* | 664,4407 | ,033 | -4631,8341 | -168,1659 |

*. The mean difference is significant at the .05 level.

