

**FORMULASI DAN UJI DAYA HAMBAT  
MIKROEMULSI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK  
KALAMANSI (*Citrus x microcarpa* Bunge) SEBAGAI  
SPRAY HAND SANITIZER TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**



Oleh :

**DONA FAUZIYAH**  
**NIM: 1604053**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2020**

## PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dona Fauziyah

NIM : 1604053

Judul Skripsi : Formulasi Dan Uji Daya Hambat Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) sebagai *Spray Hand Sanitizer* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dan unsur plagiatisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut Universitas Perintis Indonesia untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

Padang, 09 September 2020

Dona Fauziyah

## Lembar Pengesahan Skripsi

Dengan ini dinyatakan bahwa:

Nama : Dona Fauziah

NIM : 1604053

Judul Skripsi : Formulasi Dan Uji Daya Hambat Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) sebagai *Spray Hand Sanitizer* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan tanggal 09 September 2020 berdasarkan ketentuan yang berlaku

**Ketua Sidang**

**apt. Revi Yenti, M.Si**

**Pembimbing I**

**Anggota Penguji I**

**Prof. Dr. apt. Elfi Sahlan Ben**

**apt. Ria Afrianti, M.Farm**

**Pembimbing II**

**Anggota Penguji II**

**apt. Elmitra, M.Farm**

**Drs. BA. Martinus, M.Si**

**Mengetahui :  
Ketua Program Studi S1 Farmasi**

**apt. Revi Yenti , M.Si**

## PERSEMBAHAN



“dan bahwa manusia hanya memperoleh apa yang telah diusahakannya”  
(Qs. An-Najm : 39)

*Alhamdulillahirrabbi'alamiin Sebuah langkah usai sudah satu cita telah ku gapai,  
Namun...*

*Itu bukan akhir dari perjalanan melainkan awal dari satu perjuangan...*

*Syukur Alhamdulillah ku ucapkan kepada Allah S.W.T*

*Sebuah perjalanan telah ku tempuh dengan izin-Mu ya Allah*

*Walau terkadang tersandung dan terjatuh...*

*Ya Rabbi... Sujudku padamu*

*Sepercik ilmu telah aku dapat atas ridha-Mu ya Allah*

*Semoga hari-hari yang cerah membentang di depanku*

*Bersama rahmat dan ridha-Mu ya Allah*

•  
“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(Qs. Al-Insyirah : 5-6)

### TERUNTUK IBU & AYAH

Tidak ada kata yang mampu menggambarkan bagaimana pengorbanan orang tua untuk anak-anaknya Bu, Yah. Terimakasih atas segala support yang telah engkau berikan, segala doa kebaikan yang telah engkau hantarkan, karena semua yang telah saya lalui ini berkat doa dan air mata disetiap sujud dan tengadahmu kepada ALLAH SWT. Semua ini saya persembahkan untuk Ibu (**Watri Dewi**) dan Ayah (**Ridwan**) tercinta.

### TERUNTUK ADIK (Afdhol Abdul Kalil)

Untuk adik tercinta, tiada waktu yang paling berharga dalam hidup selain menghabiskan waktu denganmu. Walaupun saat dekat sering bertengkar, tapi saat jauh saling merindukan. Terimakasih untuk semua bantuan dan semangat darimu, semoga awal kesuksesan saya ini dapat membanggakanmu.

### TERUNTUK KELUARGA

Terimakasih atas segala support yang telah diberikan baik dukungan secara moral maupun material.

### TERUNTUK DOSEN DAN STAFF

Terimakasih untuk semua ilmu yang berarti, semoga berguna dimasa depan. Teristimewa kepada **Bapak Prof. Dr. apt Elfi Sahlan Ben** dan **Ibu apt. Elmitra, M.Farm** yang telah banyak membimbing saya dengan penuh kesabaran dari awal sampai saat ini, serta **Bapak Drs. BA. Martinus, M.Si** sebagai pembimbing akademik yang sudah sangat membantu, membimbing dan menasehati saya selama ini.

### TERUNTUK BOLOT'S

Teruntuk **Seza Seftiani, Amd.Farm, Titania Marchella S.Si, Rina Widiani, S.Farm, Egi Wahyuni, Amd, Kes, Rahmi Fadhilah, S.Tr. Kes dan Uli Widarti, Amd, Farm.** Terimakasih atas segala motivasi, semangat, nasihat yang telah kalian berikan dari kita SMF hingga saat ini dan terimakasih juga karena selalu ada di saat suka maupun duka. *Finally*, kita semua menjadi seorang sarjana dengan gelar yang berbeda. Walaupun kita berasal dari sekolah menengah farmasi, tetapi tidak melunturkan semangat kita untuk menggapai impian kita masing-masing.

### TERUNTUK BACOT EMPIRE

Untuk Vela, Monic, Asih, Icin, Gina, Arif, Fajar, Satria, Yoga, Septa, Rima, Rori, Ulfa, Atika, Widy dan Rifqi, terimakasih atas segala bantuan yang telah kalian berikan selama penelitian ini, terimakasih yang selalu rela bergadang untuk menyiapkan sampel penelitian saya. Terimakasih untuk selalu memberikan support jikalau saya merasakan lelah dengan penelitian ini. Terimakasih untuk semua suka dan duka yang telah kita lalui bersama.

Terimakasih juga untuk keluarga besar **BEM MM STIFI YP PADANG Kabinet Harmoni** dan **Kabinet Garuda Aksi**, terimakasih sudah menumbuhkan rasa cinta ke lembaga ini, terimakasih sudah pernah berjuang bersama, terimakasih atas semua pengalaman yang telah saya dapatkan. Begitu banyak pembelajaran yang saya dapatkan di organisasi ini. Semoga ilmu dari organisasi ini dapat bermanfaat bagi saya di dunia kerja. Terimakasih juga saya ucapkan kepada keluarga besar **Veren16en** dan semua teman-teman serta pihak-pihak yang tidak bisa di sebutkan satu persatu....terimakasih.

*"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya"*

**(Qs. Al-baqarah : 286)**

*From Dona Fauziyah, S.Farm*

## KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “FORMULASI DAN UJI DAYA HAMBAT DARI MIKROEMULSI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK KALAMANSI (*Citrus x microcarpa* Bunge) SEBAGAI *SPRAY HAND SANITIZER* TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*”. Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan sarjana strata satu pada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang.

Dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari iringan do’a tulus dan dukungan tiada hentinya yang diberikan oleh Ayahanda, Ibunda serta keluarga besar yang sangat penulis sayangi, kasih sayang berserta do’a tulus ikhlas memberikan semangat dan dukungan yang tiada ternilai bagi penulis. Selain itu, penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Apt. Elfi Sahlan Ben sebagai Rektor Universitas Perintis Indonesia
2. Ibu Dr. Apt. Eka Fitrianda, M.Farm sebagai Dekan di Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia
3. Bapak Prof. Dr. Apt. Elfi Sahlan Ben dan ibu apt. Elmitra, M.Farm selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah berkenan

meluangkan waktu, memberikan petunjuk, ilmu, nasehat, arahan serta bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

4. Bapak B.A Martinus, M.Si. selaku Pembimbing akademik, yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam kegiatan akademis penulis di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Perintis Padang.
5. Bapak/Ibu Dosen yang telah mendidik dan mencurahkan ilmu selama ini kepada penulis dan Staf Karyawan/karyawati serta analis labor Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang.
6. Kerabat yang selalu mendampingi dan rekan – rekan yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu. Terimakasih untuk cinta dan cerita yang sangat teramat banyak.

Semoga Allah SWT membalas dan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan yang bernilai ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, Agustus 2020

Penulis

## ABSTRAK

Kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, sehingga dapat digunakan sebagai zat aktif dalam sediaan *spray hand sanitizer* dari mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi dalam bentuk sediaan mikroemulsi *spray hand sanitizer* serta menguji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan difusi agar. Dalam penelitian ini dibuat 3 formula *spray hand sanitizer* dengan variasi konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi 20%, 40% dan 60% . Kemudian dilakukan evaluasi kestabilan fisik dengan parameter uji meliputi organoleptis, uji kecepatan mengering, pemeriksaan pH, uji stabilitas, uji homogenitas dan penentuan ukuran partikel mikroemulsi dan analisis data menggunakan ANOVA satu arah. Hasil penelitian menunjukkan berdasarkan uji kestabilan fisik didapatkan bahwa secara organoleptis, uji kecepatan mengering, pemeriksaan pH, uji homogenitas, uji stabilitas untuk ketiga formula stabil selama 6 bulan penyimpanan. Selanjutnya berdasarkan uji antibakteri *spray hand sanitizer* terhadap *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil bahwa konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan menunjukkan rata-rata daya hambat sebesar 12.16 mm (kuat) pada konsentrasi 20%, 13.6 mm (kuat) pada konsentrasi 40%, dan 15.6 mm (kuat) pada konsentrasi 60%. Analisis uji aktivitas antibakteri pada setiap formula menggunakan statistik ANOVA satu arah didapatkan nilai signifikan 0,000 karena nilainya <0,05.

Kata kunci : *Citrus x microcarpa*, Mikroemulsi *hand sanitizer*, *Staphylococcus aureus*



## ABSTRACT

Kalamansi orange peel (*Citrus x microcarpa* Bunge) is a plant that has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, so it can be used as an active ingredient in *hand sanitizer spray* preparations from kalamansi orange peel essential oil microemulsion. This study aims to formulate the essential oil of kalamansi orange peel in the form of a microemulsion spray hand sanitizer and to test its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* using agar diffusion. In this study, 3 hand sanitizer spray formulas were made with variations in the concentration of 20%, 40% and 60% of the Kalamansi orange peel essential oil. Then the physical stability evaluation was carried out with test parameters including organoleptic, drying speed test, pH examination, stability test, homogeneity test and microemulsion particle size determination and data analysis using one-way ANOVA. The results showed that based on the physical stability test, it was found that organoleptically, drying speed test, pH examination, homogeneity test, stability test for the three formulas were stable for 6 months of storage. Furthermore, based on the spray hand sanitizer antibacterial test against *Staphylococcus aureus*, it was found that the essential oil concentration of kalamansi orange peel had an effect on the inhibition of the growth of *Staphylococcus aureus* by showing an average inhibitory power of 12.16 mm (strong) at a concentration of 20%, 13.6 mm (strong) at a concentration. 40%, and 15.6 mm (strong) at a concentration of 60%. Analysis of the antibacterial activity test in each formula using one-way ANOVA statistic obtained a significant value of 0.000 because the value is <0.05.

Keywords: *Citrus x microcarpa*, Microemulsion hand sanitizer, *Staphylococcus aureus*

## DAFTAR ISI

<b>JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....</b>	<b>iii</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Tinjauan Biologi.....	5
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Jeruk Kalamansi .....	5
2.1.2 Morfologi Tumbuhan Jeruk Kalamansi .....	6
2.1.3. Nama Daerah .....	6
2.1.4. Kandungan Kimia .....	6
2.2. Tinjauan Farmakologi .....	7
2.2.1. Penelitian yang Telah Dilakukan.....	7
2.3. Tinjauan Farmasetik .....	7
2.3.1 <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	7
2.3.2 Fungsi dan Karakteristik <i>Hand sanitizer</i> yang Ideal .....	8
2.3.3 Mikroemulsi.....	9
2.3.4 Keuntungan Mikroemulsi .....	10
2.3.5 Komposisi Mikroemulsi .....	11
2.3.6 Metode Pembuatan Mikroemulsi (Flanagan <i>et al.</i> , 2006) .....	12
2.4. Tinjauan Umum.....	13
2.4.1 Bakteri pada Kulit.....	13
2.4.2 Isolasi Minyak Atsiri .....	17
2.4.3 Antibakteri .....	19
2.4.4 Monografi Bahan <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	22
<b>BAB III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	25
3.2 Metode penelitian .....	25
3.2.1 Alat.....	25

3.2.2 Bahan .....	25
3.3 Pengambilan Bakteri .....	25
3.4. Pelaksanaan Penelitian .....	26
3.4.1 Pengambilan Sampel.....	26
3.4.2 Identifikasi Sampel .....	26
3.4.3 Penyiapan Simplisia Kulit Jeruk Kalamansi ( <i>Citrus x microcarpa</i> Bunge).....	26
3.4.4 Destilasi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi ( <i>Citrus x microcarpa</i> Bunge) .....	26
3.4.5 Pemeriksaan Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi ( <i>Citrus x microcarpa</i> Bunge) .....	27
3.4.6 Formulasi Mikroemulsi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	28
3.4.7 Pembuatan Mikroemulsi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi ( <i>Citrus microcarpa</i> Bunge.) sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	28
3.4.8 Evaluasi <i>Spray Hand sanitizer</i> Mikroemulsi .....	29
3.4.9 Uji Daya Hambat Antibakteri Mikroemulsi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	30
3.4.10 Analisis Data.....	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	33
4.1. Hasil.....	33
4.1.1 Hasil Pemeriksaan Identifikasi Jeruk Kalamansi ( <i>Citrus x microcarpa</i> Bunge.).....	33
4.1.2 Hasil Pemeriksaan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi.....	33
4.1.3 Hasil Pemeriksaan Bahan Tambahan .....	33
4.1.4 Hasil Evaluasi <i>Spray Hand sanitizer</i> Mikroemulsi.....	33
4.1.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	34
4.2 Pembahasan .....	35
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran .....	47
DAFTAR PUSTAKA .....	48
Lampiran .....	53

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>		<b>Halaman</b>
<b>Tabel 1.</b>	Standar Mutu Detergen Sintetik Pembersih Tangan .....	8
<b>Tabel 2.</b>	Flora Normal Kulit .....	14
<b>Tabel 3.</b>	Klasifikasi Kekuatan Daya Hambat .....	22
<b>Tabel 4.</b>	Formula Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi Sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	29
<b>Tabel 5.</b>	Hasil Rekapitulasi Evaluasi <i>Spray Hand sanitizer</i> Mikroemulsi .....	41
<b>Tabel 6.</b>	Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi Sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	43
<b>Tabel 7.</b>	Hasil pemeriksaan minyak atsiri .....	58
<b>Tabel 8.</b>	Hasil rendemen minyak atsiri.....	58
<b>Tabel 9.</b>	Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri.....	58
<b>Tabel 10.</b>	Hasil pemeriksaan Tween 20 .....	59
<b>Tabel 11.</b>	Hasil pemeriksaan DMDM <i>hydantoin</i> .....	59
<b>Tabel 12.</b>	Hasil pemeriksaan asam sitrat .....	60
<b>Tabel 13.</b>	Hasil pemeriksaan BHT .....	60
<b>Tabel 14.</b>	Hasil evaluasi organoleptis.....	61
<b>Tabel 15.</b>	Hasil pemeriksaan waktu kecepatan mengering .....	62
<b>Tabel 16.</b>	Hasil pemeriksaan pH .....	62
<b>Tabel 17.</b>	Hasil pemeriksaan stabilitas dengan metode <i>freeze and thaw</i> .....	62
<b>Tabel 18.</b>	Hasil pemeriksaan stabilitas pada suhu kamar.....	63
<b>Tabel 19.</b>	Hasil pemeriksaan homogenitas.....	63
<b>Tabel 20.</b>	Hasil Pemeriksaan Ukuran Partikel.....	63
<b>Tabel 21.</b>	Hasil Uji Statistik ANOVA Satu Arah Aktivitas Antibakteri <i>Spray Hand Sanitizer</i> .....	68
<b>Tabel 22.</b>	Hasil Analisis Varian Homogenitas dari Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi Sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	68
<b>Tabel 23.</b>	Hasil Analisis Varian dari Aktivitas Antibakteri <i>Spray Hand sanitizer</i> dari Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi.....	69
<b>Tabel 24.</b>	Hasil Analisis Uji Lanjut Duncan Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi Sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	69

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Jeruk kalamansi <i>Citrus microcarpa</i> Bunge.....	5
2. <i>Staphylococcus aureus</i> (Brooks GF <i>et al.</i> , 2013) .....	15
3. Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi ( <i>Citrus x microcarpa</i> Bunge).....	36
4. Pengujian Pewarnaan Gram Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
5. Aktivitas Antibakteri Sediaan <i>Spray Hand Sanitizer</i> dari Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	44
6. Diagram Aktivitas Antibakteri Sediaan <i>Spray Hand Sanitizer</i> dari mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	44
7. Tanaman jeruk kalamansi.....	53
8. Kulit jeruk kalamansi .....	53
9. Surat identifikasi tanaman jeruk kalamansi .....	54
10. Skema Kerja Pengolahan Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi ( <i>Citrus microcarpa</i> Bunge) .....	55
11. Skema Kerja Pembuatan Dan Evaluasi Mikroemulsi Kulit Jeruk Kalamansi ( <i>Citrus x microcarpa</i> Bunge) Sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	56
12. Sediaan Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk kalamansi ( <i>Citrus x microcarpa</i> Bunge) Sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	57
13. Grafik Ukuran Partikel Terdispersi F1 .....	64
14. Grafik Ukuran Partikel Terdispersi F2.....	65
15. Grafik Ukuran Partikel Terdispersi F3.....	68
16. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	69

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tanaman Jeruk Kalamansi .....	53
2. Surat identifikasi tanaman jeruk kalamansi .....	54
3. Skema Kerja Pengolahan Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi ( <i>Citrus x microcarpa</i> Bunge) .....	55
4. Pembuatan mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi ( <i>Citrus xmicrocarpa</i> Bunge) Sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	56
5. Sediaan Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi ( <i>Citrus x</i> <i>microcarpa</i> Bunge) Sebagai <i>Spray Hand sanitizer</i> .....	57
6. Pemeriksaan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi .....	58
7. Pemeriksaan Bahan Tambahan .....	59
8. Hasil evaluasi Spray mikroemulsi <i>hand sanitizer</i> .....	61
9. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri <i>Spray Hand sanitizer</i> Kulit buah jeruk kalamansi ( <i>Citrus microcarpa</i> Bunge) Terhadap <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> .....	67
10. Hasil Uji Statistik ANOVA Satu Arah Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi Sebagai <i>Spray Hand</i> <i>Sanitizer</i> Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	68

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Dalam menjaga kesehatan, memelihara kebersihan tangan merupakan salah satu cara untuk menjaga kesehatan tubuh dari bakteri. Infeksi dari berbagai penyakit, biasanya sebagian besar terjadi akibat kelalasan dalam menjaga kebersihan tangan. Salah satu upaya untuk mencegah terjadinya infeksi melalui tangan yaitu dengan penggunaan antiseptik sebagai pengganti sabun dan air yang dinilai tidak praktis dalam pemakaiannya. Antiseptik merupakan zat yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang hidup di permukaan tubuh (Isadiartuti & Sari, 2005).

Sediaan *hand sanitizer* merupakan pembersih tangan antiseptik yang memiliki kelebihan dalam membunuh atau mengurangi jumlah bakteri penyebab infeksi secara cepat, harga terjangkau dan praktis dalam penggunaannya. (Adikusumo *dkk*, 2013).

Pengembangan jenis *hand sanitizer* yang sudah banyak dilakukan seperti kandungan alkohol yang tinggi untuk keefektifan membunuh bakteri pada tangan. Alkohol adalah kandungan utama bahan aktif yang terdapat dalam produk *hand sanitizer* di pasaran pada umumnya. Alkohol memiliki keuntungan sebagai antibakteri yang sangat baik namun memiliki efek samping yaitu dapat merusak lapisan lemak sebum pada kulit sehingga tangan menjadi terasa kering setelah menggunakannya. Oleh karena itu, diperlukan bahan utama yang lain sebagai alternatif bahan aktif sediaan *hand sanitizer* yang memiliki efek samping kecil, namun memiliki manfaat yang sama dengan alkohol, memiliki efek dingin seperti alkohol serta sebagai antibakteri (Isnawati, 2019)

Antiseptik memerlukan bahan aktif yang memiliki aktivitas antibakteri dalam pembuatannya. Salah satu tanaman yang tersebar di beberapa daerah Indonesia serta berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan antibakteri adalah tanaman jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge.) yang dapat mengobati penyakit infeksi akibat bakteri *Staphylococcus aureus*. Kulit buah jeruk kalamansi memiliki kandungan kimia antara lain phenyl ethyl alcohol, geraniol, eugenol (Debora *et al.*, 2018).

Pada penelitian Debora *et al* (2018) menyatakan bahwa minyak atsiri kulit jeruk kalamansi memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, hal ini ditunjukkan dengan konsentrasi minyak atsiri 5%, 25% dan 50% mempunyai daya hambat antibakteri tergolong sedang, konsentrasi 100% tergolong kuat. Dalam penelitian lain (Amiliah *et al*, 2018) telah dilakukan uji daya hambat minyak atsiri kulit jeruk kalamansi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* disimpulkan bahwa minyak atsiri kulit jeruk kalamansi memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20% dengan diameter zona hambat 8,3 mm (sedang).

Salah satu sistem penghantaran obat (Drug Delivery System) yang bisa digunakan untuk mengatasi ketidakstabilan adalah mikroemulsi. Mikroemulsi merupakan sistem yang stabil secara termodinamika (Jufri dkk, 2006). Mikroemulsi adalah suatu sistem dispersi minyak dengan air yang distabilkan oleh lapisan antarmuka dari molekul surfaktan. Mikroemulsi yang dibuat pada penelitian ini adalah mikroemulsi dengan tipe minyak dalam air (M/A) menggunakan minyak atsiri sebagai fase minyaknya.



Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk memformulasikan dan menguji aktivitas antibakteri *spray hand sanitizer* dari mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge.) terhadap *Staphylococcus aureus*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) dapat diformulasikan menjadi sediaan mikroemulsi sebagai *spray hand sanitizer*?
2. Bagaimanakah aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari *spray hand sanitizer* mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge)?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk memformulasikan mikroemulsi dari minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) sebagai *spray sanitizer*.
2. Untuk melihat aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari *spray hand sanitizer* mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge).

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi.

2. Bagi Masyarakat

Hasil dari penelitian ini, masyarakat dapat menikmati hasil olahan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi menjadi *spray hand sanitizer mikroemulsi*

untuk mengurangi prevalensi penyakit akibat bakteri serta dapat meningkatkan pemanfaatan herba jeruk kalamansi di tengah masyarakat.

### 3. Bagi Pemerintah

Hasil dari penelitian ini dapat menjadi solusi untuk meningkatkan pemanfaatan herba buah jeruk kalamansi yang di olah menjadi salah satu sediaan farmasi berupa *spray hand sanitizer* mikroemulsi dan dapat menurunkan prevalensi penyakit akibat bakteri salah satunya yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Biologi

#### 2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Jeruk Kalamansi

Jeruk kalamansi (Inggris: *calamondin* atau *calamansi*;) adalah jenis buah jeruk yang berkembang pesat di Bengkulu, berbau harum, dan memiliki rasa yang asam ketika sudah masak, dan pahit ketika masih mentah. Klasifikasi tanaman jeruk kalamansi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Tanpa takson	: Angiospermae
Tanpa takson	: Eudikotil
Ordo	: Sapindales
Family	: Rutaceae
Genus	: <i>Citrofortunella</i>
Species	: <i>Citrus microcarpa</i> Bunge.



**Gambar 1. Jeruk kalamansi *Citrus microcarpa* Bunge (Yuniarti, 2008)**

### **2.1.2 Morfologi Tumbuhan Jeruk Kalamansi**

Buah jeruk kalamansi memiliki kulit dengan permukaan halus dan berpori minyak, berwarna kuning, atau berwarna hijau kekuning-kuningan. Besar jeruk kalamansi berdiameter antara 3–4 cm.

Pohon jeruk kalamansi mampu tumbuh dengan ketinggian kira-kira 2–7 m, tumbuh tegak ramping, silindris, cabang yang padat, batang berduri, daun dan batang mengembang menyamping, memiliki akar tunggang.

Daun jeruk kalamansi sangat aromatik, berbentuk oval, berwarna hijau gelap, permukaan atas mengilap, permukaan bawah berwarna hijau kekuningan, dan berukuran 4–7 cm. Pada bagian dekat tangkai, daunnya bertepi halus, semakin ke pucuk semakin bergerigi.

Bunga jeruk kalamansi terdiri dari bunga majemuk, memiliki putik dan benang sari dalam satu bunga pada satu pohon, sehingga satu pohon kalamansi mampu melakukan pembuahan tanpa adanya pohon lain (Yuniarti, 2008)

### **2.1.3. Nama Daerah**

Tanaman jeruk kalamansi memiliki nama yang berbeda-beda di setiap daerahnya, seperti di Malaysia Jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) ini lebih dikenal dengan nama kasturi lime atau limau kasturi. Di Philipina *Citrus microcarpa* dikenal dengan nama kumquat, sedangkan di Indonesia masyarakat lebih mengenal dengan nama jeruk/limau kalamansi. (Dalimartha, 2008).

### **2.1.4. Kandungan Kimia**

Berbagai penelitian mengungkapkan bahwa di dalam kulit jeruk kalamansi terdapat khasiat utama yaitu minyak atsiri. Komponen senyawa kimia diantaranya phenyl ethyl alcohol, geraniol, eugenol. (Debora *et al.*, 2018).

Pada buah jeruk kalamansi sangat kaya akan bulir-bulir sitrat yang mudah dipisahkan dan mengandung vitamin C. Satu buah jeruk kalamansi memiliki kandungan karbohidrat 3%, mineral 1%, asam askorbat 0,1%, dan asam sitrat 3%. Kulitnya kaya akan minyak esensial dan asam askorbat (0,15%). Satu jeruk kalamansi terdiri dari kira-kira 12 kalori, berisi sekitar 1,2 g serat, 37 mg kalium, 7,3 mg vitamin C, 57,4 mg IU vitamin A, 8,4 mg kalsium, dan 3,1 g karbohidrat (Yuniarti, 2008)

## **2.2. Tinjauan Farmakologi**

### **2.2.1. Penelitian yang Telah Dilakukan**

Penelitian tentang pemanfaatan dan khasiat dari jeruk kalamansi masih sedikit dilakukan, baik dalam bidang kesehatan maupun dalam bidang ilmu lainnya. Hasil dari penelitian menyatakan bahwa kulit jeruk kalamansi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Konsentrasi 5%, 25%, dan 50% mempunyai daya antibakteri tergolong sedang, konsentrasi 100% tergolong kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi 5% dan 25% mempunyai daya antibakteri tergolong sedang, konsentrasi 50% dan 100% tergolong kuat pada bakteri *Escherichia coli* (Debor et al., 2018).

## **2.3. Tinjauan Farmasetik**

### **2.3.1. *Spray Hand sanitizer***

*Hand sanitizer* adalah produk pembersih tangan dalam bentuk cairan atau gel yang mengandung zat antiseptik yang digunakan untuk mencuci tangan tanpa harus membilasnya dengan air (Depkes RI, 2008). *Spray hand sanitizer* merupakan bentuk sediaan semprot antikuman praktis berupa cairan antiseptik,

pemakaiannya dengan cara disemprotkan pada telapak tangan, kemudian diratakan pada permukaan tangan tanpa luka. Pada umumnya, bahan antiseptik yang digunakan dalam formula sediaan adalah dari golongan alkohol (etanol, propanol, isopropanol) dengan konsentrasi lebih kurang 50% sampai dengan 70% dan jenis desinfektan lain seperti *chlorhexidine* dan *triclosan* (Block, 2001;Gennaro, 1995).

### 2.3.2. Fungsi dan Karakteristik *Hand sanitizer* yang Ideal

*Hand sanitizer* berfungsi untuk menghambat dan membunuh bakteri (Retnosari dan Isadiartuti, 2006). Pada sediaan *hand sanitizer* ini juga dikenal dengan detergen sintetik cair pembersih tangan yang merupakan sediaan pembersih dibuat dari bahan aktif detergen sintetik dengan atau tanpa penambahan zat lain yang tidak menimbulkan iritasi pada kulit (SNI, 1992). Di negara berkembang, detergen sintetik telah menggantikan sabun sebagai bahan kebersihan. Di Indonesia, syarat mutu detergen sintetik cair pembersih tangan diatur berdasarkan SNI 06-2588-1992 yang dapat dilihat dalam tabel :

**Tabel 1. Standar Mutu Detergen Sintetik Pembersih Tangan**

No.	Jenis Uji	Persyaratan
1.	Kadar zat aktif	Minimal 5,0%
2.	pH	4,5 – 8,0
3.	Emulsi cairan	Stabil
4.	Zat Tambahan	Sesuai peraturan yang berlaku

Sumber : Standar Nasional Indonesia : 1992

Menurut Marriot (1999), *hand sanitizer* yang ideal harus memiliki beberapa hal seperti dibawah ini :

1. Memiliki sifat menghancurkan mikroba, aktivitas spektrum melawan fase vegetatif bakteri, kapang, dan khamir.
2. Tahan terhadap lingkungan (efektif pada lingkungan yang mengandung bahan organik, deterjen, sisa sabun, kesadahan air, dan perbedaan pH).
3. Mampu membersihkan dengan baik.
4. Tidak beracun dan tidak menimbulkan iritasi.
5. Larut dalam air dalam berbagai konsentrasi.
6. Bau dapat diterima.
7. Konsentrasi stabil.
8. Mudah digunakan.
9. Tidak mahal.
10. Mudah pengukurannya jika digunakan dalam larutan.

*Hand sanitizer* adalah gel dengan berbagai kandungan yang cepat membunuh mikroorganisme yang ada di kulit tangan. *Hand sanitizer* banyak digunakan karena alasan kepraktisan pada saat darurat tidak ada air. *Hand sanitizer* mudah dibawa dan bisa cepat digunakan tanpa perlu menggunakan air. Kelebihan *hand sanitizer* diutarakan menurut US FDA (Food and Drug Administration) dapat membunuh kuman dalam waktu relatif cepat (Verica, 2014).

### **2.3.3 Mikroemulsi**

Mikroemulsi merupakan sistem yang stabil secara termodinamika dan transparan, merupakan dispersi dari minyak dan air yang distabilkan oleh lapis tipis (film) molekul ampifilik (surfaktan dan ko-surfaktan) (Talegaonkar *et al.*,

2008). Mikroemulsi yang baik memiliki ukuran droplet yang kecil yaitu kurang dari 150 nm, stabil secara termodinamik dan transparan (Santos *et al.*, 2008).

Mikroemulsi menyebabkan penghantaran obat lebih baik dibandingkan emulsi konvensional karena dapat meningkatkan kelarutan dari obat-obat yang sukar larut dalam air sebab ukuran partikelnya yang lebih kecil (Shalvitri *et al.*, 2011). Secara umum, mikroemulsi tersusun dari fase minyak, fase air, surfaktan dan kosurfaktan (Dizaj, 2013).

#### **2.3.4 Keuntungan Mikroemulsi**

Mikroemulsi menunjukkan beberapa keuntungan dibanding dengan bentuk sediaan konvensional (Pathan *et al.*, 2012)

- a. Mikroemulsi merupakan sistem yang stabil dibandingkan dengan emulsi, dan stabilitasnya memungkinkan *self-emulsification* dari sistem yang sifatnya tidak tergantung dari proses kelanjutannya
- b. Mikroemulsi merupakan obat '*supersolvents*'. Obat yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik dapat diberikan dengan sistem mikroemulsi
- c. Dibandingkan emulsi dan suspensi, rata-rata diameter droplet mikroemulsi di bawah 0,22  $\mu\text{m}$  sehingga sistem ini dapat disterilkan menggunakan metode filtrasi
- d. Karena stabil secara termodinamika, maka mikroemulsi mudah dibuat dan tidak memerlukan energi yang besar dalam pembuatannya. Mikroemulsi mempunyai viskositas yang rendah jika dibandingkan dengan emulsi
- e. Penggunaan mikroemulsi dalam penghantaran obat dapat meningkatkan khasiat obat yaitu dalam hal dosis total. Pembentukan mikroemulsi bersifat *reversible*. Mikroemulsi mungkin tidak stabil pada rendah dan saat



mikroemulsi berada pada suhu stabilitasnya maka sistem mikroemulsi akan terbentuk kembali

### **2.3.5 Komposisi Mikroemulsi**

Menurut Maulik *et al.* (2010), komposisi dari mikroemulsi adalah: fasa minyak, fasa air, surfaktan dan kosurfaktan. Sistem isotropik ini lebih mudah merumuskannya daripada makroemulsi. Jenis struktur yang terbentuk pada komponen-komponen pada suhu tertentu tidak hanya tergantung kepada sifat kimia dari masing-masing komponen tapi juga pada konsentrasi relatif.

#### **1. Fasa Minyak**

Dalam rangka membuat sistem mikroemulsi agar diterima di industri farmasi, perlu mempersiapkan sistem tersebut dengan menggunakan komponen minyak yang tidak beracun aman dan berasal dari alam dan turunannya, misalnya trigliserida yang mudah terdegradasi oleh mikroorganisme dan dianggap tidak berbahaya terhadap lingkungan. Pembentukan mikroemulsi dengan minyak mineral telah diteliti secara intensif dalam model percobaan untuk industri farmasi. Fase lipofilik dari minyak nabati dapat diterima dalam penggunaan. Pembuatan mikroemulsi tergantung pada minyak alamnya, hal ini disebabkan oleh perbedaan dalam penetrasi minyak ke dalam lapisan surfaktan. Contoh: minyak jarak, minyak bunga matahari, minyak zaitun, minyak sesami.

#### **2. Surfaktan**

Sebuah molekul surfaktan dibentuk oleh dua bagian yang berbeda sifatnya dengan pelarut. Salah satu bersifat polar yaitu air dan minyak yang bersifat nonpolar. Surfaktan bertindak sebagai pensolubilisasi yang

bertanggung jawab dalam pembentukan misel sekaligus menurunkan tegangan antarmuka minyak dan air. Surfaktan yang digunakan untuk menstabilkan sistem mikroemulsi nonionik, pertukaran ion, kationik atau anionik. Kombinasi ini khususnya ionik dan nonionik, sangat efektif untuk meningkatkan luasnya wilayah mikroemulsi.

### 3. Ko-surfaktan

Sebagian besar surfaktan rantai tunggal tidak menurunkan tegangan antarmuka minyak-air yang diperlukan untuk membentuk mikroemulsi. Kosurfaktan ditambahkan untuk lebih menurunkan tegangan antarmuka antara fasa minyak dan air, memasuki daerah hidrokarbon pada lapisan antarmuka dan mempengaruhi lekukan lapisan, sehingga tegangan permukaan menjadi kecil, kosurfaktan pada umumnya merupakan golongan alkohol dan turunan dari alkohol seperti etanol, propilenglikol, gliserin, sorbitol.

#### **2.3.6 Metode Pembuatan Mikroemulsi (Flanagan *et al.*, 2006)**

Berdasarkan teori, penyusunan molekul pengemulsi (kemungkinan ditambah kosurfaktan) dapat terjadi secara spontan. Akan tetapi pada beberapa kasus penyusunan kembali molekul surfaktan dapat dipercepat atau dihambat akibat keberadaan energi kinetik. Ada tiga metode dasar dalam pembentukan mikroemulsi yaitu metode emulsifikasi, metode PIT (*phase inversion temperature*) dan metode homogenisasi tekanan tinggi.

##### a. Metode Emulsifikasi

Pembuatan mikroemulsi dapat dilakukan melalui tiga metode emulsifikasi energi rendah yang berbeda yaitu pengenceran campuran

minyak-surfaktan dengan air, pengenceran campuran air-surfaktan dengan minyak dan mencampurkan seluruh komponen (air, minyak, surfaktan) bersamaan pada satu komposisi. Setiap metode yang digunakan melibatkan pembentukan mikroemulsi secara langsung, jenis bahan yang ditambahkan menentukan pembentukan mikroemulsi.

b. Metode PIT (*Phase Inversion Temperature*)

Metode PIT pada mikroemulsi biasanya digunakan jika memakai surfaktan nonionik. Ketika emulsi minyak dalam air (M/A) yang mengandung surfaktan nonionik dipanaskan, emulsi akan berubah menjadi emulsi air dalam minyak (A/M) hingga suhu kritis, yaitu merupakan PIT. Pada PIT tersebut, ukuran droplet dan tegangan antarmuka mencapai minimum dan ketika didinginkan selama pengadukan, mikroemulsi minyak dalam air (M/A) akan terbentuk.

c. Metode Homogenisasi Tekanan Tinggi

Homogenisasi dapat juga digunakan untuk membuat mikroemulsi, meskipun proses emulsifikasinya secara umum kurang efisien karena melepaskan panas. Sebagai tambahan, proses homogenisasi kemungkinan sangat terbatas karena kemungkinan campuran air/minyak/surfaktan menjadi sangat kental sebelum mikroemulsi terbentuk.

## **2.4. Tinjauan Umum**

### **2.4.1. Bakteri pada Kulit**

Pada dasarnya, kulit dan mukosa manusia selalu dihuni oleh berbagai macam mikroba yang dapat dibagi menjadi dua klasifikasi, yaitu flora tetap dan flora sementara. Flora tetap adalah mikroorganisme tertentu yang hidup di tempat

tertentu di tubuh manusia yang mengikuti perubahan pada manusia dan beradaptasi dengan lingkungan yang ada di tubuh manusia yang biasanya terdapat hubungan umpan balik antara mikroba dan manusia sedangkan flora sementara yang juga disebut flora transient adalah mikroorganisme patogen ataupun tidak yang berasal dari lingkungan dan hanya hidup beberapa saat di tubuh manusia. Jumlah flora sementara ini sangat tergantung dengan flora tetap yang ada di tubuh manusia sebagai inhibitor kompetitifnya (Ahvaz, 2009).

Flora normal kulit adalah mikroorganisme yang hidup di kulit manusia, namun karena kulit adalah lapisan terluar dari tubuh manusia memungkinkan kulit cenderung berisikan banyak flora sementara. Mikroorganisme yang sering ditemukan pada kulit manusia diantaranya tercantum dalam tabel berikut :

**Tabel 2. Flora Normal Kulit**

Tempat Predileksi	Mikroorganisme
Kulit	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (dalam jumlah kecil) <i>Spesies mirococcus</i> <i>Spesies neissera non pathogen</i> <i>Streptococcus Alpha-hemolytic, non hemolytic</i> <i>Spesies Propionbacterium</i> <i>Spesies Peptostreptococcus</i> Dan yang lainnya ( <i>candida, acinobacter</i> dll)

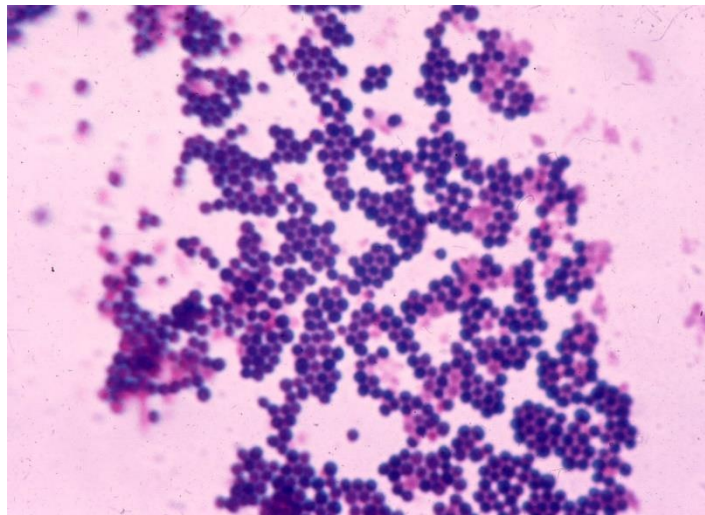
Sumber : Jawetz, Melnick, & Adelberg's. Medical Microbiology ; 2007

#### **2.4.1.1. Staphylococcus aureus**

Menurut Brooks GF *et al.*, 2013 klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Monera  
 Divisi : Protophyta  
 Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales  
Family : Micrococcaceae  
Genus : Staphylococcus  
Spesies : *Staphylococcus aureus*



**Gambar 2. *Staphylococcus aureus* (Brooks GF *et al.*, 2013)**

*Staphylococcus* (dalam bahasa Yunani *staphyle* berarti sekelompok anggur dan *coccus* yang berarti granula) adalah genus dari bakteri gram positif. Di mikroskop mereka tampak berbentuk bulat serta bergerombol seperti sekelompok anggur.

Genus staphylococcus mencakup 31 spesies berdasarkan komposisi DNA, namun hanya 14 spesies yang hidup pada tubuh manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan satu-satunya spesies yang menghasilkan enzim koagulase dan membedakannya dengan 14 spesies lainnya (Brooks GF *et al.*, 2013).

#### **2.4.1.2. Morfologi *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif anggota famili Micrococcaceae berbentuk bulat, bergerombol seperti susunan buah anggur koloni

berwarna abu-abu hingga kuning tua, koagulase positif dan sifatnya sebagai bakteri komensal dalam tubuh manusia yang jumlahnya berimbang dengan flora normal lain. *S.aureus* pada manusia diantaranya ditemukan pada hidung, kulit, tenggorok dan lain-lain (Jawetz *et al.*, 1996) . Dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam nanah dapat tetap hidup selama 6-14 minggu (Syahrurahman *et al.*, 2010).

#### **2.4.1.3. Patogenitas *Staphylococcus aureus***

*S.aureus* merupakan bakteri patogen penyebab infeksi. *S.aureus* dapat menyebabkan penyakit mulai dari yang ringan sampai yang berat bahkan sampai sepsis. *S.aureus* sering menyebabkan akne dan frunkulosis pada kulit, infeksi *S.aureus* pada tulang juga sering menyebabkan osteomielitis, infeksi *S.aureus* pada organ dalam dapat menyebabkan endokarditis, pneumonia dan infeksi berat lainnya. Pada luka terbuka *S.aureus* juga sering menyebabkan infeksi. (Jawetz *et al.*, 2008).

Toksin yang dihasilkan dari *Staphylococcus aureus* (*Staphilotoxin*, *Staphylococcal enterotoxin*, dan *Exfoliatin*) memungkinkan organism ini untuk menyelinap pada jaringan dan dapat tinggal dalam waktu yang lama pada daerah infeksi, menimbulkan infeksi kulit minor (Bowersox, 2007). Koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Selanjutnya disusul dengan sebaran sel radang, di pusat lesi akan terjadi pencairan jaringan nekrotik, cairan abses ini akan mencari jalan keluar di tempat yang resistensinya paling rendah. Keluarnya cairan abses diikuti dengan pembentukan jaringan granulasi dan akhirnya sembuh (Syahrurahman *et al.*, 2010).

*Staphylococcus aureus* menyebabkan sindrom infeksi yang luas. Infeksi kulit dapat terjadi pada kondisi hangat yang lembab atau saat kulit terbuka akibat penyakit seperti eksim, luka pembedahan, atau akibat alat intravena (Gillespie *et al.*, 2008).

#### **2.4.2. Isolasi Minyak Atsiri**

Ekstraksi merupakan kegiatan menarik kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan suatu pelarut. Isolasi minyak atsiri dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

##### **1. Metode penyulingan**

###### **a. Penyulingan dengan air**

Pada metode ini, bahan tanaman yang akan disuling mengalami kontak langsung dengan air mendidih. Bahan dapat mengapung di atas air atau terendam secara sempurna, tergantung pada berat jenis dan jumlah bahan yang disuling. Ciri khas model ini yaitu adanya kontak langsung antara bahan dan air mendidih. Oleh karena itu, sering disebut penyulingan langsung. Penyulingan dengan cara langsung ini dapat menyebabkan banyaknya rendemen minyak yang hilang (tidak tersuling) dan terjadi pula penurunan mutu minyak yang diperoleh.

###### **b. Penyulingan dengan uap**

Model ini disebut juga penyulingan uap atau penyulingan tak langsung. Pada prinsipnya, model ini sama dengan penyulingan langsung. Hanya saja, air penghasil uap tidak diisikan bersama-sama dalam ketel penyulingan. Uap yang digunakan berupa uap jenuh atau uap kelewat panas dengan tekanan lebih dari 1 atmosfer.

c. Penyulingan dengan air dan uap

Pada model penyulingan ini, bahan tanaman yang akan disuling diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Kemudian ketel penyulingan diisi dengan air sampai permukaannya tidak jauh dari bagian bawah saringan. Ciri khas model ini yaitu uap selalu dalam keadaan basah, jenuh, dan tidak terlalu panas. Bahan tanaman yang akan disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas (Lutony & Rahmayati, 1994).

2. Metode pengepresan

Ekstraksi minyak atsiri dengan cara pengepresan umumnya dilakukan terhadap bahan berupa biji, buah, atau kulit buah yang memiliki kandungan minyak atsiri yang cukup tinggi. Akibat tekanan pengepresan, maka sel-sel yang mengandung minyak atsiri akan pecah dan minyak atsiri akan mengalir ke permukaan bahan. Contohnya minyak atsiri dari kulit jeruk dapat diperoleh dengan cara ini (Ketaren, 1985).

3. Ekstraksi dengan pelarut menguap

Prinsipnya adalah melarutkan minyak atsiri dalam pelarut organik yang mudah menguap. Ekstraksi dengan pelarut organik pada umumnya digunakan mengekstraksi minyak atsiri yang mudah rusak oleh pemanasan uap dan air, terutama untuk mengekstraksi minyak atsiri yang berasal dari bunga misalnya bunga cempaka, melati, mawar, dan kenanga. Pelarut yang umum digunakan adalah petroleum eter, karbon tetra klorida dan sebagainya (Ketaren, 1985).



#### 4. Ekstraksi dengan lemak padat

Proses ini umumnya digunakan untuk mengekstraksi bunga-bunga, untuk mendapatkan mutu dan rendemen minyak atsiri yang tinggi. Metode ekstraksi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu enflourasi dan maserasi.

### 2.4.3. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri melalui mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan aktivitasnya, zat antibakteri dibedakan atas dua yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan bakterisid (membunuh bakteri) (Pelczar *et al*, 1988). Bakteriostatik merupakan efek yang menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi tidak menyebabkan kematian seluruh bakteri. Mekanisme bakteriostatik biasanya terjadi pada ribosom yang menyebabkan penghambatan sintesis protein. Sedangkan bakterisid yaitu efek yang bersifat membunuh bakteri dengan menimbulkan lisis atau pecahnya sel bakteri (Madigan *et al*, 2003).

#### 2.4.3.1. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

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

##### 1. Metode Difusi

Metode difusi ini dibagi atas :

###### a. *Disc diffusion method* (Metode Kirby Bauer)

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen anti mikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area

jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan microorganism oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.

b. *E-test/Epsilometer method*

Metode ini digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah dan tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar. Ada 3 jenis metode *E-test* yaitu *Ditch plate technique*, *Cup-plate technique* dan *Gradient-plate technique*.

Pada metode *Ditch plate technique*, sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan pada parit yang berisi agen antimikroba. Pada metode *Cup-plate technique*, serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang diuji.

Pada metode *Gradient-plate technique*, konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 10 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi dua selanjutnya dituang di atasnya dan diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba

berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan. Bila X : panjang total pertumbuhan mikroorganisme yang mungkin, Y : panjang pertumbuhan aktual, C : konsentrasi final agen antimikroba pada total volume media mg/mL atau  $\mu\text{g/mL}$  maka konsentrasi hambat adalah :  $\frac{X.Y}{C}$  (mg/mL atau  $\mu\text{g/mL}$ ).

## 2. Metode Dilusi

### a. Metode dilusi cair/*broth dilution test*

Metode ini mengukur MIC atau KHM, dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration* atau Kadar Bunuh Minimum/BM). Cara yang dilakukan adalah membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM.

### b. Metode dilusi padat/*solid dilution test*

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

**Tabel 3. Klasifikasi Kekuatan Daya Hambat (Davis and Stout, 1971)**

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

#### **2.4.4 Monografi Bahan *Spray Hand sanitizer***

##### **a. Asam Sitrat**

Asam sitrat (baik sebagai bahan monohidrat atau anhidrat) banyak digunakan dalam formulasi farmasi dan produk makanan, terutama untuk menyesuaikan pH larutan. Juga telah digunakan secara eksperimental untuk menyesuaikan pH matriks tablet dalam formulasi salut enterik untuk pemberian obat khusus usus besar. Penggunaan asam sitrat sebagai larutan buffer antara 0,1 - 2 % (Rowe *dkk*, 2009). Asam sitrat berbentuk hablur bening tidak berwarna atau serbuk hablur granul sampai halus, putih tidak berbau. Rasa sangat asam. Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam etanol dan agak sukar larut dalam eter (Departemen Kesehatan RI, 1995).

##### **b. Polisorbat 20**

Polisorbat 20 adalah cairan kental berwarna kuning seperti warna minyak, memiliki bau khas dan rasa yang hangat agak pahit. Polisorbat 20 memiliki nilai HLB 15,0 dengan viskositas 425 mPas. Polisorbat 20 larut dalam air dan etanol. Polisorbat 20 memiliki pH 6,0-8,0 dalam larutan air. Kegunaan *tween* dalam formulasi atau teknologi farmasi digunakan untuk agen pelarut, *emulsifying*

*agent*, non ionik surfaktan, *suspending agent* dan sebagai pembasah (Rowe *et al.*, 2009).

Polysorbat mengandung 20 unit oksietilen yang merupakan surfaktan non ionik hidrofil yang digunakan secara luas sebagai pengemulsi atau digunakan dalam formulasi minyak dalam air yang stabil. Polisorbat 80 juga dapat digunakan sebagai pelarut berbagai zat termasuk minyak esensial dan vitamin yang larut minyak, dan sebagai *wetting agent* dalam formulasi suspensi oral dan parenteral. *Tween* juga banyak digunakan dalam kosmetik dan produk makanan. *Tween* sebagai *emulsifying agent* (1-15%), sebagai *solubilizing agent* (1-15%), dan sebagai *wetting agent* (0,1-3%) (Rowe *et al.*, 2009)

c. BHT

Butil hidroksitoluen (BHT) memiliki pemerian yaitu hablur padat, berwarna putih, bau khas lemah. Kelarutannya yaitu larut dalam air dan dalam propilenglikol, mudah larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam eter. Titik leleh 70°C. Biasanya digunakan sebagai antioksidan sintetik untuk mencegah oksidasi lemak dan minyak menjadi tengik (Depkes, RI 2014).

Konsentrasi BHT yang digunakan untuk formulasi sediaan topikal adalah 0,0075-0,1% (Rowe, 2009).

d. Aqua dest

Aqua dest adalah cairan yang jernih, tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak berasa. Istilah air digunakan untuk menggambarkan air minum yang baru diambil langsung dari suplai publik dan cocok untuk diminum. Air yang digunakan dalam industri farmasi dan disiplin terkait diklasifikasikan sebagai air minum, air murni, steril air murni, air untuk injeksi, air steril untuk injeksi, air

bakteriostatik untuk injeksi, air steril untuk irigasi, atau air steril untuk inhalasi (Rowe *et al.*, 2009)

Air dapat bercampur dengan sebagian besar pelarut polar. Air digunakan secara luas sebagai bahan pelarut dalam pengolahan, formulasi dan pembuatan produk farmasi, bahan farmasi aktif dan zat antara, dan reagen analitis. Air murni digunakan sebagai bahan pelarut untuk pembuatan produk obat dan sediaan farmasi namun tidak cocok digunakan dalam pembuatan produk parenteral. Sediaan parenteral menggunakan air untuk injeksi atau air yang sudah disterilkan untuk injeksi (Rowe *et al.*, 2009).

e. *DMDM hydantoin*

*DMDM hydantoin* merupakan salah satu jenis pengawet yang banyak digunakan dalam produk kosmetik dengan konsentrasi penggunaan hingga 1%. Digunakan sebagai bahan antimikroba dengan spectrum luas, efektif untuk kapang serta bakteri gram positif dan bakteri gram negative. *DMDM hydantoin* atau 1,3-dimethylol-5,5-dimethyl hydantoin, 1,3-Bis(Hydroxymethyl)-5,5-Dimethyl-2,4-Imidazolidinedione. Dengan berat molekul 188,19 dengan penampakan berbentuk cair warna bening dengan sedikit berbau (Ann Liebert, 1988).

## **BAB III. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan dari bulan Januari sampai Juli 2020 di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia Padang.

### **3.2 Metode penelitian**

#### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kaca arloji, cawan penguap, botol semprot, beaker glass, gelas ukur, erlemeyer, kertas perkamen, timbangan digital, kertas saring, piknometer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, alat destilasi, *magnetic heater stirrer*, *Particle Size Analyzer* (PSA), sonikator, batang pengaduk, oven, pinset, spatel, pH meter, , cawan petri, penjepit, inkubator, autoklaf, lampu spiritus, jarum ose, kapas steril, koran bekas, kain kasa steril.

#### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah minyak atsiri kulit jeruk kalamansi, tween 20, DMDM *hyndation*, Asam sitrat, Aqua dest, biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, media nutrien agar, larutan NaCl fisiologis, *Mc Farland* dan *spray hand sanitizer* pembanding.

### **3.3 Pengambilan Bakteri**

Bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia Padang.

### **3.4. Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.4.1 Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) yang diambil di Kecamatan Kampung Melayu, Kelurahan Padang Serai, Kota Bengkulu.

#### **3.4.2 Identifikasi Sampel**

Identifikasi sampel dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Andalas (ANDA) Padang.

#### **3.4.3 Penyiapan Simplisia Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge)**

Sampel yang digunakan berupa kulit buah jeruk kalamansi sebanyak 6 kg kulit jeruk. Sampel disiapkan terlebih dahulu, kemudian buah jeruk yang telah dikumpulkan dibersihkan dari kotoran dengan cara dibersihkan dengan kain, selanjutnya dipisahkan bagian kulit dan buah jeruk tersebut dan sampel kulit jeruk dipotong.

#### **3.4.4 Destilasi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge)**

Kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) yang telah dipotong-potong dimasukkan kedalam labu destilasi dan ditambahkan dengan air suling sehingga kulit buah jeruk kalamansi terendam. Pasang alat destilasi dan hidupkan pemanas. Destilasi selama 8 jam, destilat ditampung dalam erlemeyer. Destilat yang diperoleh dipindahkan dalam corong pisah, diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Pisahkan lapisan minyak kedalam vial dan tambahkan serbuk natrium sulfat anhidrat untuk menyerap sesepora air yang terdapat dalam minyak. Masukkan minyak ke dalam wadah (Tyler, *et al* 1976).



### 3.4.5 Pemeriksaan Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge)

#### a. Pemeriksaan Organoleptis

Dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, warna, dan bau.

#### b. Penentuan Rendemen Minyak Atsiri

Rendemen minyak atsiri dihitung dengan cara membandingkan berat minyak atsiri yang didapat dengan berat sampel awal.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat minyak atsiri}}{\text{Berat sampel awal}} \times 100\%$$

#### c. Bobot jenis

Timbang piknometer kosong, lalu isi dengan air suling, bagian luar piknometer dilap sampai kering dan ditimbang. Buang air suling tersebut, keringkan piknometer lalu isi dengan minyak atsiri yang akan diukur bobot jenisnya pada suhu yang sama pada saat pengukuran air suling, dan timbang. Dan hitung dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Bobot jenis} = \frac{W3 \text{ (g)} - W1 \text{ (g)}}{W2 \text{ (g)} - W1 \text{ (g)}} \times \rho \text{ air}$$

**Keterangan =**

W1 = piknometer kosong

W2 = piknometer kosong + air suling

W3 = piknometer kosong + minyak atsiri kulit jeruk kalamansi

$\rho$  = masa jenis air (1,0 g/cm<sup>3</sup>)

### 3.4.6 Formulasi Mikroemulsi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer*

**Tabel 4. Formulasi Mikroemulsi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer* (Wahyu Eliza, 2015)**

Bahan	Kegunaan	Konsentrasi			
		F0	F1	F2	F3
Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi	Zat Aktif	0	20 mL	40 mL	60 mL
Tween 20	Surfaktan	10 g	10 g	10 g	10 g
Asam Sitrat	Pengatur pH	0,25 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g
BHT	Antioksidan	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
DMDM Hydantoin	Pengawet	0,6 g	0,6 g	0,6 g	0,6 g
Aquadest	Pelarut	ad. 50 mL	ad. 50 mL	ad.50 mL	ad. 50 mL

### 3.4.7 Pembuatan Mikroemulsi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa Bunge.*) sebagai *Spray Hand sanitizer*

Larutkan Tween 20, DMDM hyndatoin dan Asam Sitrat ke dalam Aquades, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 500 rpm selama 15 menit (fase air). Larutkan BHT ke dalam Minyak Atsiri dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 500 rpm selama 15 menit (fase minyak). Fase minyak didispersikan ke dalam fase air, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 500 rpm selama 30 menit hingga terbentuk sediaan mikroemulsi yang jernih. Selanjutnya pengecilan ukuran mikroemulsi dilakukan dengan carasonikasi selama 24 menit (3 siklus) menggunakan sonikator jenis bath (Wahyu Eliza, 2015).

### **3.4.8 Evaluasi *Spray Hand sanitizer* Mikroemulsi**

#### **a. Evaluasi Organoleptis**

Evaluasi sediaan *spray hand sanitizer* mikroemulsi dilakukan dengan mengamati dari segi bentuk, warna, aroma dan kejernihan dilakukan secara visual dengan menggunakan panca indera selama 6 minggu (Depkes, 1995).

#### **b. Uji Kecepatan Meringing**

Pengujian dilakukan dengan cara menyemprotkan sekali semprot sediaan *spray* antiseptik pada telapak dan punggung tangan lalu dioleskan merata, kemudian dihitung waktu yang dibutuhkan oleh cairan antiseptik untuk mengering dan dibandingkan dengan sediaan pembanding.

#### **c. Pemeriksaan pH**

Pemeriksaan pH dilakukan dengan pH meter. Alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan dapar pH 4 dan pH 7 sehingga posisi alat menunjukkan harga pH tersebut. Elektroda dibilas dengan air suling dan dikeringkan. Pengukuran pH sediaan *spray* mikroemulsi *hand sanitizer* dilakukan dengan cara: ambil 1 mL sediaan, elektroda dicelupkan dalam wadah tersebut, biarkan angka bergerak sampai posisi konstan. Angka yang ditunjukkan oleh pH meter merupakan nilai pH sediaan tersebut. (Febriyenti *dkk*, 2014)

#### **d. Uji Stabilitas**

Uji stabilitas menggunakan metode *Freeze and Thaw* dilakukan untuk melihat kestabilan suatu sediaan dengan pengaruh variasi suhu selama waktu penyimpanan tertentu. Sediaan disimpan pada suhu dingin ( $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu  $40\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.

Perlakuan ini disebut 1 siklus. Pengujian dilakukan sebanyak 6 siklus dan diamati terjadinya perubahan fisik (Djajadisastra, dkk, 2009).

#### **e. Uji Homogenitas**

Pengujian dilakukan dengan cara sampel spray antiseptik diteteskan pada objek glass, sediaan tersebut harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar.

#### **f. Penentuan Ukuran Partikel Mikroemulsi**

Ukuran globul mikroemulsi dan distribusi ukuran ditentukan dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) SZ-100. Pengukuran distribusi ukuran globul dengan memilih *alignment* (untuk menyiapkan dan mengatur detektor), *measuring background* (untuk pengukuran sampel). Setelah alat siap digunakan, sampel sediaan mikroemulsi sejumlah tertentu dimasukkan ke dalam kuvet dan dimasukkan hingga layar monitor menunjukkan keterangan OK ataupun *high* yang menunjukkan bahwa sampel siap untuk diukur. Memilih menu *particle size*. Pengukuran berlangsung hingga pada layar monitor memperlihatkan adanya grafik hubungan antara diameter globul (nm) dengan volume (%).

### **3.4.9 Uji Daya Hambat Antibakteri Mikroemulsi Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer***

#### **1. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan terlebih dahulu telah dicuci bersih dan dikeringkan sebelum disterilkan. Cawan petri dibungkus dengan koran, tabung reaksi dan pipet tetes ditutup mulutnya dengan kapas lalu dibungkus satu persatu dengan kertas koran. Semua alat disterilkan dalam oven pada suhu 160°C selama 1 jam. Mulut erlenmeyer dan gelas ukur ditutup dengan kapas dan dibungkus satu persatu dengan kertas koran lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15

menit tekanan 15 lbs. Pinset, jarum ose dan kaca objek disterilkan dengan cara dibakar menggunakan lampu spritus.

## 2. Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)

Sebanyak 2 g serbuk nutrien agar dilarutkan dalam 100 mL air suling dan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit setelah steril ditunggu hingga suhu 45°C kemudian dituangkan ke dalam cawan petri (Andriani, 2010).

## 3. Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Koloni bakteri disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan dengan menggunakan alat *vortex mixer* kemudian di ukur kekeruhannya dengan membandingkan dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland* 0,5%.

## 4. Uji Daya Hambat *Spray Hand sanitizer* Mikroemulsi

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metoda difusi agar melalui pengamatan besarnya diameter daerah hambat. Celupkan kapas lidi steril kedalam suspensi bakteri, kemudian diusapkan merata di atas media, selanjutnya kertas cakram steril ditetesi dengan 10 µL sediaan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C, selama ± 24 jam. Diamati diameter daya hambat ditandai dengan adanya daerah bening pertanda tidak ditumbuhi oleh bakteri. Pengujian dilakukan terhadap sediaan F0, F1, F2, F3 dan pembanding.

### 3.4.10 Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk kalamansi dalam sediaan *spray hand sanitizer* Mikroemulsi diolah secara statistik dengan analisis variasi (ANOVA) satu arah. Hasil akan berarti bila perbandingan daya

hambat pada setiap formula memberikan perbedaan yang nyata dan bermakna secara statistik.

## **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **4.1. Hasil**

#### **4.1.1. Hasil Pemeriksaan Identifikasi Jeruk Kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge.)**

Hasil pemeriksaan identifikasi dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) UNAND tanaman daun piladang yaitu *Citrus x microcarpa* Bunge dengan nomor identifikasi 500/K-ID/ANDA/XII/2019 (Lampiran 2, Gambar 9).

#### **4.1.2 Hasil Pemeriksaan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi**

1. Pemeriksaan organoleptis minyak atsiri kulit jeruk kalamansi didapat hasil minyak berbentuk cairan berwarna kuning muda, memiliki bau khas jeruk kalamansi (Lampiran 6, Tabel 7)
2. Hasil penentuan rendemen terhadap minyak atsiri yaitu 0,535 % (Lampiran 6, Tabel 8)
3. Hasil penentuan bobot jenis terhadap minyak atsiri yaitu 0,8533 (Lampiran 6, Tabel 9)

#### **4.1.3 Hasil Pemeriksaan Bahan Tambahan**

Pemeriksaan bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan *spray hand sanitizer mikroemulsi* telah dilakukan, hasil yang diperoleh dari pemeriksaan terhadap Tween 20, DMDM *hyndation*, Asam sitrat, Aqua dest telah memenuhi persyaratan menurut Farmakope Edisi III, Farmakope Edisi IV dan *Handbook of Pharmaceutical Exipient* Edisi II. (Lampiran 7, Tabel 10-13)

#### **4.1.4 Hasil Evaluasi *Spray Hand sanitizer* Mikroemulsi**

1. Hasil pemeriksaan organoleptis *spray hand sanitizer* mikroemulsi dilakukan selama 6 minggu, didapatkan bentuk cairan, warna putih susu,

bau khas aromatis, dan stabil dalam penyimpanan 6 minggu (Lampiran 8, Tabel 14)

2. Pemeriksaan uji waktu mengering diperoleh F0 (48,46), F1 (55,14 detik), F2 (56,05 detik), F3 (60,95 detik), P (24,09 detik) (Lampiran 8, Tabel 15)
3. Hasil pemeriksaan pH yang dilakukan selama 6 minggu menunjukkan hasil yang berubah setiap minggunya dimana pH rata-rata pada F0 (5.65), F1 (4.75), F2 (4.6), F3 (4.81), P (6,00) (Lampiran 8, Tabel 16)
4. Hasil pemeriksaan stabilitas dengan metode *freeze and thaw* dilakukan selama 6 siklus didapatkan bahwa sediaan tidak memisah (Lampiran 8, Tabel 17)
5. Hasil pemeriksaan homogenitas *spray hand sanitizer* mikroemulsi dilakukan selama 6 minggu, didapatkan sediaan homogen yang dilakukan selama 6 minggu (Lampiran 8, Tabel 19)
6. Pemeriksaan ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) *Beckman Coulter* diperoleh hasil yaitu pembeding (1495,6 nm), F0 (4112,5), F1 (495,8 nm), F2 (1141,3 nm), F3 (1217,6 nm), nilai Indeks Polidispersitas (IP) diperoleh hasil yaitu untuk F1 (0,414), F2 (0,327), an F3 (0,353) (Lampiran 8, Gambar 13-15)

#### **4.1.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri**

Pemeriksaan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi, dimana hasil pemeriksaan spray mikroemulsi *hand sanitizer* berikut :

1. Untuk F0 rata-rata diameter hambat antibakteriya adalah 0 mm
2. Untuk F1 rata-rata diameter hambat antibakteriya adalah 12.16 mm



3. Untuk F2 rata-rata diameter hambat antibakteriya adalah 13.6 mm
4. Untuk F3 rata-rata diameter hambat antibakteriya adalah 15.6 mm
5. Untuk pembanding rata-rata diameter hambat antibakteriya adalah 5.18 mm

#### **4.2 Pembahasan**

Penelitian ini bertujuan memformulasi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi dalam bentuk sediaan *spray hand sanitizer* mikroemulsi dan menghitung daya hambatnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit jeruk kalamansi. Pengambilan sampel dilakukan di kelurahan Kampung Melayu, kecamatan Padang Serai, Kota Bengkulu. Sebelum dilakukan penelitian, sampel diidentifikasi di Herbarium Andalas (ANDA). Hal ini merupakan langkah awal agar diperoleh identitas sampel sehingga tidak terjadi kesalahan terhadap tanaman yang digunakan. Berdasarkan identifikasi diperoleh hasil bahwa sampel yang digunakan adalah jeruk kalamansi

Pada penelitian ini untuk mendapatkan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi digunakan metode destilasi. Ada berbagai macam cara metode penyulingan salah satunya yang peneliti gunakan yaitu destilasi air dan uap. Metode ini digunakan karena prosesnya sederhana dan lebih cepat menghasilkan minyak atsiri. Minyak atsiri yang diperoleh setelah destilasi air dan uap masih terdapat molekul-molekul air, sehingga perlu dipisahkan dengan penambahan natrium sulfat anhidrat yang bertujuan untuk memisahkan air dengan minyak.

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi yang meliputi pemeriksaan organoleptis, rendemen dan bobot jenis. Pemeriksaan

terhadap organoleptis minyak atsiri kulit jeruk kalamansi memberikan hasil berbentuk cairan berwarna kuning muda dan bau khas.

Rendemen minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) yang diperoleh sebesar 0,535 %. Tujuan dilakukan rendemen untuk mengetahui berapa berat sampel yang didapat dari berat sampel segar. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri kulit jeruk kalamansi diperoleh 0,8533 g/mL. (Lampiran 6, Tabel 9). Hasil ini masuk kedalam rentang persyaratan yang ditetapkan oleh Guenther (1987), dimana minyak atsiri kulit jeruk kalamansi mempunyai bobot jenis antara 0,800-1,180 g/mL.



**Gambar 3. Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge)**

Pemeriksaan bahan tambahan seperti Tween 20, DMDM hydantoin, Asam sitrat, Aqua dest yang digunakan dalam pembuatan spray mikroemulsi *hand sanitizer* dilakukan menurut Farmakope Indonesia Edisi III, IV dan Handbook of Pharmaceutical Exipient. Pemeriksaan tersebut meliputi pemeriksaan pemerian dan kelarutan. Dari hasil pemeriksaan bahan tambahan menunjukkan hasil bahwa semua bahan tambahan yang digunakan dalam penelitian kali ini sudah memenuhi persyaratan.

Sebelum diformulasikan terlebih dahulu dilakukan orientasi terhadap surfaktan mikroemulsi, untuk mengetahui apakah surfaktan yang digunakan memenuhi syarat sebagai spray mikroemulsi. Formulasi spray mikroemulsi *hand sanitizer* minyak atsiri kulit jeruk kalamansi ini dibuat dalam 4 formula dengan berbagai variasi konsentrasi yaitu F0 (0% minyak atsiri kulit jeruk kalamansi), F1 (20% minyak atsiri kulit jeruk kalamansi), F2 (40% minyak atsiri kulit jeruk kalamansi), F3 (60% minyak atsiri kulit jeruk kalamansi). Dalam formulasi menggunakan tween 20 sebagai surfaktan yang memiliki konsentrasi yang sama untuk setiap formula yaitu 10%. Asam sitrat 0,25% berfungsi sebagai pengatur pH. BHT 0,1% berfungsi sebagai antioksidan, DMDM Hydantoin 0,6% berfungsi sebagai pengawet. Aqua dest 50 mL berfungsi sebagai pelarut.

Pemeriksaan organoleptis terhadap spray mikroemulsi *hand sanitizer* kulit jeruk kalamansi untuk semua formula meliputi, bentuk, warna dan bau yg stabil selama penyimpanan 6 minggu dihasilkan sediaan cair, berwarna bening untuk F0 dan pembanding serta berwarna kekuningan untuk F1. Pada F2 dan F3 berwarna kekuningan dan terdapat pemisahan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kurangnya konsentrasi surfaktan sehingga tidak cukup kuat untuk menghalangi penggabungan tetesan - tetesan fase dalam (Maya, 2009). Pengamatan pemisahann fase mengalami ketidakstabilan mikroemulsi merupakan *creaming* yaitu terpisahnya mikroemulsi menjadi dua lapisan, dimana satu bagian mengandung fase disper lebih banyak daripada lapisan yang lain. *Creaming* bersifat reversible, artinya jika dikocok perlahan-lahan akan terdispersi kembali. (Eliza, 2015). Spray mikroemulsi *hand sanitizer* memiliki bau yang khas.

Hasil evaluasi uji waktu mengering sediaan *spray hand sanitizer* mikroemulsi dilakukan terhadap 5 orang panelis. Sediaan disemprot merata pada telapak tangan, kemudian diratakan mulai dari sela-sela jari sampai punggung tangan panelis. Definisi kering menurut panelis sediaan tersebut tidak basah, tidak ada airnya lagi. Setiap panelis berbeda waktu mengeringnya, dikarenakan setiap tangan mempunyai kelembaban yang berbeda ada yang lembab dan kering. Hasil dari masing-masing panelis diperoleh F0 (48,46), F1 (55,14 detik), F2 (56,05 detik), F3 (60,95 detik), P (24,09 detik) (Lampiran 8 Tabel 15). Konsentrasi minyak atsiri mempengaruhi waktu kecepatan mengering. Pada pembandingan lebih cepat mengering dikarenakan pembandingan mengandung alkohol yang mudah menguap.

Evaluasi homogenitas menunjukkan bahwa sediaan *spray hand sanitizer* mikroemulsi tidak memperlihatkan butir-butir kasar pada saat sediaan dioleskan pada kaca objek, hal ini menunjukkan bahwa sediaan antiseptik tangan mempunyai susunan yang homogen selama penyimpanannya (Lampiran 8. Tabel 19)

Hasil pemeriksaan stabilitas *freeze and thaw* selama 4 siklus suhu ekstrime, suhu tinggi ( $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu dingin ( $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) menunjukkan bahwa *spray* mikroemulsi *hand sanitizer* minyak atsiri kulit jeruk kalamansi tidak mengalami pemisahan dan perubahan fisik pada suhu kamar (Lampiran 8, Tabel 17). Tujuan uji stabilitas adalah untuk penentuan waktu kadaluarsa atau untuk melihat apakah terjadi pemisahan fase warna dalam sediaan selama proses penyimpanan (ICH, 2003)

Pemeriksaan pH bertujuan untuk memastikan bahwa sediaan *spray hand sanitizer* mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi sesuai dengan pH

normal kulit yang baik yaitu antara 4,5-6,5 (Tranggono dan Latifa, 2007). Pada penelitian ini, pH yang diamati selama 6 minggu menunjukkan hasil yang berubah-ubah setiap minggunya dimana pH rata-rata F0 (5.65), F1 (4.75), F2 (4.6), F3 (3.81), P (6,00). Pada F3 mengalami pH yang asam. Dikarenakan semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi maka semakin rendah yang berarti pH menjadi asam. Pada (Lampiran 8, Tabel 16) terlihat bahwa selama proses penyimpanan terjadi penurunan pH. Walaupun terjadi penurunan pH pada F0, F1 dan F2 tetap masih memenuhi persyaratan sediaan topical yaitu pH 4,5 – 6,5. Selain itu penurunan pH dapat juga disebabkan oleh faktor lingkungan seperti suhu dan penyimpanan yang kurang baik (Dwi Puji Astuti, 2017)

Pada pemeriksaan ukuran partikel menggunakan alat Particle Size Analyzer. Prinsip kerja alat ini adalah adanya daya hamburan cahaya yang terjadi akibat penembakan sinar laser mengenai partikel dalam sampel. Cahaya yang dihamburkan tersebut akan dibaca oleh detector foton pada sudut tertentu secara cept sehingga dapat menentukan ukuran partikel (Volker, 2009). Pada penelitian , hasil yang diharapkan mempunyai ukuran droplet yang kurang dari 100 nm. Namun, berdasarkan hasil pemeriksaan, ukuran droplet yang dihasilkan masih berada di atas 100 nm.

Indeks polidispersitas (IP) adalah ukuran dari distribusi massa molekul dalam sampel tertentu. Semakin kecil nilai IP, maka semakin tinggi keseragaman ukuran droplet pada sediaan (Chhabra, Chuttani, Mishra, and Pathak, 2011). Pada formula 1 memiliki indeks polidispersitas sebesar 0,414, pada formula 2 memiliki indeks polidispersitas sebesar 0,327. Hal ini menunjukkan bahwa formula 1 dan

formula 2 menghasilkan ukuran droplet yang lebih seragam. Sedangkan pada formula 3 memiliki indeks polidispersitas sebesar 0,353. Nilai indeks polidispersitas ketiga formula ini masuk kedalam rentang nilai tengah dari indeks polidispersitas yaitu 0,08 – 0,7, ini adalah kisaran atas yang mana algoritma distribusi beroperasi paling baik. Jika nilai IP >0,7 menunjukkan distribusi yang sangat luas dari ukuran partikel dan kemungkinan terjadi sedimentasi. (Cita, 2017) (Lampiran 8, Tabel 20)

**Tabel 5. Hasil Rekapitulasi Evaluasi *Spray Hand sanitizer* Mikroemulsi**

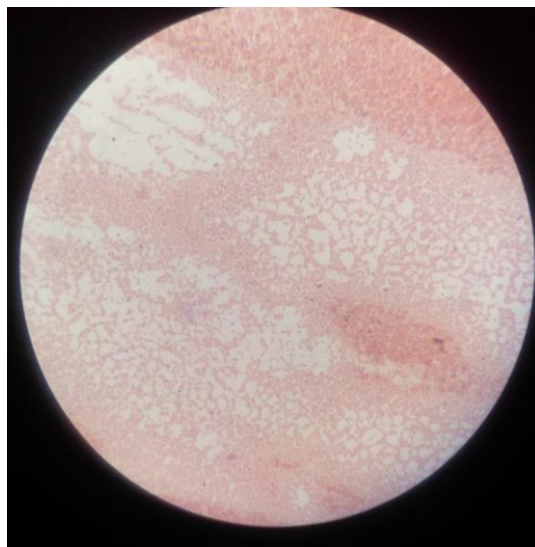
No	Evaluasi	Pengamatan				
		F0	F1	F2	F3	P
1.	Organoleptis					
	-Bentuk	CR	CR	CR	CR	CR
	-Warna	B	K	KS	KS	B
	-Bau	Tb	K	K	K	W
	-Kejernihan	J	TJ	TJ	TJ	J
2.	Homogenitas	H	H	H	H	H
3.	Ph	5.65 ± 0.0377	4.75 ± 0.0278	4.6 ± 0.0252	3.81 ± 0.1177	6.00 ± 0.1081
4.	Uji waktu mengering	48.464 detik ± 1.169	55,14 detik ± 1.2786	56,05 detik ± 4.3862	60.95 detik ± 5.0865	24,09 detik ± 0,8910
6.	Kestabilan Terhadap					
	- Suhu Kamar - <i>freeze and thaw</i>	TM TM	TM TM	TM TM	TM TM	TM TM
7.	Ukuran Partikel					
	- Droplet - IP	- -	495,8 nm 0,414	1141,3 nm 0,327	1271,6 nm 0,353	- -
7.	Uji Aktivitas Antibakteri	0	12.16 mm± 0,2886	13.6 mm ± 0,2357	15.6 mm± 0,2886	5.18 mm± 0,0577

**Keterangan:**

- CR : Cairan
- K : Kuning
- KS : Kuning Susu
- TB : Tidak Berbau
- K : Khas
- H : Homogen
- TM : Tidak Memisah
- J : Jernih
- TJ : Tidak Jernih
- W : Wangi
- IP : Indeks Polidispersitas

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan spray mikroemulsi *hand sanitizer* minyak atsiri kulit jeruk kalamansi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan menggunakan metode difusi agar menggunakan kertas cakram dengan

diameter 5 mm. Metode ini paling umum digunakan untuk menentukan aktivitas bahan uji terhadap bakteri. Bakteri uji diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Laboratorium Mikrobiologi STIFI Perintis Padang, dan diidentifikasi menggunakan pewarnaan gram. Hasil identifikasi memberikan warna ungu, yang menunjukkan bakteri gram positif. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan ini menggunakan larutan Kristal violet, bertujuan agar pewarna dapat melekat sempurna pada dinding sel bakteri, lugol digunakan dalam identifikasi ini dengan tujuan agar pengikatan warna oleh bakteri menjadi semakin kuat, etanol 96% digunakan dalam identifikasi ini bertujuan untuk mencuci/melunturkan zat warna pada sel bakteri dan safranin (pewarna sekunder) bertujuan untuk mewarnai kembali sel-sel yang telah kehilangan warna utama setelah perlakuan dengan alkohol atau memberikan warna pada mikroorganisme non-target serta menghabiskan sisa-sisa pewarnaan (Pelczar, M.J and Chan, 1988)



**Gambar 4. Pengujian Pewarnaan Gram Bakteri *Staphylococcus aureus***

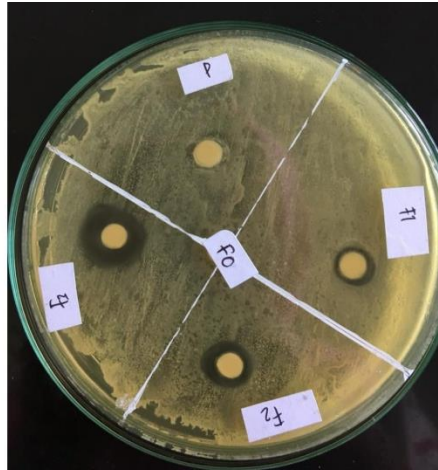
Pengujian aktivitas spray mikroemulsi *hand sanitizer* minyak atsiri kulit jeruk kalamansi menggunakan difusi agar. Pada media NA yang sudah



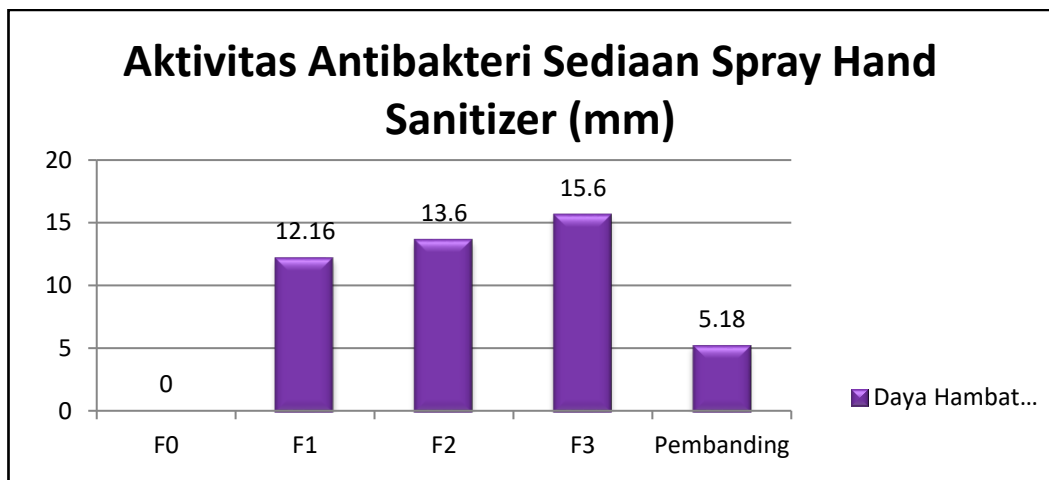
mengandung bakteri diletakkan kertas cakram yang telah ditetaskan spray mikroemulsi *hand sanitizer* minyak atsiri kulit jeruk kalamansi dengan F0 (tanpa ditambahkan minyak atsiri), F1 (ditambahkan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi 20%), F2 (ditambahkann minyak atsiri kulit jeruk kalamansi 40%), F3 (ditambahkan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi 60%) dan spray *hand sanitizer* yang beredar dipasaran sebagai pembanding. Selanjutnya media diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C pada posisi terbalik. Setelah 24 jam media tersebut dapat dilihat dan diukur diameter zona bening pada kertas cakram yang menunjukkan potensi daya hambat dari sediaan terhadap bakteri. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri semakin besar daya hambatnya.

**Tabel 6. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer***

Formula	Diameter daya hambat (mm)			
	Pengulangan ke 1	Pengulangan ke 2	Pengulangan ke 3	Rata-rata± SD
F0	0	0	0	0± 0
F1	12	12.5	12	12.16± 0.2886
F2	13.5	14	13.5	13.6±0.2357
F3	15.5	16	15.5	15.6±0.2886
P	5.25	5.15	5.15	5.18±0,0577



**Gambar 5. Aktivitas Antibakteri Sediaan Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi Sebagai *Spray Hand sanitizer* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***



**Gambar 6. Diagram Aktivitas Antibakteri Sediaan mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus***

Berdasarkan grafik aktivitas antibakteri sediaan di atas, dapat di lihat bahwa rata-rata diameter daya hambat pada sediaan *spray hand sanitizer* minyak atsiri kulit jeruk kalamansi pada F0 memiliki daya hambat sebesar 0 mm yang menandakan tidak memiliki respon daya hambat, F1 memiliki rata-rata daya hambat sebesar 12.16 mm yang menandakan memiliki respon daya hambat kuat, F2 memiliki rata-rata daya hambat sebesar 13.6 mm yang menandakan memiliki

respon daya hambat kuat, F3 memiliki rata-rata daya hambat sebesar 15.6 mm yang menandakan memiliki respon daya hambat kuat. Karena menurut Davis and Stout (1971), respon hambatan lemah ketika diameter zona hambat antibakteri  $\leq 5$  mm, respon hambatan sedang ketika diameter zona hambat antibakteri 5-10 mm, respon hambatan kuat ketika diameter zona hambat antibakteri 10-20 mm, respon hambatan sangat kuat ketika diameter zona hambat antibakteri  $\geq 20$  mm. Pada penelitian Debora *et al* (2018) menyatakan pada konsentrasi 25% memiliki daya hambat 6,16 mm (lemah) sedangkan pada penelitian ini dengan konsentrasi 20% telah mendapatkan daya hambat 12,16 mm (kuat). Hal ini disebabkan karena terjadinya difusi antara zat tambahan (DMDM Hydantoin) dan minyak atsiri kulit jeruk kalamansi yang dapat meningkatkan daya hambat mikroorganisme. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi pada sediaan *spray hand sanitizer* semakin besar aktivitas antibakteri yang diberikan.

Adanya aktivitas antibakteri pada minyak atsiri kulit jeruk kalamansi ini dikarenakan minyak atsiri merupakan senyawa metabolit sekunder yang telah dikenal memiliki aktivitas antibakteri, kandungan senyawa minyak atsiri dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri yang dapat digunakan sebagai aktivitas antibakteri (Kan *et al*, 2006).

Terdapat penelitian lain (Cahyani *et al*, 2017) yaitu efektivitas minyak atsiri kulit jeruk bergamot (*Citrus bergamia*) dalam masker gel *peel-off* sebagai antibakteri *staphylococcus aureus* ATCC 29213 pada konsentrasi 3% memiliki daya hambat 16,8 mm (kuat). Hal ini dikarenakan minyak atsiri kulit jeruk

bergamot mempunyai kandungan senyawa aktif yaitu limonene dan linalool yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Analisis uji aktivitas antibakteri pada setiap formula dan pembanding diuji dengan menggunakan statistik ANOVA satu arah dengan menggunakan SPSS 25. Sebagai dependent adalah diameter daya hambat bakteri dan sebagai independent digunakan konsentrasi formula *hand sanitizer* dari mikroemulsi minyak atsiri jeruk kalamansi. Dengan ANOVA satu arah didapatkan nilai signifikan 0,000, karena nilainya  $< 0,05$  (Lampiran 10, Tabel 21-24) maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Sehingga tampak F0 berbeda nyata terhadap pembanding, F1, F2 dan F3. Pembanding berbeda nyata terhadap F0, F1, F2, dan F3. F1 tampak berbeda nyata terhadap F0, Pembanding, F2, dan F3. F2 tampak berbeda nyata terhadap pembanding, F0, F1 dan F3. Dan F3 tampak berbeda nyata terhadap F1, F2, F3 dan pembanding.

## **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan :

1. Mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi dapat diformulasi dalam bentuk sediaan *spray hand sanitizer*.
2. Mikroemulsi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi *Spray hand sanitizer* memiliki aktivitas sebagai antibakteri, konsentrasi minyak 20% memiliki daya hambat sebesar 12.16 mm (kuat) 40% memiliki daya hambat sebesar 13.6 mm (kuat) dan 60% memiliki daya hambat sebesar 15.6 mm (kuat), semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk kalamansi maka semakin besar daya hambatnya terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

### **5.2 Saran**

1. Untuk penelitian selanjutnya dilakukan penambahan kosurfaktan yang cocok sehingga membuat sediaan terlihat jernih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adikusumo, A. (2013). Penatalaksanaan. Cermin Dunia Kedokteran. Jakarta Salemba.
- Ahvaz, Iran. (2009). *The Evaluation of Bacterial Colonization on Skin Lesions of Hospitalized Patients in Dermatology Departement of Ahvaz Zahra Beigom Moosavi*, Galal Lotfi. Jundishapur Jurnal of Microbiology. 2(4): 148-151.
- Amiliah., Nurhamidah., & Handayani. (2018). Aktifitas AntiBakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi Universitas Bengkulu: Bengkulu*
- Andriani, Novita. 2010. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak dari Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* L. Presl) terhadap Beberapa Bakteri Rongga Mulut. *Skripsi. Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia :Padang*.
- Bowersox, J.2007. *Experimental Staph Vaccine Broadly Protective in Animal Studies*. Polish Journal of Microbiology.
- British Pharmacopoeia. 2016. *British Pharmacopoeia, Volume II* .London : The Stationery Office.
- Brooks, GF., Carroll KC, Butel JS, Morse. (2013). Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, &Adelberg. Ed. 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Cahyani, I. M., Artiyani, R. (2017). Efektivitas Minyak Atsiri Kulit Jeruk Bergamot (*Citrus bergamia*) dalam Masker Gel *Peel-Off* sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(2), 192-196
- Chhabra, G.K., Chuttani, K., Mishra, A.K., and Pathak, K., 2011, Design and Development of Nanoemulsion Drug Delivery System of AmlodipineBesilate for Improvement of Oral Bioavailability, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 37 (8):907-916.
- Cita, M. (2017). Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Isolat Andrografolida dengan Variasi Perbandingan PVA (Polyvibyl Alcohol). *Universitas Islam Indonesia* .
- Dalimartha, S., 2009, *Lengkuas dalam Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Pustaka Bunda: Jakarta, 6: 89-93.
- Davis, W.W dan T.R. Stout, 1971, Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay, *J. Applied Microbiology*, 22(4):659-665.

- Debora, G., Widya, K., Lolo, A., & Yamlen, P. V. Y. (2018). Uji Aktifitas Anti Bakteri Minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(4), 62-68
- Depkes, RI. 1979. Farmakope Indonesia, Jilid III. Dirjen POM : Jakarta.
- Depkes, RI. 1995. Farmakope Indonesia, Jilid IV. Dirjen POM : Jakarta.
- Depkes, RI. 1995. Farmakope Indonesia, Jilid IV. Dirjen POM : Jakarta.
- Dizaj, S., M., 2013, Preparation & Study of Vitamin A Palmitate Microemulsion Drug Delivery System & Investigation of Co-surfactant Effect, *Journal Of Nanostructure in Chemistry*, 3: 59.
- Djajadisastra, Joshita., Abdul Mun'im, Dessy NP, 2009. Formulasi Gel Topikal Dari Ekstrak Nerii Folium Dalam Sediaan Anti Jerawat. *Jurnal Farmasi Indonesia.*, 4 (4): 210 -216
- Djamal, R. 2010. *Kimia Bahan Alam : Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Universitas Baiturrahmah: Padang.
- Dwi Puji Astuti, P. H. (2017). Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Antiseptik Tangan Minyak Atsiri Bunga Lavender (*Lavandula angustifolia* Miller). *Farmaka* , volume 15 nomor 1.
- Eliza, W. (2015). Formulasi sediaanmikroemulsi Minyak Atsiri Daun Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) dengan variasi Teen 20 dan Uji Efektivitas Terhadap Propionibacterium acnes. *Naskah publikasi* .
- Flanagan, J., Singh, H., 2006, Microemulsions: A Potential Delivery System for Bioactive in Food, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 46: 221–237.
- Gennaro, A.R. 1995. Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, Vol. II. Mack Publishing Company, Pennsylvanis. P. 1263 –1270.
- Gillespie, Stephen, BamfordK. 2008.*At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Edisi ke 3. Jakarta (ID): Erlangga.
- Guenther,E. 1990. *Minyak Atsiri (Ketaren S,Ed.) (Jilid IV B)*. Jakarta : Indonesia Press.
- International Conference on Harmonisation (ICH) Q2A. 1995. *Text on validation of analytical procedures*.
- Isadiartuti, D. & R. Sari.2005 Uji Efektifitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan yang Mengandung Etanol dan Triklosan. *Majalah Farmasi Airlangga*.

- Isnawati, Ayu A., 2019. Formulasi dan Uji Stabilitas Sediaan Spray Gel *Hand sanitizer* Kombinasi Minyak Atsiri Geranium (*Pelargonium graveolens*) dan Minyak Atsiri Pepermin (*Mentha piperita*), *Skripsi* Fakultas Farmasi UMM, Malang.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. (2007). Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 23. Nugroho, Edi dan Maulany, R. F., penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz, Melnick, Adelberg, 2008, *Mikrobiologi Kedokteran*. (H. Hartanto, C. Rachman, A. Dimanti, A. Diani). Jakarta: EGC.p.199-200 : 233.
- Jufri, M., Anwar, E., Utami, P. M., A. L., 2006, *Jurnal Uji Stabilitas Sediaan Mikroemulsi menggunakan Hidrolisat Pati*, III(1), p. 8–21.
- Kan, Yuksel., Ucan, Sait, U Kartal Murat., Altun, M.L. Aslan, S., Sayar, E., Ceyhan, T., 2006, GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of Cultivated *Satureja cuneifolia* Ten. Essential Oil. *Turkey Journal Chemistry* 30, 253-259
- Ketaren, S., 1985, *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*, Balai Pustaka: Jakarta.
- Madigan, M. M., Martinko, J. M., and Parker, J. 2003. *Biology of Microorganisms*, 10<sup>th</sup> ed. Pearson Education United States of America.
- Marriott, N.G., 1999, *Principle of Food Sanitation*, 4<sup>th</sup> Edition, Aspen Publisher Inc., Gaithersburg, Maryland.
- Maulik, J., Patel, S., Natvarlal, Patel, M.P., 2010, *A Self Microemulsifying Drug Delivery System (SMEDDS) (Vol 4)*, Kalol Institute of Pharmacy: India.
- Maya, L., Jufri, M., Djajadisastra, J., 2009, Pembuatan Mikroemulsi dari Minyak Buah Merah (*Pandanus coroides*), *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 6, 1: 18-27.
- Nurwahdaniati, 2014. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol 70% Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Dengan Metode Bioautografi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Ilmi Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Pathan, M., Zikriya, A., Q. A., 2012, Microemulsion: As Excellent Drug Delivery System, *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars (IJPRS)*, V-1(I-3), 199–210.
- Pelczar, M.J and Chan, E.C. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid II. Universitas Indonesia : Jakarta.
- Pratiwi, S. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga : Jakarta.



- Retnosari dan Isadiartuti, D., 2006, Studi efektivitas sediaan gel antiseptic tangan ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.), *Majalah Farmasi Indonesia*, 163-169.
- Rostinawati, Tina. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Agar. *Laporan Penelitian Mandiri. Universitas Padjajaran. Jatinangor.*
- Rowe, R. C. R., Sheskey, P. J. S. dan Cook, W. 2009. *Handbook Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition. Washington D. C: Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association*
- Santos, AC., Hadgraft WJ, L. M., 2008, Application of Microemulsions in Dermal & Transdermal Drug Delivery, *Skin Pharmacology & Physiology* 21., 246–259.
- Septi Permatasari, Verica. *Pengaruh Konsentrasi Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Terhadap Sifat Fisis dan Stabilitas Gel Hand Sanitizer Minyak Daun Mint (Oleu Mentha Piperita)*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma. 2014.
- Shalviri, A., Sharma, A., Patel, D., 2011, Low-surfactant Microemulsions for Enhanced Topical Delivery of Poorly Soluble Drugs, *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 315 – 324.
- SNI 2588:2017. 2017. Sabun Cair Pembersih Tangan. Bandung: Badan Standarisasi Nasional.
- Talegaonkar, S., Azeem, A., Ahmad, F.J., Roop, Khar, Shadab, Pathan, Zeenat, Khan, 2008, Microemulsions: A Novel Approach to Enhanced Drug Delivery, *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 2. 238-257.
- Tranggono, RI., Latifa, F., 2007, *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Tyler, V.E, Brady L.R., Robbers, J.E., 1976, *Pharmacognosy*, Lea & Febiger, Philadelphia
- Volker, A., 2009 , *Dynamic Light Scattering: Measuring the Particle Size Distribution*
- Wahyu Eliza, R. D. (2015). Formulasi Sediaan Mikroemulsi Minyak Atsiri Daun Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) Dengan Variasi Tween 20 dan Uji Aktivitas Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Naskah Publikasi* .
- Yuniarti, T, *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*, Cetakan Pertama MedPress, Yogyakarta. 2008

Yuska Noviyanty, H. F. (2020). Minyak Atsiri kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa*) sebagai Formulasi Masker Gel (*Peel-Off Mask*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 27-36.

## Lampiran 1. Tanaman Jeruk Kalamansi

### A. Tanaman Jeruk Kalamansi



**Gambar 7. Tanaman jeruk kalamansi**

### B. Jeruk Kalamansi



**Gambar 8. Kulit Jeruk Kalamansi**

## Lampiran 2. Surat Identifikasi Tanaman Jeruk Kalamansi



### HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar  
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. \*811 e-mail: [nas\\_herb@yahoo.com](mailto:nas_herb@yahoo.com);  
[herbariumandaunand@gmail.com](mailto:herbariumandaunand@gmail.com)

Nomor : 500/K-ID/ANDA/XII/2019  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,  
Dona Fauziyah  
Di  
Tempat


Dengan hormat,  
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Dona Fauziyah  
No. BP : 1604053  
Instansi : STIFI YP Padang

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

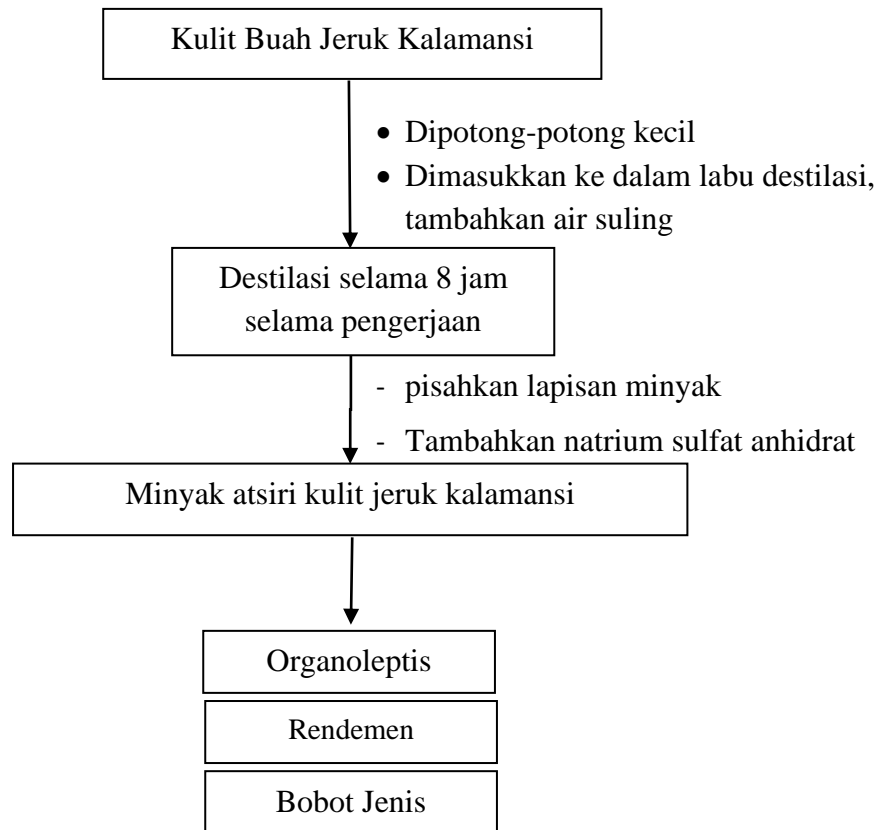
No	Family	Spesies
1.	Rutaceae	<i>Citrus x microcarpa</i> Bunge

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 21 Januari 2020  
Kepala,  
  
Dr. Nurainas  
NIP. 196908141995122001

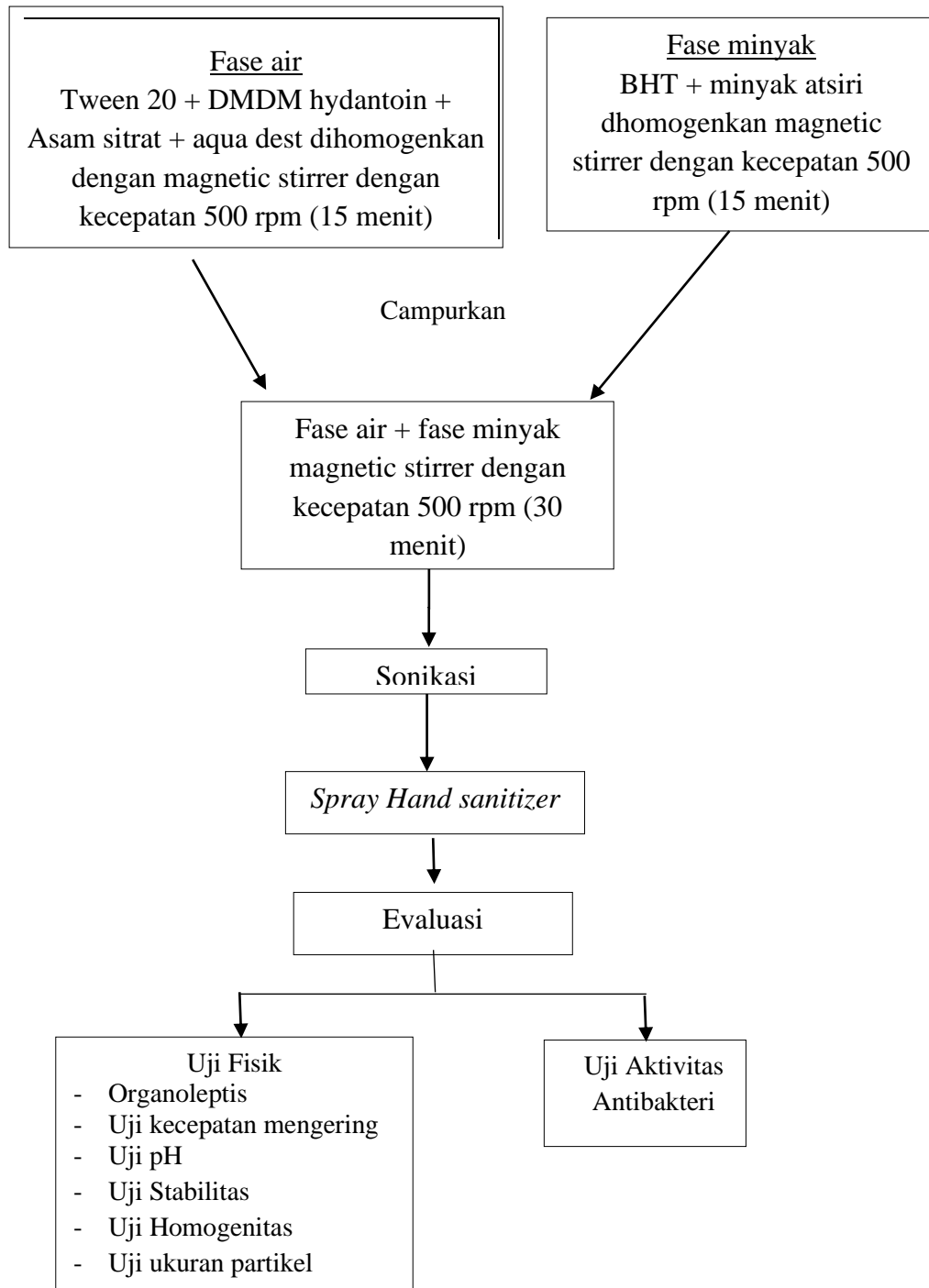
Gambar 9. Surat Identifikasi Tanaman Jeruk Kalamansi

**Lampiran 3. Skema Kerja Pengolahan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi  
(*Citrus x microcarpa* Bunge )**



**Gambar 10. Gambar Skema Kerja Pengolahan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge )**

**Lampiran 4. Pembuatan Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) sebagai *Spray Hand sanitizer***



**Gambar 11. Skema Kerja Pembuatan dan Evaluasi Mikroemulsi Kulit jeruk Kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) sebagai *Spray Hand sanitizer***

**Lampiran 5. Sediaan Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) sebagai *Spray Hand Sanitizer***



**Gambar 12. Sediaan Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus x microcarpa* Bunge) sebagai *Spray Hand Sanitizer***

## Lampiran 6. Pemeriksaan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi

**Tabel 7. Hasil Pemeriksaan Minyak atsiri**

No	Pemeriksaan	Pengamatan
1.	Organoleptis Bentuk Warna Bau	Cairan Kuning Muda Khas
2.	Rendemen	0,535 %
3.	Bobot Jenis	0,8535

**Tabel 8. Hasil Rendemen Minyak Atsiri**

No	Berat sampel awal	Berat minyak atsiri
1.	14 kg	75 mL

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat minyak atsiri}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\% \\ &= \frac{75 \text{ g}}{14.000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,535\%\end{aligned}$$

**Tabel 9. Hasil Pemeriksaan Bobot Jenis Minyak Atsiri**

No	Piknometer kosong (W1) g	Piknometer kosong + air suling (W2) g	Piknometer kosong +minyak atsiri (W3) g
1.	11,6692	17,2645	16,4382

$$\begin{aligned}\text{Bj} &= \frac{W3-W1}{W2-W1} \times \rho \text{ air} \\ &= \frac{16,4382-11,6692}{17,265-11,6692} \times 1,0 \\ &= \frac{4,769}{5.5953} \times 1,0 \\ &= 0,8533 \text{ g/mL}\end{aligned}$$



## Lampiran 7. Pemeriksaan Bahan Tambahan

**Tabel 10. Hasil Pemeriksaan Tween 20**

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Departemen Kesehatan RI, 2014)	Pengamatan
1.	Organoleptis Bentuk  Warna Bau	Cairan kental seperti minyak  Kuning Asam lemah	Cairan kental seperti minyak Kuning Asam lemah
2.	Kelarutan Dalam air Dalam etanol 96%	Mudah larut Larut	Mudah larut ( 1: 5) Larut (1 : 11)

**Tabel 11. Hasil Pemeriksaan DMDM *hydantoin***

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Departemen Kesehatan RI, 2014)	Pengamatan
1.	Organoleptis Bentuk Warna  Bau	Cairan Tidak berwarna, mendekati kuning transparan  Sedikit berbau aldehid	Cairan Tidak berwarna, mendekati kuning transparan Sedikit berbau aldehid
2.	Kelarutan Dalam air Dalam etanol 96%	Larut Larut	Mudah larut ( 1: 16) Larut (1 : 22)

**Lampiran 7 (Lanjutan)**

**Tabel 12. Hasil Pemeriksaan Asam Sitrat**

<b>No</b>	<b>Pemeriksaan</b>	<b>Persyaratan (Departemen Kesehatan RI, 2014)</b>	<b>Pengamatan</b>
1.	Organoleptis Bentuk Warna Bau	Hablur putih Tidak berwarna Tidak berbau	Hablur putih Tidak berwarna Tidak berbau
2.	Kelarutan Dalam air  Dalam etanol 96%	Sangat mudah larut  Mudah larut	Sangat mudah larut (1:0,8) Mudah larut (1:2,8)

**Tabel 13. Hasil Pemeriksaan BHT**

<b>No</b>	<b>Pemeriksaan</b>	<b>Persyaratan (Departemen Kesehatan RI, 2014)</b>	<b>Pengamatan</b>
1.	Organoleptis Bentuk Warna Bau	Kristal padatan Putih atau kuning pucat Karakteristik	Kristal padatan Putih Karakteristik
2.	Kelarutan Dalam air  Dalam etanol 96%	Praktis tidak larut  Larut	Praktis tidak larut (1:10.080) Larut (1:11)

**Lampiran 8. Hasil Evaluasi Spray Mikroemulsi *Hand Sanitizer***

**Tabel 14. Hasil Evaluasi Organoleptis**

Formula	Organoleptis	Minggu ke-					
		1	2	3	4	5	6
F0	Bentuk	CR	CR	CR	CR	CR	CR
	Warna	B	B	B	B	B	B
	Bau	Tb	Tb	Tb	Tb	Tb	Tb
	Kejernihan	J	J	J	J	J	J
F1	Bentuk	CR	CR	CR	CR	CR	CR
	Warna	K	K	K	K	K	K
	Bau	Kh	Kh	Kh	Kh	Kh	Kh
	Kejernihan	Tj	Tj	Tj	Tj	Tj	Tj
F2	Bentuk	CR	CR	CR	CR	CR	CR
	Warna	Ks	Ks	Ks	Ks	Ks	Ks
	Bau	Kh	Kh	Kh	Kh	Kh	Kh
	Kejernihan	Tj	Tj	Tj	Tj	Tj	Tj
F3	Bentuk	CR	CR	CR	CR	CR	CR
	Warna	Ks	Ks	Ks	Ks	Ks	Ks
	Bau	Kh	Kh	Kh	Kh	Kh	Kh
	Kejernihan	Tj	Tj	Tj	Tj	Tj	Tj
P	Bentuk	CR	CR	CR	CR	CR	CR
	Warna	B	B	B	B	B	B
	Bau	W	W	W	W	W	W
	Kejernihan	J	J	J	J	J	J

**Keterangan :**

- CR : Cair
- B : Bening
- K : Kuning
- Ks : Kuning Susu
- Kh : Khas
- Tb : Tidak berbau
- W : Wangi
- J : Jernih
- Tj : Tidak Jernih

**Lampiran 8 (Lanjutan)**

**Tabel 15. Hasil Pemeriksaan Waktu Kecepatan Mengering**

Formula	Waktu Mengering (detik)					
	Panelis I	Panelis II	Panelis III	Panelis IV	Panelis V	Rata-Rata ± SD
F0	47,00 detik	50,26 detik	48,56 detik	48,27 detik	48,23 detik	48,46 ± 1,1694
F1	53,56 detik	57,32 detik	54,24 detik	55,48 detik	55,13 detik	55,14 ± 1,2786
F2	57,00 detik	59,27 detik	48,36 detik	58,23 detik	57,39 detik	56,05 ± 4,3862
F3	58,00 detik	1 menit 10 detik	59,23 detik	58,35 detik	59,17 detik	60,95 ± 5,0865
P	25,00 detik	25,13 detik	23,57 detik	23,30 detik	23,48 detik	24,09 ± 0,8910

**Tabel 16. Hasil Pemeriksaan pH**

No	Formula	Minggu ke							Rata-rata	±SD
		I	II	III	IV	V	IV			
1.	F0	5.58	5.67	5.67	5.67	5.68	5.67	5.65	0.037771	
2.	F1	4.77	4.76	4.74	4.77	4.77	4.7	4.75	0.027869	
3.	F2	4.58	4.64	4.62	4.6	4.58	4.58	4.6	0.025298	
4.	F3	3.91	3.67	3.8	3.91	3.67	3.91	3.81	0.117714	
5.	P	6.05	5.87	6.1	6.05	5.87	6.1	6.00	0.108197	

**Tabel 17. Hasil Pemeriksaan Stabilitas Dengan Metode *Freeze And Thaw***

Formula	Siklus ke					
	I	II	III	IV	V	VI
F0	TM	TM	TM	TM	TM	TM
F1	TM	TM	TM	TM	TM	TM
F2	TM	TM	TM	TM	TM	TM
F3	TM	TM	TM	TM	TM	TM
P	TM	TM	TM	TM	TM	TM

**Keterangan**

TM : Tidak memisah

## Lampiran 8 (Lanjutan)

**Tabel 18. Hasil Pemeriksaan Stabilitas Pada Suhu Kamar**

Formula	Siklus ke					
	I	II	III	IV	V	VI
F0	TM	TM	TM	TM	TM	TM
F1	TM	TM	TM	TM	TM	TM
F2	TM	TM	TM	TM	TM	TM
F3	TM	TM	TM	TM	TM	TM
P	TM	TM	TM	TM	TM	TM

**Keterangan :**

TM : Tidak memisah

**Tabel 19. Hasil Pemeriksaan Homogenitas**

Formula	Minggu ke					
	I	II	III	IV	V	VI
F0	H	H	H	H	H	H
F1	H	H	H	H	H	H
F2	H	H	H	H	H	H
F3	H	H	H	H	H	H
P	H	H	H	H	H	H

**Keterangan :**

H = Homogen

**Tabel 20. Hasil Pemeriksaan Ukuran Partikel**

No.	Formula	Distribusi ukuran partikel (nm)	Indeks Polidispersitas (IP)
1.	F1	495,8	0,414
2.	F2	1141,3	0,327
3.	F3	1271,6	0,353

# Lampiran 8 (Lanjutan)

**HORIBA**  
Scientific

HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

## SZ-100

030.C.PSA.VI.2020 R2.nsz

### Measurement Results

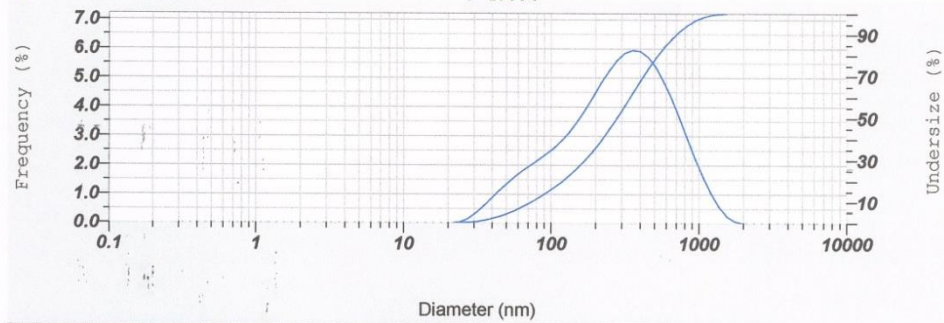
Date : Monday, June 29, 2020 12:25:35 PM  
 Measurement Type : Particle Size  
 Sample Name : F 1  
 Scattering Angle : 90  
 Temperature of the Holder : 24.8 °C  
 Dispersion Medium Viscosity : 0.898 mPa·s  
 Transmission Intensity before Meas. : 17031  
 Distribution Form : Standard  
 Distribution Form(Dispersity) : Monodisperse  
 Representation of Result : Scattering Light Intensity  
 Count Rate : 2950 kCPS

### Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	341.8 nm	258.6 nm	335.3 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	341.8 nm	258.6 nm	335.3 nm

### Cumulant Operations

Z-Average : 495.8 nm  
 PI : 0.414



No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.34	0.000	0.000	22	4.40	0.000	0.000	43	57.09	1.583	5.954	64	740.89	3.558	91.545
2	0.38	0.000	0.000	23	4.97	0.000	0.000	44	64.50	1.793	7.747	65	837.07	2.865	94.410
3	0.43	0.000	0.000	24	5.61	0.000	0.000	45	72.87	1.984	9.731	66	945.74	2.186	96.596
4	0.49	0.000	0.000	25	6.34	0.000	0.000	46	82.33	2.168	11.899	67	1068.52	1.557	98.152
5	0.55	0.000	0.000	26	7.17	0.000	0.000	47	93.02	2.360	14.259	68	1207.24	1.006	99.158
6	0.62	0.000	0.000	27	8.10	0.000	0.000	48	105.10	2.577	16.835	69	1363.97	0.558	99.716
7	0.70	0.000	0.000	28	9.15	0.000	0.000	49	118.74	2.834	19.670	70	1541.04	0.232	99.949
8	0.80	0.000	0.000	29	10.34	0.000	0.000	50	134.16	3.145	22.814	71	1741.10	0.051	100.000
9	0.90	0.000	0.000	30	11.68	0.000	0.000	51	151.57	3.510	26.324	72	1967.14	0.000	100.000
10	1.02	0.000	0.000	31	13.20	0.000	0.000	52	171.25	3.924	30.248	73	2222.51	0.000	100.000
11	1.15	0.000	0.000	32	14.91	0.000	0.000	53	193.48	4.369	34.617	74	2511.05	0.000	100.000
12	1.30	0.000	0.000	33	16.84	0.000	0.000	54	218.80	4.817	39.434	75	2837.04	0.000	100.000
13	1.47	0.000	0.000	34	19.03	0.000	0.000	55	246.88	5.235	44.669	76	3205.35	0.000	100.000
14	1.66	0.000	0.000	35	21.50	0.000	0.000	56	279.04	5.585	50.254	77	3621.48	0.000	100.000
15	1.87	0.000	0.000	36	24.29	0.030	0.030	57	315.27	5.830	56.084	78	4091.83	0.000	100.000
16	2.11	0.000	0.000	37	27.45	0.143	0.173	58	356.20	5.940	62.024	79	4622.81	0.000	100.000
17	2.39	0.000	0.000	38	31.01	0.336	0.509	59	402.44	5.895	67.919	80	5222.96	0.000	100.000
18	2.70	0.000	0.000	39	35.03	0.575	1.084	60	454.68	5.688	73.607	81	5901.02	0.000	100.000
19	3.05	0.000	0.000	40	39.58	0.836	1.920	61	513.71	5.326	78.933	82	6667.10	0.000	100.000
20	3.45	0.000	0.000	41	44.72	1.100	3.019	62	580.41	4.828	83.761	83	7532.85	0.000	100.000
21	3.89	0.000	0.000	42	50.53	1.352	4.371	63	655.78	4.226	87.987	84	8510.56	0.000	100.000

Explore the future

Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific

**HORIBA**

1 / 1

Gambar 13. Grafik Ukuran Partikel Terdispersi F1

# Lampiran 8 (Lanjutan)



HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

## SZ-100

031.C.PSA.VI.2020 R1.nsz

### Measurement Results

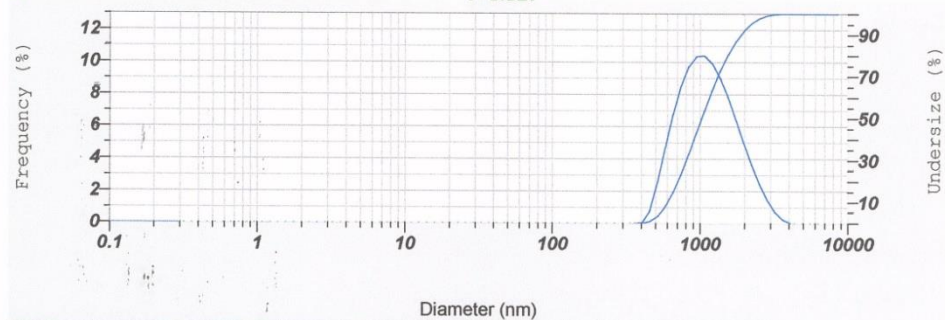
Date : Monday, June 29, 2020 12:37:38 PM  
 Measurement Type : Particle Size  
 Sample Name : F 2  
 Scattering Angle : 90  
 Temperature of the Holder : 24.8 °C  
 Dispersion Medium Viscosity : 0.899 mPa·s  
 Transmission Intensity before Meas. : 18187  
 Distribution Form : Standard  
 Distribution Form(Dispersity) : Monodisperse  
 Representation of Result : Scattering Light Intensity  
 Count Rate : 1413 kCPS

### Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	1151.8 nm	524.1 nm	1002.7 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	1151.8 nm	524.1 nm	1002.7 nm

### Cumulat Operations

Z-Average : 1141.3 nm  
 PI : 0.327



No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.34	0.000	0.000	22	4.40	0.000	0.000	43	57.09	0.000	0.000	64	740.89	8.464	23.112
2	0.38	0.000	0.000	23	4.97	0.000	0.000	44	64.50	0.000	0.000	65	837.07	9.687	32.798
3	0.43	0.000	0.000	24	5.61	0.000	0.000	45	72.87	0.000	0.000	66	945.74	10.326	43.124
4	0.49	0.000	0.000	25	6.34	0.000	0.000	46	82.33	0.000	0.000	67	1068.52	10.378	53.502
5	0.55	0.000	0.000	26	7.17	0.000	0.000	47	93.02	0.000	0.000	68	1207.24	9.900	63.402
6	0.62	0.000	0.000	27	8.10	0.000	0.000	48	105.10	0.000	0.000	69	1363.97	8.993	72.395
7	0.70	0.000	0.000	28	9.15	0.000	0.000	49	118.74	0.000	0.000	70	1541.04	7.784	80.179
8	0.80	0.000	0.000	29	10.34	0.000	0.000	50	134.16	0.000	0.000	71	1741.10	6.407	86.586
9	0.90	0.000	0.000	30	11.68	0.000	0.000	51	151.57	0.000	0.000	72	1967.14	4.989	91.575
10	1.02	0.000	0.000	31	13.20	0.000	0.000	52	171.25	0.000	0.000	73	2222.51	3.639	95.214
11	1.15	0.000	0.000	32	14.91	0.000	0.000	53	193.48	0.000	0.000	74	2511.05	2.439	97.652
12	1.30	0.000	0.000	33	16.84	0.000	0.000	54	218.60	0.000	0.000	75	2837.04	1.444	99.096
13	1.47	0.000	0.000	34	19.03	0.000	0.000	55	246.98	0.000	0.000	76	3205.35	0.691	99.788
14	1.66	0.000	0.000	35	21.50	0.000	0.000	56	279.04	0.000	0.000	77	3621.48	0.204	99.991
15	1.87	0.000	0.000	36	24.29	0.000	0.000	57	315.27	0.000	0.000	78	4091.83	0.000	99.991
16	2.11	0.000	0.000	37	27.45	0.000	0.000	58	356.20	0.000	0.000	79	4622.81	0.000	99.991
17	2.39	0.000	0.000	38	31.01	0.000	0.000	59	402.44	0.009	0.000	80	5222.96	0.000	99.991
18	2.70	0.000	0.000	39	35.03	0.000	0.000	60	454.89	0.746	0.746	81	5901.02	0.000	99.991
19	3.05	0.000	0.000	40	39.58	0.000	0.000	61	513.71	2.510	3.256	82	6667.10	0.000	99.991
20	3.45	0.000	0.000	41	44.72	0.000	0.000	62	580.41	4.857	7.913	83	7532.65	0.000	99.991
21	3.89	0.000	0.000	42	50.53	0.000	0.000	63	655.76	6.734	14.647	84	8510.56	0.000	100.000

Explore the future

Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific



1 / 1

Gambar 14. Grafik Ukuran Partikel Terdispersi F2

# Lampiran 8 (Lanjutan)



HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

## SZ-100

032.C.PSA.VI.2020 R1.nsz

### Measurement Results

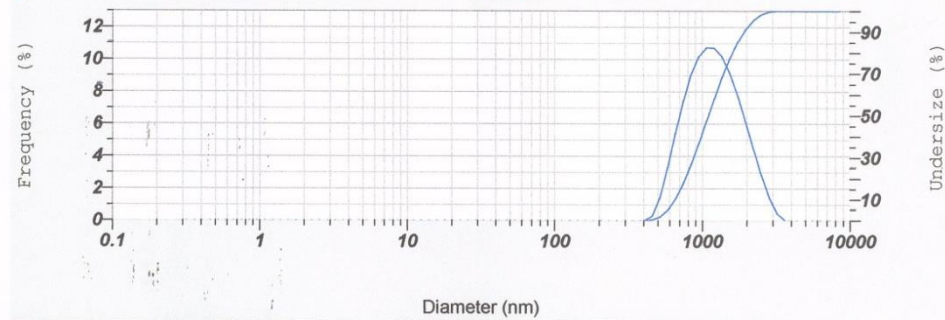
Date : Monday, June 29, 2020 12:58:24 PM  
 Measurement Type : Particle Size  
 Sample Name : F 3  
 Scattering Angle : 90  
 Temperature of the Holder : 24.8 °C  
 Dispersion Medium Viscosity : 0.899 mPa·s  
 Transmission Intensity before Meas. : 25396  
 Distribution Form : Standard  
 Distribution Form(Dispersity) : Monodisperse  
 Representation of Result : Scattering Light Intensity  
 Count Rate : 753 kCPS

### Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	1205.9 nm	501.3 nm	1008.5 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	1205.9 nm	501.3 nm	1008.5 nm

### Cumulant Operations

Z-Average : 1271.6 nm  
 PI : 0.353



No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.34	0.000	0.000	22	4.40	0.000	0.000	43	57.09	0.000	0.000	64	740.89	7.351	17.564
2	0.38	0.000	0.000	23	4.97	0.000	0.000	44	64.50	0.000	0.000	65	837.07	8.993	26.556
3	0.43	0.000	0.000	24	5.61	0.000	0.000	45	72.87	0.000	0.000	66	945.74	10.139	36.695
4	0.48	0.000	0.000	25	6.34	0.000	0.000	46	82.33	0.000	0.000	67	1088.52	10.713	47.408
5	0.55	0.000	0.000	26	7.17	0.000	0.000	47	93.02	0.000	0.000	68	1207.24	10.697	58.105
6	0.62	0.000	0.000	27	8.10	0.000	0.000	48	105.10	0.000	0.000	69	1363.97	10.126	68.231
7	0.70	0.000	0.000	28	9.15	0.000	0.000	49	118.74	0.000	0.000	70	1541.04	9.081	77.312
8	0.80	0.000	0.000	29	10.34	0.000	0.000	50	134.16	0.000	0.000	71	1741.10	7.680	84.992
9	0.90	0.000	0.000	30	11.68	0.000	0.000	51	151.57	0.000	0.000	72	1987.14	6.082	91.054
10	1.02	0.000	0.000	31	13.20	0.000	0.000	52	171.25	0.000	0.000	73	2222.51	4.374	95.429
11	1.15	0.000	0.000	32	14.91	0.000	0.000	53	193.48	0.000	0.000	74	2511.05	2.766	98.195
12	1.30	0.000	0.000	33	16.84	0.000	0.000	54	218.60	0.000	0.000	75	2837.04	1.380	99.584
13	1.47	0.000	0.000	34	19.03	0.000	0.000	55	246.96	0.000	0.000	76	3205.35	0.416	100.000
14	1.66	0.000	0.000	35	21.50	0.000	0.000	56	279.04	0.000	0.000	77	3621.48	0.000	100.000
15	1.87	0.000	0.000	36	24.29	0.000	0.000	57	315.27	0.000	0.000	78	4091.63	0.000	100.000
16	2.11	0.000	0.000	37	27.45	0.000	0.000	58	356.20	0.000	0.000	79	4622.81	0.000	100.000
17	2.39	0.000	0.000	38	31.01	0.000	0.000	59	402.44	0.000	0.000	80	5222.96	0.000	100.000
18	2.70	0.000	0.000	39	35.03	0.000	0.000	60	454.69	0.255	0.255	81	5901.02	0.000	100.000
19	3.05	0.000	0.000	40	39.58	0.000	0.000	61	513.71	1.361	1.615	82	6667.10	0.000	100.000
20	3.45	0.000	0.000	41	44.72	0.000	0.000	62	580.41	3.240	4.855	83	7532.65	0.000	100.000
21	3.89	0.000	0.000	42	50.53	0.000	0.000	63	655.76	5.357	10.213	84	8510.56	0.000	100.000

Explore the future

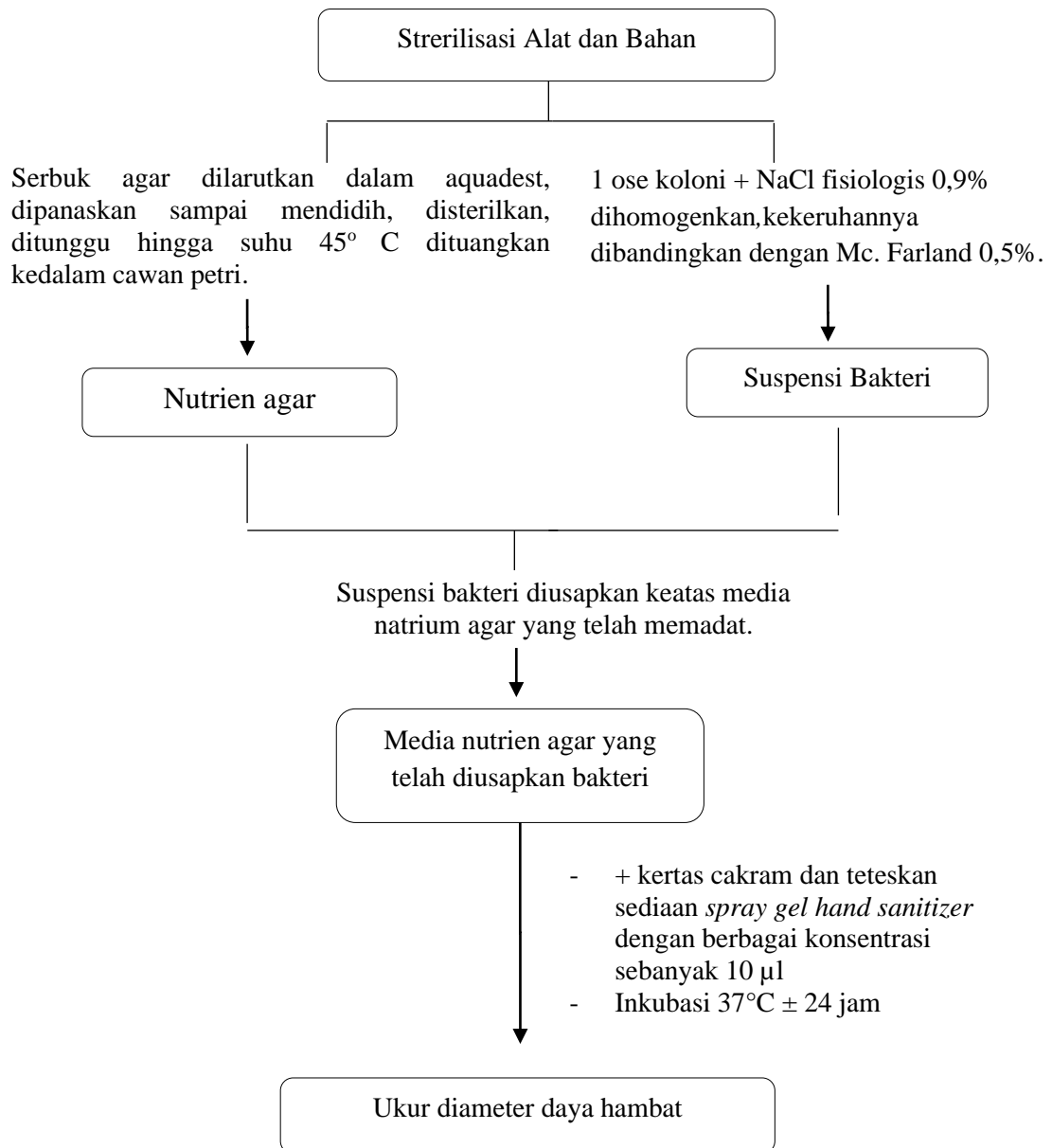
Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific



Gambar 15. Grafik Ukuran Partikel Terdispersi F3



**Lampiran 9. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) sebagai *Spray Hand sanitizer* Terhadap *Staphylococcus aureus***



**Gambar 16. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri**

**Lampiran 10. Hasil Uji Statistik ANOVA Satu Arah Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi Sebagai *Spray Hand sanitizer* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***

**Tabel 21. Hasil Uji Statistik ANOVA Satu Arah Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer***

**Descriptives**

Aktivitas Antibakteri

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
F0	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
F1	3	12.1667	.28868	.16667	11.4496	12.8838	12.00	12.50
F2	3	13.6667	.28868	.16667	12.9496	14.3838	13.50	14.00
F3	3	15.6667	.28868	.16667	14.9496	16.3838	15.50	16.00
Pembanding	3	5.1833	.05774	.03333	5.0399	5.3268	5.15	5.25
Total	15	9.3367	6.06075	1.56488	5.9803	12.6930	.00	16.00

**Tabel 22. Hasil Analisis Varian Homogenitas dari Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer***

**Test of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Aktivitas Antibakteri	Based on Mean	6.526	4	10	.008
	Based on Median	.408	4	10	.799
	Based on Median and with adjusted df	.408	4	6.158	.798
	Based on trimmed mean	5.140	4	10	.016

**Lampiran 10 (Lanjutan)**

**Tabel 23. Hasil Analisis Varian dari Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer***

**ANOVA**

Aktivitas Antibakteri

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	513.751	4	128.438	2534.954	.000
Within Groups	.507	10	.051		
Total	514.257	14			

**Tabel 24. Hasil Analisis Uji Lanjut Duncan Aktivitas Antibakteri Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi sebagai *Spray Hand sanitizer* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***

**Aktivitas Antibakteri**

Duncan<sup>a</sup>

Formula	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
F0	3	.0000				
Pembanding	3		5.1833			
F1	3			12.1667		
F2	3				13.6667	
F3	3					15.6667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.