

**UJI SIFAT FISIK DAN UJI DAYA ANTISEPTIK GEL *HAND*
SANITIZER EKSTRAK ETANOLIK KULIT BUAH KAKAO
(*Theobroma cacao L.*) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Farmasi



Oleh :

Shabrina Masyithoh

33101700058

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2022**

SKRIPSI

**UJI SIFAT FISIK DAN UJI DAYA ANTISEPTIK GEL *HAND SANITIZER*
EKSTRAK ETANOLIK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma kakao L.*) TERHADAP
Escherichia coli ATCC 25922**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Shabrina Masyithoh

33101700058

Telah dipertahankan didepan Dewan Penguji

Pada tanggal 15 Agustus 2022

Dan dinyatakan telah memenuhi persyaratan

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm.

Anggota Tim Penguji I

Apt. Fadzil Latifah, M.Farm.

Pembimbing II

Apt. Hudan Taufiq, M.Sc.

Anggota Tim Penguji II

dr. Rahayu, Sp.MK, M.Biomed.

Semarang, 15 Agustus 2022

Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. KF.

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Shabrina Masyithoh

NIM : 33101700058

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**“UJI SIFAT FISIK DAN UJI DAYA ANTISEPTIK GEL *HAND*
SANITIZER EKSTRAK ETANOLIK KULIT BUAH KAKAO
(*Theobroma cacao L.*) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922”**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 15 Agustus 2022

Yang menyatakan,



Shabrina Masyithoh

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Shabrina Masyithoh

NIM : 33101700058

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

Alamat Asal : Jl. Sidomulyo Raya No. 28 Tlogosari. Semarang.

No HP/ Email : 08557591546 / shabrinamasyithoh32@gmail.com

Dengan ini menyerahkan karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul:

**“UJI SIFAT FISIK DAN UJI DAYA ANTISEPTIK GEL *ILAND*
SANITIZER EKSTRAK ETANOLIK KULIT BUAH KAKAO
(*Theobroma cacao L.*) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922”**

Dan menyetujui menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung serta memberikan Hak Bebas Royalti Non Eklusif untuk disimpan, dialihmediakan, dikelola dalam pangkalan data dan dipublikasikan di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh sungguh. Apabila di kemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta Plagiarisme dalam karyatulis ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 15 Agustus 2022



Shabrina Masyithoh

PRAKATA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini dengan judul **“UJI SIFAT FISIK DAN UJI DAYA ANTISEPTIK GEL HAND SANITIZER EKSTRAK ETANOLIK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma kakao L.*) TERHADAP *Escherichia coli ATCC 25922*”** sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sholawat dan salam tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat dan para pengikutnya.

Dengan terselesaikannya Skripsi ini, penulis menyadari bahwasanya banyak kekurangan dan keterbatasan, tanpa dukungan berbagai pihak skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik serta kesempatan bagi penulis untuk menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada mereka yang tulus membantu tersusunnya Skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.Hum., selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3. Ibu apt. Rina Wijayanti, M.Sc., selaku Kepala Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
4. Ibu apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm., selaku dosen pembimbing I dan Bapak apt. Hudan Taufiq, M.Sc., selaku dosen pembimbing II yang telah berkenan meluangkan waktu, sabar membimbing, memberikan arahan, semangat dan motivasi dalam proses pengerjaan Skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
5. Ibu apt. Fadzil Latifah, M.Sc., selaku dosen penguji I dan Bapak dr. M. Akbaruddin Sholeh, M.Si. dan dr. Rahayu, Sp.MK. selaku penguji II yang telah berkenan meluangkan waktu untuk memberikan kritik dan masukan serta saran kepada penulis agar skripsi ini dapat menjadi lebih baik.
6. Teristimewa untuk kedua orang tua tercinta, Bapak Iskandar Zulkarnain dan Ibu Aminah, Kakak Ferial Nurbaya dan Kakak Dodi Zulkifli, Muhammad Wildan dan suami tercinta Muammar serta keluarga besar yang telah senantiasa mendo'akan, memberikan semangat dan kasih sayang, serta memberikan dukungan baik moril maupun materil dalam menyelesaikan skripsi.
7. Analis Laboratorium Farmasi FK Unissula, Analis lalaboratorium Mikrobiologi FK Unissula, Laboratorium Biologi Universitas Diponegoro Semarang dan Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.

8. Sahabat penulis Tsania Farhah dan Richa Asyha Febriana yang senantiasa mendukung, memberi semangat dan kasih sayang dengan tulus kepada penulis selama menuntut ilmu hingga dukungan dalam proses penulisan skripsi.
9. Keluarga Besar “Sedativa” Farmasi 2017 yang telah menjadi teman sekaligus keluarga penulis selama menuntut ilmu serta saling memberikan semangat dalam pengerjaan skripsi.
10. Serta semua pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuannya dalam penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Semarang, 15 Agustus 2022



Shabrina Masyithoh

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
SURAT PERNYATAAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	Error!
Bookmark not defined.	
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
INTISARI.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis	4

1.4.2. Manfaat Praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Tinjauan Pustaka	5
2.1.1. Tanaman Kakao (<i>Theobroma kakao L.</i>).....	5
2.1.2. Ekstraksi	9
2.1.3. <i>Escherichia coli</i>	13
2.2. Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....	17
2.3. Sediaan Gel Antiseptik Tangan.....	19
2.4. Formulasi Gel <i>Hand Sanitizer</i>	21
2.5. Uji Sifat Fisik Sediaan.....	22
2.6. Hubungan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Kakao dalam Sediaan Gel Antiseptik Tangan dan Zona Hambat Bakteri <i>Escherichia coli</i>	23
2.7. Kategori Diameter Zona hambat	23
2.8. Kerangka Teori.....	24
2.9. Kerangka Konsep.....	25
2.10. Hipotesis.....	25
BAB III METODE PENELITIAN.....	26
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	26
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	26
3.2.1. Variabel	26
3.2.2. Definisi Operasional.....	27
3.3. Populasi dan Sampel Uji Aktivitas Antibakteri	28
3.3.1. Populasi Uji Aktivitas Antibakteri	28

3.3.2.	Sampel Uji Aktivitas Antibakteri	28
3.3.3.	Populasi Uji Sifat Fisik Sediaan	29
3.3.4.	Sampel Uji Sifat Fisik Sediaan.....	29
3.4.	Instrumen dan Bahan Penelitian.....	29
3.4.1.	Instrumen.....	29
3.4.2.	Bahan Penelitian.....	29
3.5.	Cara Penelitian	30
3.5.1.	Pengumpulan Bahan.....	30
3.5.2.	Determinasi Tanaman.....	30
3.5.3.	Ekstraksi Kulit Buah Kakao	30
3.5.4.	Uji Penetapan Kadar Air	31
3.5.5.	Skrining Fitokimia.....	31
3.5.6.	Penentuan Senyawa Marker	32
3.5.7.	Pembuatan Sediaan Gel Antiseptik Tangan	33
3.5.8.	Uji Mutu Fisik Gel Antiseptik Tangan.....	34
3.5.9.	Peremajaan Bakteri.....	35
3.5.10.	Uji Aktivitas Antibakteri Gel Antiseptik Tangan.....	35
3.6.	Alur Penelitian.....	37
3.7.	Tempat dan Waktu	38
3.8.	Analisis Hasil	38
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		39
4.1.	Hasil Penelitian	39
4.1.1.	Determinasi	39

4.1.2.	Ekstraksi	39
4.1.3.	Uji Kadar Air	40
4.1.4.	Skrining Fitokimia.....	40
4.1.5.	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Kakao.....	41
4.1.6.	Hasil Pembuatan Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Kakao	41
4.1.7.	Hasil Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Kakao	42
4.1.8.	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Kakao	43
4.1.9.	Analisis Hasil	44
4.2.	Pembahasan	49
4.2.1.	Determinasi	49
4.2.2.	Ekstraksi	49
4.2.3.	Skrining Fitokimia.....	52
4.2.4.	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Kakao	53
4.2.5.	Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Kakao.....	53
4.2.6.	Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Kakao	59
BAB V PENUTUP.....		64
5.1.	Kesimpulan.....	64
5.2.	Saran.....	64

DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN.....	70



DAFTAR SINGKATAN

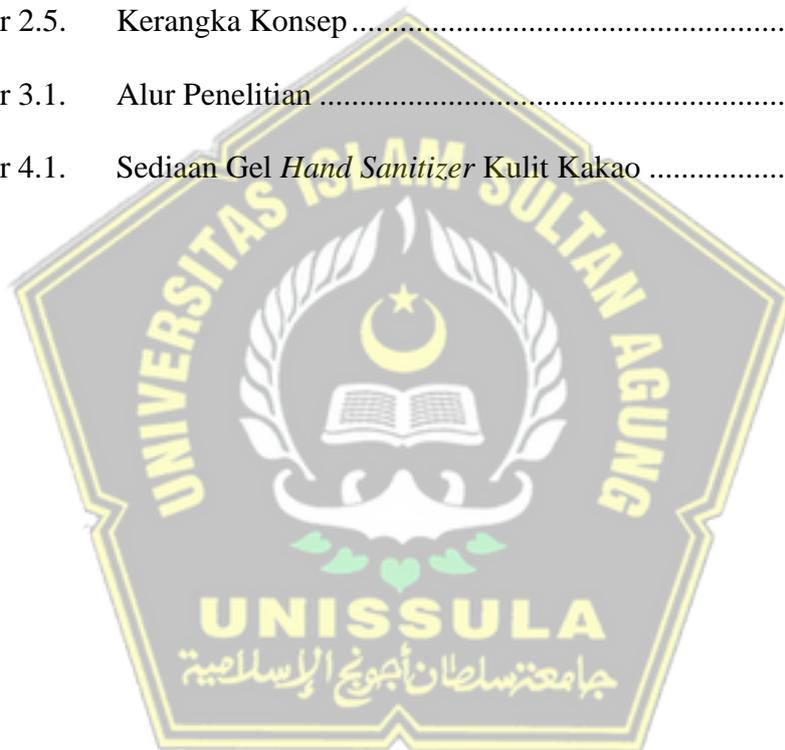
°C	: Derajat Celcius
μl	: Mikroliter
μm	: Mikrometer
AlCl ₃	: Alumunium Klorida
ATCC	: <i>American Type Culture Collection</i>
cm	: Centimeter
cps	: Centipoise
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
gr	: Gram
HCl	: Hidrogen Klorida
KBM	: Konsentrasi Bunuh Minimal
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimal
Mg	: Magnesium
mg	: Miligram
mg/L	: Miligram per Liter
mg/ml	: Miligram per Mililiter
ml	: Mililiter
mm	: Milimeter
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
pH	: <i>Potential Hydrogen</i>

ppm : *Part Per Million*
TEA : Trietanolamin
Uv-vis : *Ultra Violet Visible*



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Kulit Buah Kakao.....	5
Gambar 2.2.	<i>Escherichia coli</i> inkubasi 37°C selama 24 jam	13
Gambar 2.3.	Hubungan Ekstrak Kulit Kakao dengan Bakteri E.coli	23
Gambar 2.4.	Kerangka Teori.....	24
Gambar 2.5.	Kerangka Konsep.....	25
Gambar 3.1.	Alur Penelitian	37
Gambar 4.1.	Sediaan Gel <i>Hand Sanitizer</i> Kulit Kakao	41



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Formula Standar Basis Gel Carbopol.....	21
Tabel 2.2.	Kategori Diameter Zona hambat.....	24
Tabel 3.1.	Formula Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Etanolik Kulit Kakao dengan Basis Carbopol.....	33
Tabel 4.1.	Hasil Daya Hambat Ekstrak Kulit Kakao	41
Tabel 4.2.	Hasil Uji Organoleptis.....	42
Tabel 4.3.	Hasil Uji Homogenitas.....	42
Tabel 4.4.	Hasil Uji pH	43
Tabel 4.5.	Hasil Uji Daya Sebar.....	43
Tabel 4.6.	Hasil Uji Viskositas	43
Tabel 4.7.	Hasil Daya Hambat Gel <i>Hand Sanitizer</i> Kulit Kakao.....	44
Tabel 4.8.	Uji Normalitas Ekstrak Kulit Kakao	44
Tabel 4.9.	Hasil Uji Homogenitas (<i>Levene test</i>)	44
Tabel 4.10.	Hasil Uji Kruskal Wallis	45
Tabel 4.11.	Hasil Uji <i>Mann Whitney</i>	45
Tabel 4.12.	Uji Normalitas Sediaan Gel <i>Hand Sanitizer</i> Kulit Kakao.....	46
Tabel 4.13.	Hasil Uji Homogenitas (<i>Levene test</i>)	46
Tabel 4.14.	Hasil Uji Kruskal Wallis	47
Tabel 4.15.	Uji <i>Mann Whitney</i>	47
Tabel 4.16.	Hasil Uji Normalitas.....	48
Tabel 4.17.	Hasil Uji Homogenitas.....	48

Tabel 4.18.	Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i>	49
Tabel 4.19.	Hasil Uji <i>Mann Whitney</i>	49



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	<i>Ethical Clerance</i>	70
Lampiran 2.	Determinasi Tanaman	71
Lampiran 3.	Perhitungan Hasil Rendemen.....	72
Lampiran 4.	Hasil Uji Kadar Air	72
Lampiran 5.	Hasil Analisis Kualitatif.....	73
Lampiran 6.	Hasil Analisis Kuantitatif.....	73
Lampiran 7.	Hasil Daya Hambat Sediaan Gel dan Ekstrak Kulit Kakao . Error! Bookmark not defined.	
Lampiran 8.	Hasil Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Kulit Kakao	79
Lampiran 9.	Hasil Uji Analisis Data Sediaan Gel Hand <i>Sanitizer</i> Kulit Kakao	82



INTISARI

Indonesia merupakan negara berkembang yang memiliki masalah utama kesehatan seperti diare yang disebabkan oleh patogen *Escherichia coli* yang ditularkan melalui kontak tangan secara langsung. Kulit buah kakao mengandung senyawa tanin, flavonoid dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui sifat fisik dan aktivitas antiseptik ekstrak etanolik kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *Escherichia coli* dalam sediaan gel berbasis Carbopol.

Penelitian ini menggunakan desain *True Experimental* dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* dengan analisis data *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*. Uji sifat fisik sediaan yang dilakukan yaitu uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar dan uji viskositas. Dilakukan uji aktivitas antiseptik dengan melihat daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* pada beberapa kelompok antara lain sediaan gel *hand sanitizer* kulit buah kakao 10%, kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif.

Hasil uji organoleptis dan homogenitas berbentuk gel kental, berwarna coklat, bau khas kulit buah kakao, tidak terdapat butiran halus dengan pH 4,88, memiliki daya sebar 5,8 cm dan uji viskositas 19140 cps. Sediaan gel mempunyai aktivitas antiseptik kategori sedang dengan diameter daya hambat sebesar $\pm 7,53$ mm dan hasil analisis data menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$) pada sediaan gel 10% dengan kontrol positif dan negatif.

Kesimpulan pada penelitian ini adalah sediaan gel *hand sanitizer* kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) memenuhi parameter sifat fisik sediaan gel dan memiliki aktivitas antiseptik terhadap *Escherichia coli*,

Kata kunci: Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*), Gel, Antiseptik, Diare, *Escherichia coli*.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi bakteri seperti diare dapat terjadi akibat aktivitas sehari-hari manusia dan tangan dapat menjadi perantara masuknya bakteri ke dalam tubuh dikarenakan tangan adalah bagian tubuh yang seringkali kontak dengan berbagai hal, seperti memegang gagang pintu yang telah dipegang orang lain maupun setelah menggunakan toilet serta saat bersentuhan dengan orang lain. Hal ini sangat memudahkan tangan terkontaminasi berbagai mikroorganisme seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang menjadi salah satu bakteri patogen utama. Kebersihan tangan merupakan pilar utama untuk mencegah infeksi (Bereket *et al.*, 2012). Saat ini penyakit diare masih menjadi permasalahan kesehatan utama yang sering terjadi pada masyarakat terutama di negara – negara berkembang seperti Indonesia. Survei angka kematian telah dilakukan oleh petugas subdit diare di 69 kecamatan menunjukkan adanya peningkatan angka kesakitan dan angka kematian yang bermakna secara epidemiologis di suatu daerah pada jangka waktu tertentu dan dapat menyebabkan wabah terjadi (Kemenkes RI, 2011).

Bakteri *E.coli* dapat ditularkan dengan cara langsung maupun tidak langsung lewat tangan yang sudah melakukan kontak dengan permukaan yang terkontaminasi, berdasarkan hal ini *personal hand hygiene* atau kebersihan tangan sangat diperlukan. Perilaku mencuci tangan dapat

menurunkan resiko penyakit diare akibat infeksi bakteri patogen *Escherichia coli* sebesar 40% (Adhikari *et al.*, 2020).

Salah satu cara mencegah terkontaminasi bakteri yaitu mencuci tangan atau dengan menggunakan *hand sanitizer* yang lebih praktis. Perilaku cuci tangan adalah salah satu hal yang dapat mempengaruhi kesehatan masyarakat, tetapi tingkat kepatuhan masyarakat dengan melakukan kegiatan *hand hygiene* masih sangat rendah sehingga dapat menggunakan alternatif lain seperti sediaan *hand sanitizer* (Wulansari & Parut, 2019). Gel *Hand sanitizer* umumnya mengandung alkohol, alkohol sendiri memiliki kelemahan jika digunakan dalam jangka panjang seperti iritasi kulit dan membuat kulit terasa kering dan dapat dibuat inovasi gel *hand sanitizer* dari bahan alami dan aman serta tidak membuat kulit kering dan iritasi (Nurwaini & Saputri, 2018).

Salah satu bahan alam seperti kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) memiliki aktivitas antiseptik pada bakteri *Escherichia coli*. Ekstrak kulit buah kakao mempunyai daya hambat pada konsentrasi 10 % dengan hasil diameter zona hambat $14,80 \pm 0,36$ mm. Ekstrak kulit buah kakao memiliki diameter zona hambat kategori sedang karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri antara lain tanin, flavonoid dan saponin. Hingga saat ini kulit buah kakao masih hanya digunakan sebagai pakan ternak dan pupuk, sehingga agar dapat menguranginya sebagai sampah pertanian dapat dibuat dan diaplikasikan dalam bentuk sediaan gel (Situmorang, 2016).

Berdasarkan observasi yang telah dilakukan menggunakan google scholar hingga 11 Agustus 2021 belum ada penelitian mengenai aktivitas antiseptik ekstrak kulit buah kakao terhadap *E. coli* dalam sediaan gel *hand sanitizer* dan perlu dilakukan penelitian uji daya antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) sebagai antiseptik terhadap bakteri *E. coli* dalam bentuk sediaan gel *hand sanitizer*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah: bagaimana sifat fisik dan aktivitas antiseptik ekstrak etanolik kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) dalam sediaan gel *hand sanitizer* terhadap *Escherichia coli*?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui sifat fisik dan aktivitas antiseptik ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) dalam sediaan gel *hand sanitizer* terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Untuk mengetahui beberapa sifat fisik yang sesuai dengan parameter seperti pH, organoleptis, homogenitas, viskositas, dan daya sebar yang sesuai berdasarkan Farmakope Indonesia.

1.3.2.2. Untuk mengetahui diameter zona hambat ekstrak etanolik kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) terhadap *Escherichia coli* dalam sediaan gel *hand sanitizer*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Sebagai dasar ilmiah tentang manfaat ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) dalam sediaan gel *hand sanitizer* dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

1.4.2. Manfaat Praktis

Dapat digunakan untuk meningkatkan pemanfaatan kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) sebagai sediaan gel *hand sanitizer* sebagai antiseptic agar dapat meningkatkan kesehatan masyarakat serta dapat mengurangi limbah kulit buah kakao sebagai sampah pertanian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Tanaman Kakao (*Theobroma kakao L.*)

2.1.1.1. Morfologi dan Taksonomi Kulit Kakao



Gambar 2.1. Kulit Buah Kakao
(Karmawati et al., 2010)

Berdasarkan gambar yang tersaji pada gambar 2.1 kakao (*Theobroma kakao L.*) adalah tanaman yang memiliki habitat asli di hutan tropis, dengan ciri khas banyaknya pepohonan tinggi dan curah hujan tinggi. Tanaman kakao berasal dari Amerika Selatan yaitu Venezuela. Tanaman kakao tumbuh didaerah dengan iklim tropis seperti Indonesia yang dapat dimanfaatkan untuk masyarakat (Karmawati *et al.*, 2010). Bagian yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit kakao. Taksonomi tanaman kakao

menurut *International Institute of Tropical Agriculture* (2018), yaitu:

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotylidoneae
Ordo : Malvales
Famili : Sterculiaceae
Spesies : *Theobroma cacao L.*

Kulit kakao yang tersaji pada gambar 2.1 memiliki permukaan yang kasar, letaknya tidak beraturan dan memiliki tekstur yang tebal tetapi lunak. Daun kakao memiliki bentuk bulat memanjang dengan ujung daun meruncing dan pangkal daun runcing, tangkai daun berbentuk silinder dan bersisik halus. Bunga kakao mempunyai warna putih, ungu atau kemerahan serta memiliki ukuran tangkai bunga 1 – 1,5 cm. Buah kakao memiliki warna yang beragam, memiliki 2 tipe buah apabila sudah matang akan memiliki warna kuning dan ada yang memiliki warna merah atau jingga (Karmawati *et al.*, 2010).

Tanaman kakao (*Theobroma cacao L.*) pada saat sudah berumur 3 tahun tingginya dapat sampai pada 1,8 – 3,0 meter, sedangkan untuk tanaman kakao yang sudah

berumur 12 tahun dapat mencapai 4,5 – 7,0 meter. Tanaman kakao memiliki tinggi yang beragam dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti keadaan tanah, suhu dan cuaca. Batang tanaman kakao merupakan jenis batang berkayu yang berbentuk bulat dengan bagian bawah lebih besar dan ujung semakin mengecil (Karmawati *et al.*, 2010).

2.1.1.2. Kandungan Kimia

Kakao merupakan turunan dari biji kakao yang memiliki kandungan minyak atau lemak 35 – 50 %, pati 15 %, protein 15 %, theobromin 1 – 4 % serta kafein 0,07 – 0,36 %. Kakao juga memiliki manfaat sebagai antioksidan alami karena mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid (Sudibyo, 2012). Kakao memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi yaitu sebanyak 12 - 18 % yang memiliki fungsi sebagai antibakteri. Mekanisme flavonoid yaitu dengan menghambat fungsi membran sel sehingga menyebabkan kerusakan sel bakteri (Ariyanti & Wahyuni, 2019).

Kulit kakao mempunyai aktivitas antibakteri, dikarenakan mempunyai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan tanin. Senyawa metabolit sekunder alkaloid adalah senyawa yang memiliki atom nitrogen serta bersifat basa. Hal tersebut dapat

mengakibatkan koagulasi pada protein sel bakteri, dan akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenolik yang memiliki ikatan glikosida, sehingga dapat berinteraksi dengan protein bakteri sehingga menyebabkan membran sel bakteri mengalami lisis, atau rusaknya sel bakteri (Mulyatni *et al.*, 2012).

2.1.1.3. Manfaat

Dalam bidang medis, kulit buah kakao mempunyai manfaat yang besar dikarenakan mempunyai aktivitas yang efektif. Sehingga dapat menghadapi beberapa jenis spesies bakteri seperti *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguinis*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus* (Mulyatni *et al.*, 2012). Dalam bidang tradisional, kulit kakao dapat digunakan sebagai lulur dan untuk bidang lainnya kulit kakao dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan pengganti pigmen warna.

Kulit kakao memiliki KHM efektif sebesar 10% dan mengandung beberapa senyawa seperti alkaloid, flavonoid dan saponin yang sudah diteliti mempunyai aktivitas antibakteri. Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme mengganggu fungsi membran sitoplasma dan menghancurkan protein sel, sehingga dapat menghambat

tumbuhnya bakteri. Kulit kakao juga mengandung senyawa saponin yang memiliki aktivitas antibakteri, dengan mekanisme menurunkan tegangan permukaan, sehingga menyebabkan peningkatan permeabilitas atau kebocoran sel dapat menyebabkan senyawa intraseluler akan menuju keluar sel (Situmorang, 2016).

(Mulyatni *et al.*, 2012) telah melaksanakan identifikasi senyawa metabolit sekunder terhadap kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dan melakukan uji aktivitasnya sebagai antibakteri. Berdasarkan hasil identifikasi senyawa marker, kulit kakao positif mengandung alkaloid dan flavonoid yang dapat mengakibatkan peristiwa koagulasi protein sel sehingga dapat menghalangi tumbuhnya bakteri. Sedangkan untuk hasil uji aktivitas bakteri menunjukkan bahwa alkaloid dan flavonoid dapat menghalangi tumbuhnya bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* serta *Bacillus subtilis*.

2.1.2. Ekstraksi

2.1.2.1. Definisi

Ekstraksi adalah peristiwa penarikan senyawa tertentu oleh pelarut air maupun pelarut organik yang berasal dari bahan yang sudah dikeringkan. Hasil penyarian atau sari

tersebut kemudian akan dihabiskan pelarutnya menggunakan cara penguapan dengan alat evaporator. Kemudian didapat hasil ekstrak berbentuk kental apabila menggunakan pelarut organik. Apabila menggunakan air sebagai pelarut, pada proses terakhir dapat dilakukan penghabisan total menggunakan kegiatan atau proses liofilisasi dengan alat yang bernama *freeze dryer*. Kegiatan liofilisasi ini menghasilkan hasil yang berbentuk serbuk. Tetapi proses liofilisasi di Indonesia masih jarang dan mempunyai kekurangan yaitu biaya yang sangat mahal serta keterbatasan lembaga riset ilmiah di Indonesia. Oleh karena itu dapat melakukan proses pengentalan menggunakan *waterbath* dengan temperatur $<60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Saifudin, 2014).

Beberapa pelarut yang sering digunakan adalah etanol 70%, metanol serta etanol 96% dapat digunakan mengekstraksi senyawa yang sebelumnya tidak diketahui serta dapat dimanfaatkan untuk proses skrining. Beberapa pelarut yang telah disebutkan mempunyai kemampuan ekstraksi cukup luas agar seluruh senyawa yang ada dapat tersari secara maksimal dengan 3 kali proses maserasi. Apabila mempunyai tujuan lain seperti isolasi senyawa atau hendak memurnikan senyawa lain yang sudah jelas, dapat

menggunakan beberapa pelarut lainnya seperti aseton, heksana, etil asetat serta butanol (Saifudin, 2014).

Kegiatan atau proses ekstraksi biasanya dapat dilakukan dengan cara merendam bahan yang ingin digunakan atau sering disebut dengan maserasi, dikarenakan maserasi adalah salah satu cara yang paling mudah untuk dilakukan, dapat menghasilkan angka rendemen yang tinggi. Kegiatan ini dapat dilakukan bersamaan dengan digesti / refluks dengan kurun waktu 1-2 jam menggunakan temperatur 40-60 °C agar hasil penyarian maksimal (Saifudin, 2014).

Pada zaman dahulu masyarakat memiliki cara ekstraksi tradisional yang sudah dilakukan secara empiris dengan cara melakukan proses perebusan menggunakan pelarut air atau disebut mendekoktasi. Untuk saat ini apabila hendak melakukan proses skrining senyawa dapat melakukan kegiatan ekstraksi, dapat menggunakan 3 pelarut yang mempunyai kemampuan ekstraksi paling baik hampir semua senyawa terlarut sempurna dengan 3 pelarut tersebut yaitu etanol 70%, metanol serta etanol 96% (Saifudin, 2014).

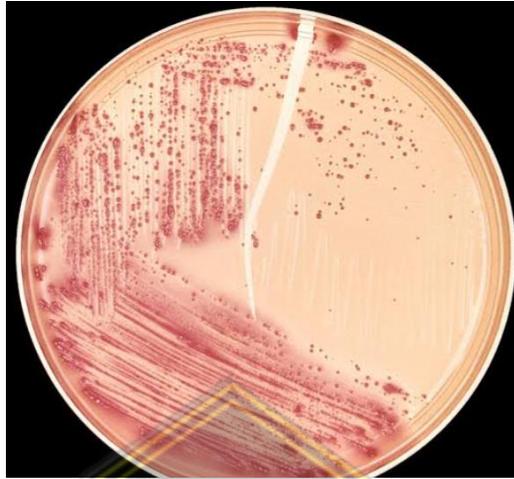
Pada kegiatan ekstraksi memiliki dua proses dasar yaitu disolusi serta difusi. Disolusi adalah kegiatan atau

proses perendaman senyawa yang akan digunakan oleh pelarut. Sedangkan difusi adalah kegiatan tertariknya senyawa yang terkandung oleh pelarut ke luar sel (Saifudin, 2014).

2.1.2.2. Metode Ekstraksi

Maserasi (perendaman dalam pelarut) merupakan proses pemisahan senyawa dengan cara merendam sampel dengan pelarut yang telah ditentukan dan dilakukan pengadukan secara berkala. Maserasi memiliki beberapa keuntungan yaitu mudah dilakukan dan tergolong murah (Ilyas, 2013). Maserasi adalah salah satu proses ekstraksi yang tergolong sederhana. Bahan kering yang telah dihaluskan kemudian dicampur dengan pelarut yang sudah dipilih. Kemudian hasil perendaman disimpan pada tempat yang terhindar dari cahaya serta dilakukan pengadukan secara rutin. Maserasi umumnya membutuhkan waktu selama 5 hari. Dalam kurun waktu tersebut dapat tercapainya keseimbangan terhadap bahan yang diekstraksi pada bagian sel dengan yang masuk dalam cairan, agar senyawa yang ditarik dapat dihasilkan secara maksimal. Tahap pengadukan dilakukan supaya konsentrasi bahan lebih cepat seimbang pada cairan (Pratiwi, 2010).

2.1.3. *Escherichia coli*



Gambar 2.2. *Escherichia coli* inkubasi 37°C selama 24 jam

2.1.3.1. Morfologi dan Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut Jawetz

(2007):

Domain : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli yang tersaji pada gambar 2.2 merupakan bagian dari *Escherichia* yang masuk pada famili Enterobacteriaceae. *Escherichia coli* adalah bakteri yang hidup sebagai flora normal yang dapat ditemukan pada usus

besar manusia. Memiliki sifat yang unik dikarenakan dapat mengakibatkan kontaminasi utama pada usus seperti diare pada anak dan *travelers diarrhea*, seperti juga kemampuannya yang dapat mengakibatkan kontaminasi pada bagian tubuh lainnya. Genus *Escherichia* terdiri dari dua spesies adalah : *Escherichia coli* serta *Escherichia hermannii* (Anonim, 2010).

Morfologi dari *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang mempunyai bentuk batang memiliki ukuran sekitar 1,0-1,5 μm x 2,0-6,0 μm , tidak motil atau motil dengan flagela, bakteri ini mempunyai sifat anaerob yang berarti dapat tumbuh tanpa bantuan oksigen serta dapat tahan pada media yang hampir tidak terdapat nutrisi (Rahayu *et al.*, 2018). Fisiologi dari *Escherichia coli* yaitu dapat tumbuh baik pada hampir semua media yang biasanya dimanfaatkan untuk proses isolasi kuman enterik, strain *Escherichia coli* Sebagian besar dapat tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. Bakteri *Escherichia coli* bersifat mikroaerofilik (Anonim, 2010).

Escherichia coli bisa bertahan hidup dengan level keasaman yang tinggi di dalam tubuh manusia. *E.coli* juga bisa bertahan hidup pada bagian luar tubuh manusia yang penyebarannya lewat feses. *Escherichia coli* mempunyai

waktu generasi berkisar antara 30-87 menit bergantung pada suhu. Waktu generasi adalah waktu yang dibutuhkan bagi sel *Escherichia coli* untuk membelah diri menjadi dua kali lipat. *Escherichia coli* mempunyai suhu optimal untuk membantu agar bakteri dapat tumbuh secara maksimal yaitu 37 °C memiliki waktu generasi terpendek selama 30 menit (Rahayu *et al.*, 2018).

2.1.3.2. Patogenesis

Escherichia coli pada umumnya menyebabkan beberapa penyakit saluran pencernaan yang dapat menyebabkan beberapa infeksi seperti infeksi saluran kemih, diare serta meningitis neonatal. Pada jenis bakteri *diarrheagenic E.coli* ini dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan yang seringkali dihubungkan dengan pangan. Sedangkan pada infeksi saluran kemih dapat diakibatkan oleh kelompok bakteri *uropathogenic Escherichia coli* serta pada meningitis diakibatkan oleh kelompok neonatal meningitis *Escherichia coli*. Kedua jenis kelompok bakteri tersebut masuk pada kategori infeksi di luar bagian pencernaan (Rahayu *et al.*, 2018).

Enterotoxigenic Escherichia coli dapat mengakibatkan *Secretory Diarrhea* semacam kolera. Kelompok bakteri ini dapat mengeluarkan racun. Faktor-

faktor permukaan untuk perlekatan sel kuman pada mukosa usus penting di dalam patogenesis diare. Karena sel kuman harus melekat dulu pada sel epitel mukosa usus sebelum kuman mengeluarkan racun (Anonim, 2010).

Enterotoxigenic E.coli dapat menular lewat jalan feses – oral. Proses menularnya bakteri ini terhadap bayi dapat disebabkan oleh pangan ataupun air yang telah terkontaminasi bakteri ini dengan konsentrasi yang cukup besar. Bakteri ini seringkali menginfeksi diakibatkan oleh konsumsi air yang sudah terkontaminasi maupun bahan pangan seperti kecambah, kol, ketumbar dan lainnya (Rahayu *et al.*, 2018).

Kuman yang menginvasi sel mukosa, kemudian akan menyebabkan rusaknya sel dan lepasnya bagian mukosa. Infeksi diare yang diakibatkan oleh bakteri *Enteroinvasive E.coli* memiliki tanda khusus pada saat terinfeksi seperti BAB yang terdapat darah, pus ataupun pus. Infeksi lain seperti Kolitis hemoragik diakibatkan karena *E.coli* serotipe O157: H7, dengan tanda pada saat BAB terdapat banyak darah (Anonim, 2010). Infeksi lain yang diakibatkan oleh *E. coli* adalah:

1. Infeksi saluran kemih mulai dari sistitis sampai pielonefritis, *E.coli* adalah pencetus lebih dari 85% kasus.
2. Pneumonia; di rumah sakit, *E.coli* mengakibatkan kurang lebih 50% dari *Primary Nosocomial Pneumonia*.
3. Infeksi meningitis pada neonatus.
4. Luka abdomen.

(Anonim, 2010).

2.2. Metode Uji Aktivitas Antiseptik

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri baik gram negatif maupun positif dapat diatasi menggunakan antibiotika baik yang memiliki sifat bakterisid ataupun bakteriostatik. Guna menyelesaikan kasus penyakit dengan benar dibutuhkan data kepekaan bakteri yang menyebabkan infeksi tersebut. Pengujian aktivitas antibakteri ini dapat dikerjakan menggunakan dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Yusmaniar *et al.*, 2017).

Metode difusi mempunyai prinsip yaitu terdifusinya senyawa antimikroba ke dalam media padat yang sudah diinokulasi dengan bakteri. Metode ini dapat dilaksanakan dengan 2 metode yaitu cakram dan sumuran. Untuk metode difusi cakram, bahan yang digunakan yaitu kertas cakram dengan kandungan antibiotik diletakkan di atas media yang sudah memiliki kandungan mikroba, lalu dapat diinkubasi dan kemudian hasilnya dapat dibaca berdasarkan kemampuan penghambatan mikroba di sekitar kertas cakram (Yusmaniar *et al.*, 2017).

Pada metode selanjutnya yaitu difusi sumuran dapat dilaksanakan dengan membuat lubang sumuran pada diameter tertentu dalam media agar yang telah mengandung bakteri. Kemudian sampel diletakkan ke dalam lubang dan dilakukan inkubasi. Setelah inkubasi selesai akan terdapat zona bening yang sudah terbentuk di sekitar sumuran yang dapat dijadikan sebagai pananda adanya hambatan terhadap tumbuhnya mikroba (Yusmaniar *et al.*, 2017).

Metode pengujian aktivitas antibakteri berikutnya adalah teknik dilusi. Teknik dilusi mempunyai dua jenis yaitu dilusi cair serta dilusi padat. Untuk metode dilusi cair biasanya dimanfaatkan guna mengetahui kadar hambat minimum (KHM) serta kadar bunuh minimum (KBM). Metode yang dilaksanakan yaitu dengan melakukan pengenceran agen antimikroba terhadap agen medium cair yang sebelumnya sudah ditambahkan dengan agen mikroba uji. Untuk hasil yang didapat yaitu larutan uji yang dilihat berwarna bening tidak ada pertumbuhan mikroba dapat dijadikan sebagai KHM. Larutan KHM yang sudah dihasilkan dapat dikultur Kembali pada media cair tanpa penambahan mikroba uji maupun agen antimikroba serta diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat bening dapat dijadikan KBM. Untuk Teknik dilusi padat hampir sama dengan Teknik dilusi cair, tetapi media yang dipakai yaitu media padat (Yusmaniar *et al.*, 2017).

2.3. Sediaan Gel Antiseptik Tangan

Gel adalah sediaan setengah padat yang terdiri atas dispersi partikel anorganik kecil ataupun molekul organik besar, terpenetrasi oleh suatu cairan. Jika masa gel tersusun dari jaringan partikel kecil yang tidak menyatu, ditetapkan sebagai sistem dua fase (gel alumunium hidroksida). Dalam sediaan berbentuk gel memiliki sistem dua fase, apabila ukuran partikel dari terdispersi relatif besar disebut magma. Pemilihan sediaan gel karena sediaan gel mempunyai beberapa kelebihan seperti mudah diratakan pada permukaan kulit, hasil sediaan jernih dan dapat membuat kulit menjadi lebih lembab (Murtini, 2016).

Antiseptik mengandung zat kimia yang dapat dimanfaatkan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba yang dapat digunakan pada permukaan kulit yaitu salah satu bagian tubuh manusia yang sering kali terpapar bakteri. Sedangkan desinfektan adalah zat kimia yang dimanfaatkan untuk membunuh atau menghambat mikroorganisme pada objek tidak hidup atau benda mati. Untuk antibiotik dimanfaatkan untuk membunuh atau menghambat mikroorganisme yang ada di dalam tubuh dan yang digunakan pada penelitian ini merupakan gel antiseptik (Dewi, 2016).

Antiseptik tangan (*hand sanitizer*) adalah cairan pembersih untuk tangan yang memiliki dua bahan dasar, yaitu berbahan dasar air atau alkohol. Diformulasikan dalam beberapa variasi dan bentuk seperti sabun antimikroba dan gel antiseptik yang digunakan secara luas. Hingga saat ini gel antiseptik tangan yang efektif adalah formulasi yang mengandung

alkohol 62-95%, yang diharapkan dapat mengubah sel protein mikroba dan mempunyai kemampuan untuk membunuh mikroba (Lee *et al.*, 2020).

Handsanitizer umumnya dibagi menjadi dua jenis yaitu yang mempunyai kandungan alkohol serta tidak memiliki kandungan alkohol. *Handsanitizer* dengan kandungan alkohol lebih efektif digunakan karena dapat menghancurkan mikroba dengan cepat yang mencakup spektrum kuman secara luas tetapi dapat mengakibatkan iritasi dan kulit kering jika digunakan secara terus menerus (Lee *et al.*, 2020). Menurut US FDA (*Food and Drug Administration*), *handsanitizer* sering dimanfaatkan karena mempunyai cara pakai yang praktis, mudah dibawa dan dapat cepat dipakai tanpa memerlukan air terlebih dahulu. Gel antiseptik tangan biasanya digunakan ketika dalam keadaan di mana tidak dapat menemukan air dan dapat membunuh kuman pada kurun waktu kurang lebih 30 detik (FDA, 2014).

Selain *handsanitizer* dengan kandungan alkohol yang efektif membunuh kuman, terdapat *handsanitizer* tanpa kandungan alkohol tetapi mengandung triklosan, iodin, benzalkonium klorida dan kloroksilenol. Keempat kandungan tersebut juga memiliki aktivitas yang baik dan efektif dalam membunuh bakteri dan kuman yang ada pada kulit. Pada formulasi *handsanitizer* banyak yang mengandung humektan seperti gliserin, yang ditujukan untuk mengurangi terjadinya kulit kering terkait penggunaan antiseptik berbasis alkohol, sehingga dapat membantu menjaga kelembapan kulit (Lee *et al.*, 2020).

2.4. Formulasi Gel *Hand Sanitizer*

Zat kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik, sedangkan untuk zat kimia yang dapat membunuh tumbuhnya bakteri disebut bakterisidal. Kandungan yang efektif seperti alkohol berperan sebagai pendenaturasi protein dengan jalan dehidrasi dan juga pelarut lemak. Oleh sebab itu membran sel akan rusak dan enzim akan diinaktifkan oleh alkohol. Alkohol pada konsentrasi yang tinggi yaitu 50-70% juga dapat berperan sebagai pengkoagulasi protein dalam mencegah adanya aktivitas mikroba, denaturasi dan koagulasi protein dapat merusak enzim agar mikroba tidak dapat mencukupi keperluan hidupnya dan mengakibatkan berhentinya aktivitas mikroba (Anonim, 2010).

Formula standar basis gel Carbopol menurut Hidayanti *et al* 2015 tersaji pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Formula Standar Basis Gel Carbopol

Komponen	%
Carbopol	0,5
TEA	1
Metil Paraben	0,2
Propilenglikol	15
Air ad	100 ml

Berdasarkan tabel yang tersaji pada tabel 2.1 basis Carbopol dapat dimanfaatkan guna peningkat viskositas pada konsentrasi rendah dalam sediaan topikal seperti gel. Pada sediaan gel Carbopol dimanfaatkan untuk gelling agen dengan rentang konsentrasi 0,5% - 2% semakin banyak konsentrasi yang digunakan maka viskositas gel meningkat. Penggunaan TEA pada formula diatas berfungsi sebagai alkalizing agent atau penetral pH

dari carbopol. Penggunaan metil paraben sebagai agen antimikroba dengan rentang konsentrasi 0,02% - 0,3% (Hidayanti *et al.*, 2015). Propilenglikol dimanfaatkan sebagai humektan dengan rentang konsentrasi 15% agar dapat mempertahankan sifat kandungan air dalam sediaan sehingga sifat fisik dan stabilitas sediaan dapat dipertahankan selama masa simpan (Manus *et al.*, 2016).

2.5. Uji Sifat Fisik Sediaan

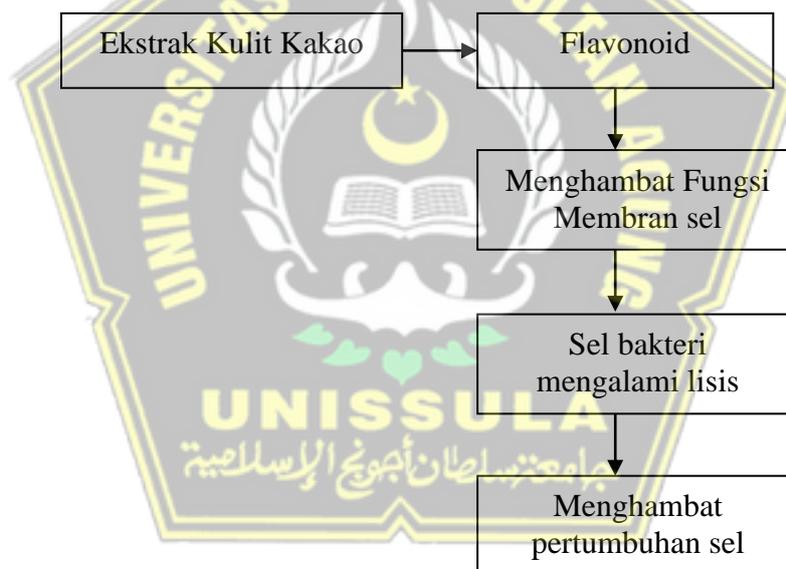
Uji sifat fisik sediaan dilaksanakan dengan tujuan guna mengetahui apakah sediaan yang telah dibuat memenuhi persyaratan berdasarkan parameter atau tidak. Terdapat beberapa uji sifat fisik sediaan seperti homogenitas, pH, organoleptis, daya sebar, viskositas, dan lainnya. Uji organoleptis dan homogenitas dilaksanakan dengan melihat warna, bau dan bentuk dari sediaan, sedangkan untuk uji homogenitas dilakukan dengan melihat sediaan tersebut mengandung bulir atau partikel-partikel kecil atau tidak (Nailufa, 2020).

Uji sifat fisik sediaan selanjutnya yaitu uji pH dapat dilakukan dengan memakai stik pH universal kemudian dibandingkan dengan standar warna atau menggunakan pH meter. Hal ini biasanya dilakukan pada sediaan topikal untuk menyesuaikan dengan pH kulit manusia. Kemudian untuk uji daya sebar memiliki tujuan guna mengetahui apakah sediaan dapat menyebar secara rata dengan baik pada kulit (Nailufa, 2020). Contoh lain uji sifat fisik yaitu uji viskositas atau kekentalan, pengukuran ini dilakukan

dengan memakai alat viskometer Brookfield dengan berbagai macam spindle tertentu (Nailufa, 2020).

2.6. Hubungan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Kakao dalam Sediaan Gel Antiseptik Tangan dan Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan gambar yang tersaji pada gambar 2.3 ekstrak etanolik kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam sediaan gel antiseptik mengandung senyawa flavonoid yang bisa merusak membran sel bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 2.3. Hubungan Ekstrak Kulit Kakao dengan Bakteri E.coli

2.7. Kategori Diameter Zona hambat

Secara umum pengukuran diameter zona hambat dapat dilaksanakan dengan 2 teknik yaitu teknik difusi dan teknik dilusi. Hal ini dilaksanakan guna mengetahui seberapa besar dan kuat kemampuan ekstrak dengan beberapa konsentrasi yang telah dibuat. Hasil yang didapatkan dari

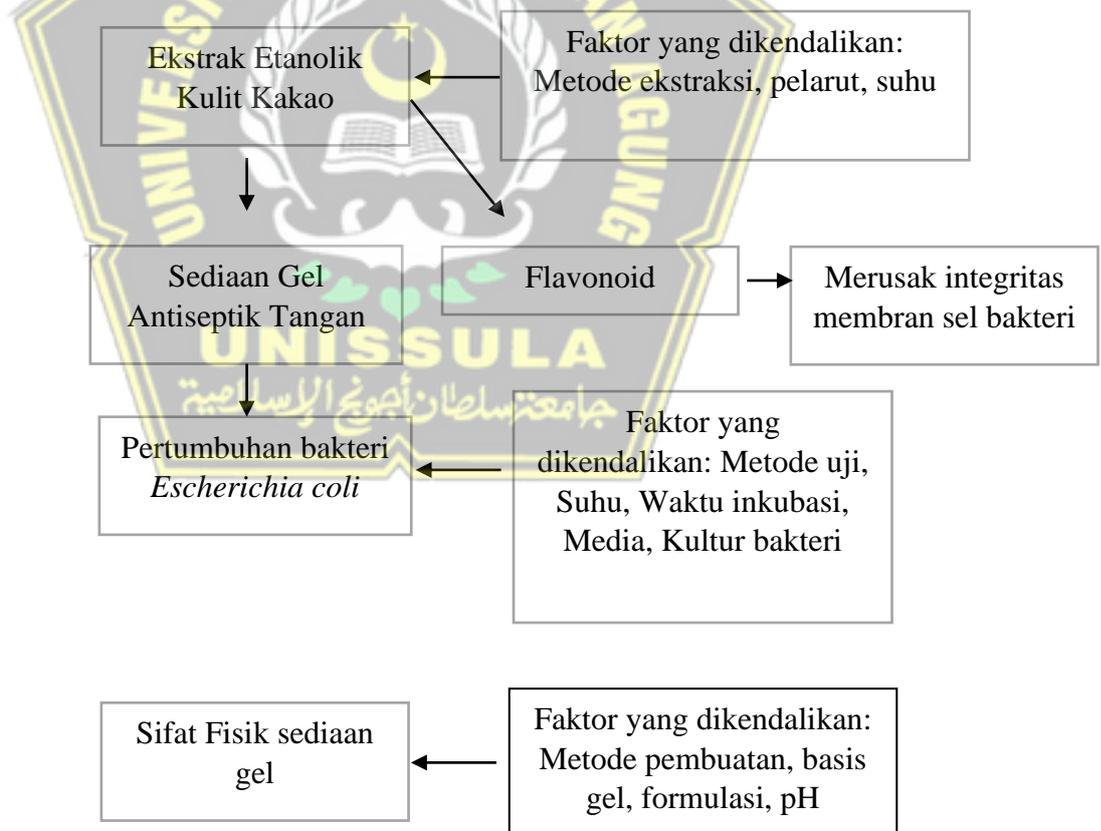
pengukuran zona hambat disebut sebagai diameter daya hambat yang diukur dengan memakai jangka sorong (mm), semakin besar konsentrasi maka akan semakin luas diameter daya hambat yang dihasilkan. Dibawah ini terdapat tabel kategori kekuatan daya hambat berdasarkan diameter yang tersaji pada tabel 2.2 berikut.

Tabel 2.2. Kategori Diameter Zona hambat

Diameter	Kekuatan Daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat Kuat

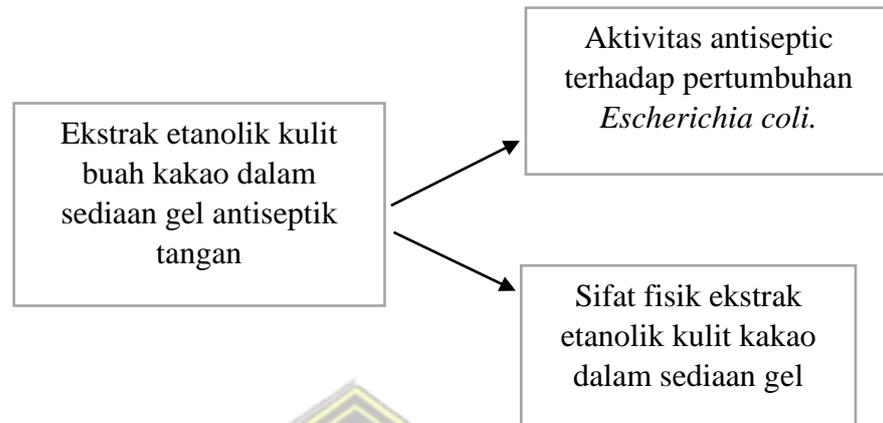
(Surjowardojo *et al.*, 2015)

2.8. Kerangka Teori



Gambar 2.4. Kerangka Teori

2.9. Kerangka Konsep



Gambar 2.5. Kerangka Konsep

2.10. Hipotesis

Menurut landasan teori yang sudah disebutkan, dapat ditemukan suatu hipotesis bahwa ekstrak etanolik kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) dalam sediaan gel *handsanitizer* memiliki sifat fisik sediaan gel yang memenuhi persyaratan sesuai dengan parameter dan memiliki aktivitas antiseptik terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true eksperimental* dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Penelitian ini mempunyai tujuan guna mengetahui aktivitas yang timbul dikarenakan adanya intervensi tertentu terhadap satu atau beberapa kelompok eksperimen secara acak, yang kemudian hasil dari intervensi kelompok tersebut dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi perlakuan (kelompok kontrol).

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel bebas

Ekstrak etanolik kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) yang diformulasikan dalam sediaan gel antiseptik tangan.

3.2.1.2. Variabel terikat

Sifat fisik sediaan gel dan zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

3.2.1.3. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol dari penelitian ini yaitu metode ekstraksi, pelarut, formula, pembuatan sediaan, metode uji bakteri dan waktu inkubasi.

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Sifat Fisik Sediaan Gel *Hand Sanitizer*

Sifat fisik sediaan gel *hand sanitizer* dapat ditentukan dengan melaksanakan beberapa uji sifat fisik, seperti uji organoleptis, uji pH, uji homogenitas, uji daya sebar dan uji viskositas. Hasil dari uji sifat fisik tersebut kemudian disesuaikan dengan parameter menurut Farmakope Indonesia Edisi VI. Skala pengukuran ini menggunakan skala rasio untuk pH, viskositas dan daya sebar, untuk organoleptis dan homogenitas menggunakan skala nominal.

3.2.2.2. Ekstrak Etanolik Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam Sediaan Gel Antiseptik Tangan

Ekstrak etanolik kulit kakao yang dipakai pada penelitian ini berasal dari Temu Gesang, Grabag Kabupaten Magelang, diambil dalam 1 pohon dengan ketinggian sekitar 2 meter. Pembuatan ekstrak etanolik kulit kakao menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak dibuat dalam sediaan gel dengan formula tersebut, kemudian dilakukan uji daya hambat dan uji sifat fisik

menggunakan konsentrasi sediaan dalam satuan mg/mL.

Skala pengukuran ini menggunakan skala rasio.

3.2.2.3. Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Zona hambat pertumbuhan bakteri menunjukkan seberapa kuat aktivitas antiseptik dari sediaan gel antiseptik tangan ekstrak kulit buah kakao yang digunakan, dilihat dari sekeliling lubang pada media dan dihitung setelah diinkubasi selama 24 jam. Menggunakan metode difusi sumuran dengan media NA (*Nutrient Agar*). Daya hambat antibakteri sediaan gel antiseptik tangan dapat diamati dengan mengukur diameter daya hambatan pertumbuhan bakteri *E.coli* menggunakan jangka sorong dengan satuan mm. Skala pengukuran ini menggunakan skala rasio.

3.3. Populasi dan Sampel Uji Aktivitas Antiseptik

3.3.1. Populasi Uji Aktivitas Antiseptik

Populasi pada uji aktivitas antiseptik yaitu bakteri *Escherichia coli* yang terdapat dalam Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.3.2. Sampel Uji Aktivitas Antiseptik

Sampel pada uji aktivitas antiseptik adalah bakteri *Escherichia coli* sebanyak 1 jarum ose yang ada di Laboratorium Mikrobiologi FK Unissula

3.3.3. Populasi Uji Sifat Fisik Sediaan

Populasi pada uji sifat fisik sediaan adalah sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak kulit buah kakao yang telah dibuat di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.3.4. Sampel Uji Sifat Fisik Sediaan

Sampel pada uji sifat fisik adalah sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi 10% Replikasi 1, 10% Replikasi 2 dan 10% Replikasi 3 yang diambil dari Kabupaten Magelang Perkebunan Temu Gesang.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen

Instrumen yang digunakan yaitu timbangan analitik (*Mettler Toledo ME204E* dengan ketelitian 0,001 g), *rotary evaporator*, *waterbath*, jarum ose, bunsen burner, autoklaf, *Laminar Air Flow (LAF) cabinet*, inkubator, jangka sorong (*Vernier Caliper* dengan ketelitian 0,1 mm), spektrofotometer Uv-vis (*Agilent Carry 60*), Moisture Balance (*Shimadzu MOC63u*), pH meter (*Mettler Toledo*), alat-alat gelas (pyrex), yang digunakan dalam Laboratorium FK Unissula.

3.4.2. Bahan Penelitian

Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) yang didapat dari Kabupaten Magelang, etanol 96%, (teknis) Bakteri *Escherichia coli*

ATCC 25922I yang terdapat di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Unissula, Media NA (Nutrient Agar), akuades (teknis), carbopol (teknis), TEA (teknis), metil paraben (teknis), propilenglikol (teknis), serbuk Mg 98,5% (*Merck*), Hcl 37% (*Merck*). AlCl₃ 98% (*SAP Chemicals*), Kuersetin 95% (*Sigma Aldrich*), *hand sanitizer* Nuvo.

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pengumpulan Bahan

Kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) yang didapat dari Kabupaten Magelang dicuci bersih menggunakan air mengalir, lalu dikeringkan di bawah cahaya matahari. Kulit buah kakao yang sudah kering diserbuk menggunakan blender.

3.5.2. Determinasi Tanaman

Determinasi dilaksanakan guna memperoleh kepastian bahwa yang dipakai pada penelitian berasal dari tanaman yang sesuai. Determinasi dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologis tanaman buah kakao (*Theobroma kakao L.*) kepustakaan yakni buku Flora yang dilakukan di FMIPA Universitas Negeri Semarang.

3.5.3. Ekstraksi Kulit Buah Kakao

Kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) dibuat ekstrak dengan cara ekstraksi menggunakan metode maserasi, yakni serbuk simplisia kulit kakao sebanyak 500 gr dimasukkan dalam bejana dan

direndam menggunakan etanol 96% (perbandingan bahan dengan pelarut 1:10). Campuran ini lalu diaduk agar tercampur merata dan didiamkan selama 3 hari sambil diaduk sesekali. Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring kasar Whatman No.1, lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental (Pratyaksa *et al.*, 2020).

3.5.4. Uji Penetapan Kadar Air

Uji penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Sebanyak 3 gr ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) diletakkan pada cawan, masukkan ke dalam alat dan tutup *moisture balance*, lalu tunggu hingga 3-5 menit hingga layar menampilkan kadar air ekstrak kulit buah kakao (Jolly & Hadlow, 2012).

3.5.5. Skrining Fitokimia

3.5.5.1. Identifikasi Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 gr ekstrak ditambahkan dengan HCl pekat serta serbuk Mg dalam tabung reaksi, kemudian dikocok dengan kencang dan didiamkan. Apabila terdapat kandungan flavonoid maka akan terbentuk warna coklat, merah atau merah magenta (Situmorang, 2016).

3.5.6. Penentuan Senyawa Marker

3.5.6.1. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Bubuk kuersetin 100 mg ditimbang dan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas. Kemudian dibuat deret baku 50,60,70,80 dan 90 ppm. Pada deret baku 50,60,70,80 dan 90 ppm, larutan kuersetin konsentrasi 1000 ppm diambil sebanyak 0,5 ml, 0,6 ml, 0,7 ml, 0,8 ml dan 0,9 ml kemudian ditambahkan etanol sampai 10 ml. Masing-masing 0,5 ml larutan standar diambil dan ditambahkan dengan 3 ml etanol, 0,2 ml alumunium klorida (AlCl_3) 10% dan ditambahkan akuades 5,6 ml. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

3.5.6.2. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Ekstrak etanolik kulit buah kakao ditimbang 5 gr kemudian ditambahkan dengan 25 ml methanol dan diaduk menggunakan alat pengaduk, kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan methanol sampai 25 ml. Untuk larutan blangko dibuat dengan mengganti kuersetin dengan etanol 1 ml ditambahkan dengan 3 ml etanol, 0,2 ml alumunium klorida (AlCl_3) 10% dan ditambahkan akuades 5,6 ml. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C . Larutan uji yang berisi 1 ml

ekstrak diambil serta ditambahkan etanol 10 ml dalam labu ukur 10 ml. Kemudian pipet sebanyak 0,5 ml dan tambahkan dengan 1,5 ml etanol, 0,1 ml aluminium klorida ($AlCl_3$) 10% dan ditambahkan akuades 2,8 ml akuades. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada temperatur 25°C dengan spektrofotometer Uv-Vis (Azizah *et al.*, 2014).

3.5.7. Pembuatan Sediaan Gel Antiseptik Tangan

Tabel 3.1. Formula Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Etanolik Kulit Kakao dengan Basis Carbopol

Bahan	Formula	Basis	Sediaan Perbandingan
Ekstrak Kulit Kakao	10%	-	
Carbopol	0,5%	0,5%	Sediaan di pasaran
TEA	1%	1%	Yang mengandung
Metil paraben	0,2%	0,2%	Alkohol 60% (Nuvo)
Propilenglikol	15 %	15 %	
Air ad	100 ml	100 ml	

(Hidayanti *et al.*, 2015).

Cara pembuatan sediaan gel antiseptik semua bahan yang tersaji pada tabel 3.1 ditimbang terlebih dahulu ekstrak yang paling efektif. Timbang Carbopol sebanyak 0,5% gr ditambahkan ke dalam akuades yang telah dididihkan, kemudian aduk secara cepat dalam mortir hingga terbentuk masa gel dan ditambahkan dengan metilparaben sebanyak 0,2% kemudian ditambahkan propilenglikol 15% sebagai humektan dan TEA 1% sebagai penetral pH. Timbang ekstrak kulit buah kakao yang paling efektif dilarutkan ke dalam akuades secukupnya dan diaduk hingga larut. Ekstrak kulit buah kakao yang sudah larut dimasukkan ke dalam mortir, diaduk hingga homogen. Sisa akuades yang digunakan dimasukkan ke dalam mortir

hingga bobot gel menjadi 100 ml dengan cara digerus dan diaduk hingga terbentuk gel *hand sanitizer* (Nailufa, 2020).

3.5.8. Uji Sifat Fisik Gel Antiseptik Tangan

3.5.8.1. Organoleptis dan Uji Homogenitas

Uji organoleptis antara lain dilaksanakan dengan cara mengamati warna, bentuk, bau (dengan diangin-anginkan terlebih dahulu) secara visual atau fisik. Uji homogenitas mempunyai tujuan guna mengetahui sediaan gel yang telah dibuat homogen atau tidak homogen, pengujian dilakukan dengan cara sebanyak 10 gram sediaan gel diletakkan pada sekeping kaca objek glass, sediaan yang tidak terdapat partikel kecil atau butiran kasar menunjukkan sediaan homogen (Nailufa, 2020).

3.5.8.2. Uji pH

Uji pH dilaksanakan dengan menggunakan alat pH meter, dengan cara elektroda dimasukkan kedalam formula yang telah dibuat dan hasil dapat dilihat pada layar pH meter. Nilai pH yang bagus memiliki rentang 4,5 – 6,5 (Madiha, 2021).

3.5.8.3. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan menyebar pada kulit. Dilakukan dengan menimbang sediaan sebanyak 1 gr, lalu diletakkan

di atas pelat kaca, kemudian ditambah dengan beban 25 gram dan diamkan selama 1 menit, lalu ukur diameter sebarannya. Daya sebar yang baik memiliki nilai 5-7 cm (Nailufa, 2020).

3.5.8.4. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan alat viskometer Brookfield dan menggunakan spindel No. 63, menggunakan 100 ml sediaan dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian spindel yang telah dipasang diturunkan sehingga batas spindel tercelup ke dalam sediaan. Viskositas yang baik memiliki nilai 3000 – 50000 cps (Madiha, 2021).

3.5.9. Peremajaan Bakteri

Peremajaan dilakukan dengan menggunakan bakteri *Escherichia coli* sebanyak satu ose diinokulasikan ke dalam medium NA (Nutrient Agar) secara aseptis dengan meletakkan jarum ose yang mengandung biakan pada dasar kemiringan agar dapat ditarik dengan gerakan zig-zag. Kemudian bakteri diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam.

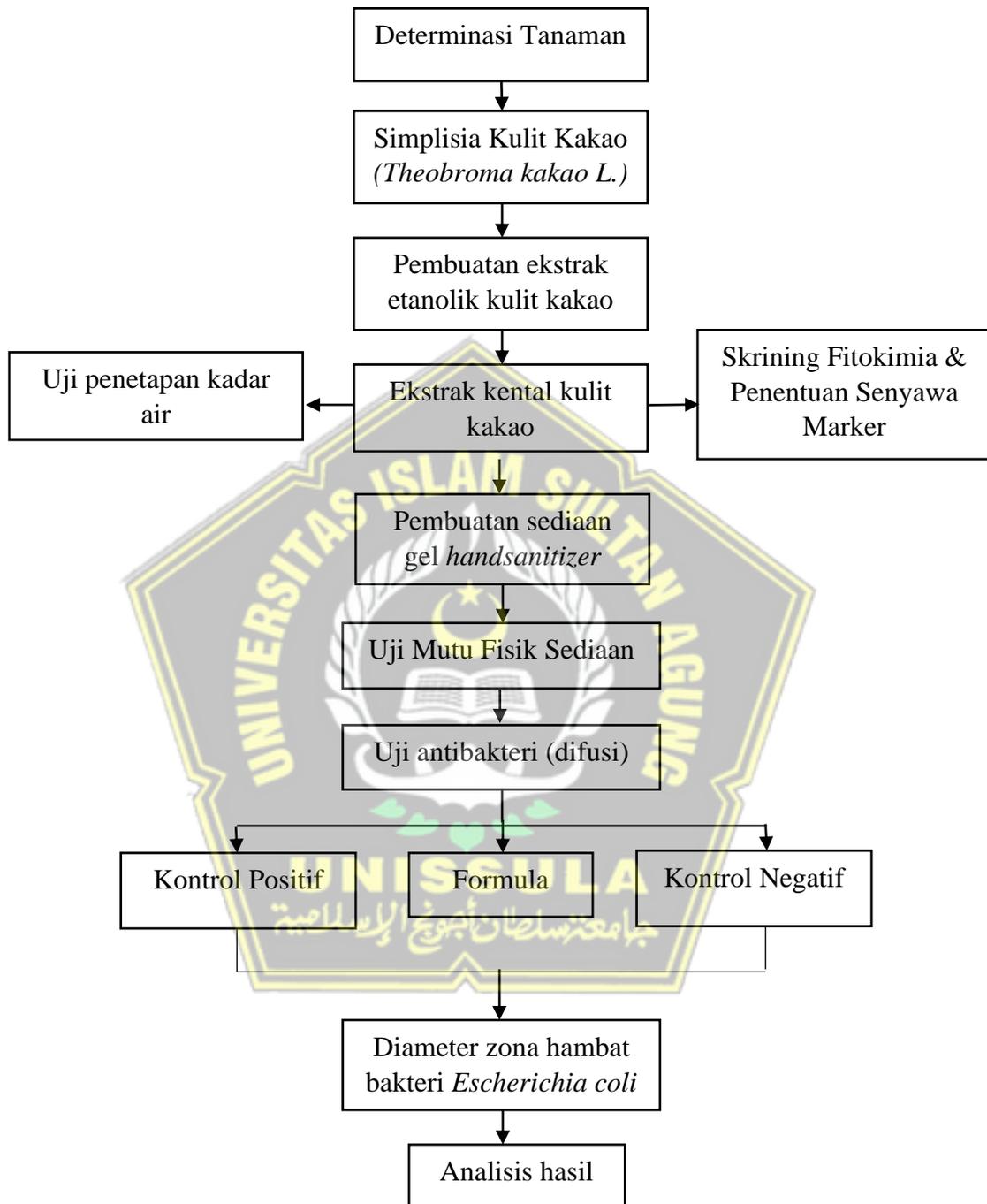
3.5.10. Uji Aktivitas Antiseptik Gel Antiseptik Tangan

Aktivitas ekstrak etanolik kulit kakao dalam sediaan gel antiseptik tangan dapat diketahui dengan melakukan pengujian daya hambat bakteri menggunakan metode difusi sumuran, dengan

konsentrasi ekstrak 5 %, 7,5%, 10% yang telah dilarutkan DMSO 10% kemudian dengan sediaan gel dengan konsentrasi yang paling efektif. Pada media NA (*nutrient agar*) yang telah diinokulasikan dengan bakteri *E.coli* baik untuk formula, kontrol negatif (basis gel) dan kontrol positif (Nuvo yang mengandung alkohol), ke dalam sumuran yang dibuat tersebut masing-masing diisi 30-50 µl. Media diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan diukur diameter zona hambatnya menggunakan jangka sorong (Situmorang, 2016).



3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2021 – Maret 2022 di laboratorium IBL Prodi Farmasi, laboratorium kimia dan laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.8. Analisis Hasil

Data yang telah diperoleh dari hasil pengamatan yaitu sifat fisik secara deskriptif sesuai standar Farmakope Indonesia Edisi VI dan aktivitas antiseptik ekstrak kulit buah kakao berupa zona hambat bakteri. Data ditentukan terlebih dahulu dengan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* dan homogenitas dari setiap data menggunakan uji *Levene test*. Hasil data yang diperoleh dapat dilakukan analisis parametrik dengan *One way anova*. Jika hasil tidak normal atau tidak homogen dilanjutkan dengan analisis non parametrik uji *Kruskal Wallis* dan Uji *Mann Whitney*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

4.1.1. Determinasi

Determinasi tanaman ini dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Diponegoro Semarang. Determinasi tanaman dilakukan karena memiliki tujuan untuk menentukan dan memastikan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman coklat jenis *Theobroma cacao L.* Hasil determinasi dapat dilihat pada (Lampiran 2) adalah sebagai berikut

Divisio : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Sub Class : Rosidae

Ordo : Malvales

Familia : Malvaceae

Genus : *Theobroma*

Species : *Theobroma cacao L.*

Vern, name : Coklat, kakao

4.1.2. Ekstraksi

Hasil yang diperoleh dari metode maserasi disaring dan dipekatkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 81,71 gram dan nilai rendemen sebesar 16,342 %.

Karakteristik ekstrak kulit buah kakao yang dihasilkan berwarna coklat tua, berbentuk kental dan berbau khas. Hasil rendemen dapat dilihat pada (Lampiran 3).

4.1.3. Uji Kadar Air

Hasil uji penetapan kadar air ekstrak kulit buah kakao adalah sebesar 4% sesuai dengan parameter <10%. Dapat dilihat pada (Lampiran 4).

4.1.4. Skrining Fitokimia

4.1.4.1. Analisis Kualitatif

Dilakukan uji skrining fitokimia senyawa flavonoid terhadap ekstrak kulit buah kakao menggunakan metode tabung dihasilkan warna jingga kemerahan yang dapat diartikan positif mengandung flavonoid. Hasil dapat dilihat pada (Lampiran 5).

4.1.4.2. Analisis Kuantitatif

Berdasarkan analisis Spektrofotometri Uv-Vis, didapatkan kadar kuersetin yang terdapat dalam ekstrak etanolik kulit kakao (*Theobroma cacao L.*) adalah sebesar 0,1780 mgQE/g dengan persen kadar flavonoid total sebesar 1,7 %. Hasil analisis kuantitatif dapat dilihat pada (Lampiran 6).

4.1.5. Hasil Uji Aktivitas Antiseptik Ekstrak Kulit Kakao

Uji pendahuluan aktivitas antiseptik ekstrak kulit buah kakao ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran untuk mengetahui diameter zona hambat yang optimal terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil pengujian tersaji pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Daya Hambat Ekstrak Kulit Kakao

Konsentrasi ekstrak	Replikasi	Daya hambat (mm)	Rata-rata (mm)
5 %	1	9,90 mm	9,70 mm
	2	9,70 mm	
	3	9,50 mm	
7,5 %	1	10 mm	10 mm
	2	10 mm	
	3	10 mm	
10 %	1	12,50 mm	12 mm
	2	12,50 mm	
	3	11 mm	

4.1.6. Hasil Pembuatan Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Kakao



Gambar 4.1. Sediaan Gel *Hand Sanitizer* Kulit Kakao

Pembuatan sediaan gel yang dihasilkan tersaji pada gambar 4.1.

4.1.7. Hasil Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit

Kakao

4.1.7.1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan tujuan untuk mengamati bentuk, warna dan bau sediaan gel setelah diangin-anginkan. Hasil uji organoleptis tersaji pada tabel 4.2

Tabel 4.2. Hasil Uji Organoleptis

Sediaan	Bentuk	Bau	Warna
Gel 10% R1	Semi solid	Khas kulit kakao	Coklat
Gel 10% R2	Semi solid	Khas kulit kakao	Coklat
Gel 10% R3	Semi solid	Khas kulit kakao	Coklat

Keterangan : R1 = Replikasi 1, R2 = Replikasi 2, R3 = Replikasi 3

4.1.7.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah sediaan terdapat butiran kasar atau sudah homogen. Hasil uji homogenitas sediaan gel tersaji pada tabel 4.3 sebagai berikut.

Tabel 4.3. Hasil Uji Homogenitas

	Sediaan Gel	Kontrol (-)	Kontrol (+)
Hasil	Homogen	Homogen	Homogen
Keterangan	Sesuai	Sesuai	Sesuai

4.1.7.3. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman sediaan agar tidak menimbulkan iritasi atau kulit gatal saat digunakan. Hasil uji pH sediaan gel dapat dilihat pada tabel 4.4 sebagai berikut.

Tabel 4.4. Hasil Uji pH

Sediaan	Nilai pH	Keterangan
Gel 10% R1	5,03	Memenuhi Syarat
Gel 10% R2	4,83	Memenuhi Syarat
Gel 10% R3	4,79	Memenuhi Syarat
Kontrol (+)	5,78	Memenuhi Syarat
Kontrol (-)	5,39	Memenuhi Syarat

Keterangan : R1 = Replikasi 1, R2 = Replikasi 2, R3 = Replikasi 3

4.1.7.4. Uji Daya Sebar

Hasil uji daya sebar sediaan gel dapat dilihat pada tabel 4.5 sebagai berikut.

Tabel 4.5. Hasil Uji Daya Sebar

Sediaan	Daya Sebar (cm)	Keterangan
Gel 10% R1	6 cm	Memenuhi Syarat
Gel 10% R2	5,7 cm	Memenuhi Syarat
Gel 10% R3	5,7 cm	Memenuhi Syarat
Kontrol (+)	6 cm	Memenuhi Syarat
Kontrol (-)	5,8 cm	Memenuhi Syarat

Keterangan : R1 = Replikasi 1, R2 = Replikasi 2, R3 = Replikasi 3

4.1.7.5. Uji Viskositas

Hasil uji viskositas sediaan gel menggunakan Viskometer Brookfield dapat dilihat pada tabel 4.6. sebagai berikut.

Tabel 4.6. Hasil Uji Viskositas

Sediaan	Viskositas (Cp)	Keterangan
Gel 10% R1	18760	Memenuhi Syarat
Gel 10% R2	19560	Memenuhi Syarat
Gel 10% R3	19100	Memenuhi Syarat
Kontrol (+)	2060	Tidak Sesuai
Kontrol (-)	18800	Memenuhi Syarat

Keterangan : R1 = Replikasi 1, R2 = Replikasi 2, R3 = Replikasi 3

4.1.8. Hasil Uji Aktivitas Antiseptik Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit

Kakao

Uji aktivitas antiseptik dilakukan untuk mengetahui diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Uji

antibakteri sediaan gel menggunakan metode difusi sumuran. Hasil pengujian daya hambat disajikan pada tabel 4.7. berikut.

Tabel 4.7. Hasil Daya Hambat Gel *Hand Sanitizer* Kulit Kakao

Sampel	Replikasi	Daya hambat (mm)	Rata-rata (mm)
Gel 10% R1	1	8 mm	7,30 mm
	2	7 mm	
	3	7 mm	
Gel 10% R2	1	8 mm	7,30 mm
	2	7 mm	
	3	7 mm	
Gel 10% R3	1	8 mm	8 mm
	2	8 mm	
	3	8 mm	
Kontrol (-) (Basis Gel)	1	0	0
	2	0	
	3	0	
Kontrol (+) (Gel Nuvo)	1	10,80 mm	10,26 mm
	2	10	
	3	10	

Keterangan : R1 = Replikasi 1, R2 = Replikasi 2, R3 = Replikasi 3

4.1.9. Analisis Hasil

4.1.9.1. Analisis Hasil Uji Daya Hambat Aktivitas Antibakteri

Ekstrak Kulit Buah Kakao

Tabel 4.8. Uji Normalitas Ekstrak Kulit Kakao

Uji Shapiro wilk	Nilai p	Keterangan
Konsentrasi 5%	0,780	Data normal
Konsentrasi 7,5%	0	Data tidak normal
Konsentrasi 10%	0,000	Data tidak normal

Tabel 4.9. Hasil Uji Homogenitas (*Levene test*)

Levene test	Nilai p	Keterangan
Uji homogenitas	0,027	Data tidak homogen

Hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* diperoleh data yang terdistribusi secara normal ($p > 0,05$)

dan data yang terdistribusi secara tidak normal ($p < 0,05$), dan untuk uji homogenitas menggunakan *Levene test* diperoleh hasil data yang tidak homogen ditandai dengan nilai ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil yang diperoleh syarat menggunakan *One Way Anova* tidak terpenuhi, maka harus menggunakan analisis non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis*. Hasil yang didapat menggunakan uji *Kruskal Wallis* tersaji pada tabel 4.10. sebagai berikut.

Tabel 4.10. Hasil Uji Kruskal Wallis

Kruskal Wallis	Nilai p	Keterangan
Uji <i>Kruskal Wallis</i>	0,033	signifikan

Hasil dari uji *Kruskal wallis* diperoleh nilai $p = 0,033$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan karena ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* yang bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna atau signifikan antar kelompok konsentrasi yang dapat dilihat pada tabel 4.11. sebagai berikut:

Tabel 4.11. Hasil Uji Mann Whitney

Konsentrasi	Perbandingan	Nilai p	Keterangan
5%	7,5%	0,121	Tidak
	10%	0,046	Signifikan
7,5%	10%	0,034	Signifikan

Hasil uji dari *Mann Whitney* menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak antara 5% dan 7,5% tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) sedangkan konsentrasi ekstrak antara

5% dan 10% menunjukkan nilai yang berbeda signifikan serta konsentrasi 7,5% dan 10% juga menunjukkan nilai yang berbeda signifikan ($p < 0,05$).

4.1.9.2. Analisis Hasil Uji Daya Hambat Aktivitas Antibakteri

Sediaan Gel *Hand Sanitizer* Kulit Buah Kakao

Tabel 4.12. Uji Normalitas Sediaan Gel *Hand Sanitizer* Kulit Kakao

Uji Shapiro wilk	Nilai p	Keterangan
10% R1	0,000	Data tidak normal
10% R2	0,000	Data tidak normal
10% R3	0	Data tidak normal
Kontrol Negatif	0	Data tidak normal
Kontrol Positif	0,000	Data tidak normal

Keterangan: R1 = Replikasi 1, R2 = Replikasi 2, R3 = Replikasi 3

Tabel 4.13. Hasil Uji Homogenitas (*Levene test*)

Levene test	Nilai p	Keterangan
Uji homogenitas	0,008	Data tidak homogen

Berdasarkan hasil uji normalitas *Shapiro wilk* diperoleh data keseluruhan yang tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) untuk uji homogenitas menggunakan *Levene test* menunjukkan hasil data yang tidak homogen karena nilai ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil uji yang didapatkan syarat menggunakan *One Way anova* tidak terpenuhi, maka dilanjutkan dengan menggunakan analisis non parametrik *Kruskal wallis*. Hasil uji *Kruskal wallis* dapat dilihat pada tabel 4.14. sebagai berikut.

Tabel 4.14. Hasil Uji Kruskal Wallis

Kruskal Wallis	Nilai p	Keterangan
Uji <i>Kruskal Wallis</i>	0,014	signifikan

Hasil uji dari *Kruskal wallis* diperoleh nilai $p = 0,014$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna atau signifikan karena ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil yang didapat dilanjutkan dengan uji *Mann whitney* yang memiliki tujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan signifikan antar kelompok konsentrasi, kontrol negatif dan kontrol positif dapat dilihat pada tabel 4.15. sebagai berikut.

Tabel 4.15. Uji Mann Whitney

Konsentrasi	Perbandingan	Nilai p	Keterangan
10% R1	10% R2	1,000	Tidak Signifikan
	10% R3	0,114	Tidak Signifikan
	Kontrol Negatif	0,034	Signifikan
	Kontrol Positif	0,043	Signifikan
10% R2	10% R3	0,114	Tidak Signifikan
	Kontrol Negatif	0,034	Signifikan
	Kontrol Positif	0,043	Signifikan
10% R3	Kontrol Negatif	0,025	Signifikan
	Kontrol Positif	0,034	Signifikan
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	0,034	Signifikan

Keterangan: R1 = Replikasi 1, R2 = Replikasi 2, R3 = Replikasi 3

Berdasarkan hasil uji *Mann whitney* nilai p yang dihasilkan antar kelompok konsentrasi tidak berbeda signifikan karena nilai ($p > 0,05$). Untuk hasil gel 10% dengan kontrol positif dan kontrol negatif diperoleh hasil terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan karena nilai ($p < 0,05$).

4.1.9.3. Analisis Hasil Ekstrak Etanolik Kulit Kakao 10% dan Sediaan Gel 10%

Tabel 4.16. Hasil Uji Normalitas

Uji Shapiro wilk	Nilai p	Keterangan
Ekstrak 10%	0,000	Data tidak normal
Gel 10%	0,000	Data tidak normal

Tabel 4.17. Hasil Uji Homogenitas

Levene test	Nilai p	Keterangan
Uji homogenitas	0,125	Data homogen

Hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* diperoleh data yang terdistribusi secara tidak normal ($p < 0,05$), dan untuk uji homogenitas menggunakan *Levene test* diperoleh hasil data yang tidak homogen ditandai dengan nilai ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil yang diperoleh syarat menggunakan *One Way Anova* tidak terpenuhi, maka harus menggunakan analisis non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis*. Hasil Uji *Kruskal Wallis* tersaji pada tabel 4.18 sebagai berikut.

Tabel 4.18. Hasil Uji *Kruskal Wallis*

Kruskal Wallis	Nilai p	Keterangan
Uji <i>Kruskal Wallis</i>	0,043	signifikan

Hasil uji dari *Kruskal wallis* diperoleh nilai $p = 0,043$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna atau signifikan antara ekstrak 10% dan sediaan gel 10% karena ($p < 0,05$).

Tabel 4.19. Hasil Uji Mann Whitney

Mann Whitney	Nilai p	Keterangan
Uji Mann Whitney	0,043	signifikan

Hasil uji dari *Mann whitney* diperoleh nilai $p = 0,043$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan antara ekstrak 10% dan sediaan gel 10% karena ($p < 0,05$).

4.2. Pembahasan

4.2.1. Determinasi

Determinasi tanaman coklat (*Theobroma kakao L.*) yang digunakan pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Diponegoro Semarang. Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui dan mendapatkan ketetapan kebenaran identitas atau taksonomi dari tanaman yang digunakan untuk penelitian, agar dapat menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama. Berdasarkan hasil determinasi yang didapat menunjukkan benar, bahwa kulit kakao yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tanaman *species Theobroma kakao L.*

4.2.2. Ekstraksi

Setelah dilakukan determinasi, ekstraksi diawali dengan mencuci kulit kakao yang didapat menggunakan air mengalir hingga bersih agar terhindar dari kotoran yang menempel pada kulit kakao,

kemudian kulit kakao dikeringkan untuk mengurangi kandungan air dan dihaluskan menggunakan blender sehingga didapatkan serbuk kulit kakao. Setelah mendapatkan serbuk kulit kakao sebanyak 500 g dilakukan proses maserasi di Laboratorium Farmasi FK Unissula. Menggunakan metode maserasi karena merupakan salah satu metode dengan beberapa keuntungan seperti pengerjaan yang lebih mudah dan murah serta cocok untuk zat aktif yang tidak tahan terhadap panas. Ekstrak yang dihasilkan telah dilakukan uji kadar air, di mana hasil uji kadar air ekstrak tidak boleh melebihi 10 % guna menjaga kualitas ekstrak yang baik (Utami *et al.*, 2017).

Proses ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96 %. Maserasi memiliki tujuan untuk menarik dan menyari senyawa yang diinginkan dengan cara perendaman menggunakan perbandingan 1 : 10. Serbuk kulit kakao yang telah ditimbang direndam dalam toples selama 3 hari dengan sesekali pengadukan guna mencegah terjadinya kejenuhan pelarut dalam mengekstraksi sampel, sehingga zat aktif yang berada dalam sampel dapat terekstraksi secara maksimal. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96 %, senyawa metabolit sekunder yang akan disari adalah flavonoid, yang merupakan metabolit sekunder golongan polifenol yang memiliki sifat polar, berdasarkan prinsip *like dissolve like* pelarut cenderung dapat melarutkan senyawa aktif jika memiliki tingkat kepolaran yang

sama, dalam hal ini contoh pelarut yang biasa digunakan yaitu etanol, metanol, aseton, air dan sebagainya (Suryani *et al.*, 2015).

Hasil maserasi berupa filtrat yang didapat setelah di lakukan perendaman 3 hari kemudian disaring guna memisahkan filtrat dari residu dan dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* agar mendapatkan zat aktif dengan kandungan atau konsentrasi yang lebih pekat. Suhu yang digunakan dalam proses penguapan yaitu 49°C. Pada penggunaan suhu tersebut memiliki tujuan agar senyawa zat aktif yang terkandung tidak mengalami kerusakan karena panas yang berlebihan. Setelah penguapan selesai didapat ekstrak yang kemudian di waterbath hingga didapatkan ekstrak kental yang sesuai. Ekstrak kental yang telah didapat ditimbang dan dihitung rendemennya. Nilai rendemen sendiri berhubungan dengan banyaknya kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada ekstrak. Hasil nilai rendemen yang didapat sebesar 16,34%. Semakin tinggi nilai rendemen yang didapat maka semakin tinggi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak, sebaliknya jika semakin rendah nilai rendemen yang didapatkan maka semakin sedikit kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak. Hasil nilai rendemen ekstrak kental pada penelitian sebelumnya sebesar 19,19% (Situmorang, 2016).

Hasil yang didapat menunjukkan bahwa nilai rendemen telah memenuhi persyaratan berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia

Edisi , yaitu nilai rendemen tidak kurang dari 7,2 % (Depkes RI, 2008).

4.2.3. Skrining Fitokimia

Setelah didapatkan ekstrak kental kemudian dilakukan penentuan senyawa marker secara kualitatif dan kuantitatif.

4.2.3.1. Kualitatif

Dilakukan uji kualitatif ekstrak kulit buah kakao yaitu uji skrining fitokimia menggunakan metode tabung di Laboratorium Farmasi FK Unissula (IBL FK Unissula). Uji ini dilakukan untuk mengetahui dan mengidentifikasi adanya kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit buah kakao. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanolik kulit kakao menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga, coklat, kemerahan menggunakan reagen HCl pekat dan serbuk Mg. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan ekstrak kulit buah kakao mengandung senyawa flavonoid, saponin dan alkaloid (Situmorang, 2016).

4.2.3.2. Kuantitatif

Uji kuantitatif pada penelitian ini menggunakan senyawa pembanding atau standar kuersetin, karena kuersetin adalah senyawa flavonoid golongan flavonol yang

memiliki gugus keto dan gugus hidroksil, uji ini dilakukan untuk mengetahui penetapan kadar flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanolik kulit kakao. Sebelum dilakukan pembacaan nilai menggunakan spektrofotometer *UV-vis* larutan diinkubasi dahulu selama 30 menit agar reaksi dapat berjalan sempurna dan menghasilkan intensitas warna yang maksimal. Hasil penetapan kadar flavonoid total yang didapatkan yaitu sebesar 0,1780 mgQE/g dengan persen kadar flavonoid total sebesar 1,7 %.

4.2.4. Analisis Korelasi Kadar Flavonoid Total dengan Aktivitas Antiseptik Ekstrak Kulit Buah Kakao

Korelasi atau hubungan antara kadar flavonoid total dengan aktivitas antiseptik ekstrak kulit buah kakao dilakukan secara statistik dengan metode korelasi *Pearson*. Diperoleh nilai signifikansi (sig (2-tailed)) sebesar 0,292, tidak terdapat korelasi yang signifikan antara dua variabel yang diuji ($p > 0,05$). Diperoleh nilai korelasi 0,897, berdasarkan hasil tersebut terdapat hubungan positif yang dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total dengan interpretasi kuat. Semakin besar kandungan flavonoid total maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya.

4.2.5. Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Kakao

Uji sifat fisik yang dilakukan yaitu uji organoleptis, uji homogenitas, uji daya sebar, uji pH dan uji viskositas. Untuk uji

organoleptis dilakukan dengan cara mengamati warna, bau dan konsistensi bentuk sediaan yang dihasilkan dari ketiga formula yaitu berwarna coklat, bau khas coklat dan memiliki bentuk gel kental. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Madiha, 2021) menyatakan bahwa warna gel ekstrak kulit buah kakao yang dihasilkan berwarna coklat, memiliki bau khas setelah diangin-anginkan bau khas ekstrak kulit kakao masih tetap menyengat dan memiliki konsistensi yang berbentuk gel.

Uji sifat fisik yang dilakukan selanjutnya yaitu uji homogenitas, uji ini memiliki tujuan untuk mengetahui apakah sediaan gel yang telah dibuat telah tercampur secara homogen dan dapat terdistribusi secara merata antara ekstrak dengan bahan tambahan lainnya. Pengujian dilakukan dengan mengoleskan sedikit sediaan pada kepingan kaca yang tersedia yang akan menunjukkan sediaan gel yang telah dibuat tercampur secara merata atau tidak, ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar yang terdapat pada kepingan kaca. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Madiha, 2021) menunjukkan bahwa sediaan gel ekstrak kulit buah kakao yang homogen yaitu tercampur secara merata dan tidak terdapat butiran kasar yang ada pada kepingan kaca. Uji homogenitas perlu dilakukan agar sediaan yang nantinya akan digunakan dapat terdistribusi secara merata.

Kemudian dilakukan uji pH yang memiliki tujuan untuk mengetahui tingkat keasaman dan keamanan sediaan gel saat digunakan agar tidak mengiritasi kulit. Pengujian pH dilakukan terhadap 5 sediaan gel menggunakan alat pH meter, hasil pengukuran pH yang dilakukan dapat dilihat pada tabel 4.4. Berdasarkan hasil uji pH menunjukkan bahwa nilai pH setiap formula sediaan gel ekstrak kulit buah kakao masuk ke dalam rentang parameter nilai pH gel yang baik yaitu 4,5 – 6,5 sehingga sediaan gel ekstrak kulit buah kakao termasuk dalam kategori aman karena masih memiliki pH di bawah netral dan tidak terlalu basa sehingga tidak dapat menyebabkan iritasi kulit saat diaplikasikan. Jika nilai pH terlalu asam maka dapat menyebabkan kulit bersisik atau gatal-gatal dan jika terlalu basa dapat mengiritasi kulit (Madiha, 2021).

Pengujian daya sebar perlu dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan gel dalam menyebar dengan mudah saat diaplikasikan pada kulit tanpa menimbulkan rasa sakit saat dioleskan dan menjamin keamanan penggunaan. Nilai daya sebar yang baik yaitu 5 – 7 cm (Nailufa, 2020). Hasil pengujian daya sebar dapat dilihat pada tabel 4.5. menunjukkan bahwa sediaan gel dapat menyebar dengan baik karena dari semua formula yang diuji sesuai dengan rentang parameter nilai daya sebar yang baik. Semakin tinggi

daya sebar menunjukkan bahwa sediaan gel dapat menyebar secara luas pada permukaan kulit saat dioleskan.

Pengujian sifat fisik yang dilakukan selanjutnya yaitu uji viskositas, memiliki tujuan untuk mengetahui tingkat kekentalan sediaan gel yang telah dihasilkan, semakin tinggi nilai viskositas maka semakin besar tahanan yang dihasilkan, tahanan yang besar akan mempengaruhi sediaan semakin kental dan sulit untuk mengalir. Berdasarkan hasil uji viskositas yang dapat dilihat pada tabel 4.6. menunjukkan bahwa nilai viskositas dari replikasi 1 , replikasi 2 , replikasi 3 dan kontrol negatif masuk ke dalam rentang nilai viskositas yang baik tetapi dengan konsistensi yang kental dan lengket yaitu 3000 – 50000 Cps, untuk kontrol positif tidak sesuai dengan rentang dapat disebabkan oleh perbedaan basis gel yang digunakan pada gel nuvo, dan metode pembuatan yang digunakan dapat mempengaruhi tingkat viskositas yang dihasilkan sangat berbeda. Pemilihan basis gel Carbopol dinilai kurang tepat pada formulasi ini membuat sediaan menjadi lebih kental dari kontrol positif dapat dilakukan reformulasi agar sediaan dapat menjadi lebih menarik dan sesuai (Iin Lidia Putama Mursal *et al.*, 2019).

4.2.6. Uji Aktivitas Antiseptik Ekstrak Kulit Kakao

Uji aktivitas antiseptik ekstrak kulit buah kakao terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui diameter daya hambat yang paling optimal antara konsentrasi 5 %,

7,5 % dan 10 %. Pada uji antibakteri ekstrak pada penelitian ini menggunakan media NA (*Nutrient Agar*), sebagian besar mikroorganisme dapat tumbuh pada media NA karena media NA mengandung karbohidrat yang dibutuhkan oleh bakteri agar dapat tumbuh karena karbohidrat merupakan substrat utama metabolisme bakteri yang dapat digunakan untuk pertumbuhan bakteri baik bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif (Cahyono, 2019).

Sebelum dilakukan pengujian, alat dan media yang telah disiapkan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C yang bertujuan untuk mencegah dan menghilangkan pertumbuhan mikroorganisme lain agar hasil uji aktivitas antiseptik sesuai dan tidak terkontaminasi pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Setelah itu dilakukan peremajaan media NA dan diinkubasi selama 48 jam agar dapat digunakan dengan baik dan optimal. Setelah media NA siap digunakan kemudian diinokulasikan bakteri *Escherichia coli* dengan tingkat kekeruhan sesuai dengan standar McFarlan 0,5 pada media NA, alasan disesuaikan dengan standar McFarlan karena jika terlalu keruh atau terlalu banyak kandungan bakteri maka akan mempengaruhi lebar diameter daya hambat yang dihasilkan. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 34 °C selama 24 jam, hal ini dilakukan agar bakteri dapat memulai kembali metabolisme setelah penyiapan dan mengoptimalkan pertumbuhan bakteri (Awaludin *et al.*, 2018).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Metode difusi sumuran merupakan metode uji aktivitas antibakteri dengan cara membuat lubang atau sumuran dengan diameter tertentu kemudian dimasukkan sampel yang akan diuji, penggunaan metode difusi sumuran bertujuan untuk mengetahui diameter daya hambat ekstrak dilihat berdasarkan zona bening di sekitar sumuran yang dihasilkan. Alasan menggunakan metode difusi sumuran karena aktivitas yang dihasilkan oleh ekstrak tidak hanya di atas permukaan media tetapi juga sampai bawah (Nurhayati *et al.*, 2020). Setelah media yang berisi bakteri *E.coli* di inkubasi selama 24 jam dilakukan uji difusi sumuran ekstrak dengan beberapa konsentrasi yaitu 5 %, 7,5 %, 10 %, dan kontrol negatif kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam. Setelah inkubasi selesai hasil dapat dilihat berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran dan diukur menggunakan jangka sorong.

Hasil uji aktivitas antiseptik ekstrak kulit buah kakao terhadap bakteri *Escherichia coli* sebagaimana tersaji pada tabel 4.1. diameter yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 5 % dan 7,5 % memiliki daya hambat dengan kategori kekuatan sedang, untuk diameter zona hambat konsentrasi 10 % memiliki daya hambat dengan kategori kuat, sedangkan untuk kontrol negatif tidak terdapat aktivitas antiseptik terhadap bakteri *E.coli*. Kategori kekuatan daya hambat ekstrak dapat dilihat dari

seberapa besar diameter yang dihasilkan, semakin besar diameter daya hambat maka semakin besar pula aktivitas antiseptik yang dihasilkan. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh (Situmorang, 2016) pada konsentrasi 10 % didapatkan hasil dengan kategori kuat sebesar 14 mm hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan kulit kakao yang digunakan maupun metode uji, metode ekstraksi, waktu inkubasi, suhu serta faktor kendali lain yang lebih optimal. Kekuatan suatu ekstrak terhadap bakteri dapat dilihat dari diameter daya hambatnya, <5 mm termasuk kategori lemah, 6 – 10 mm termasuk dalam kategori sedang, 11 – 20 mm termasuk dalam kategori kuat, dan >20 mm termasuk dalam kategori sangat kuat (Surjowardojo *et al.*, 2015).

4.2.7. Uji Aktivitas Antiseptik Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Kakao

Uji aktivitas antiseptik terhadap bakteri *Escherichia coli* terdiri dari beberapa kelompok yaitu sediaan gel *hand sanitizer* kulit buah kakao 10%, sediaan pembanding (kontrol positif), dan basis gel (kontrol negatif). Pengujian ini dilakukan dengan metode difusi sumuran menggunakan media NA, alasan penggunaan metode difusi sumuran karena sampel yang diuji tidak hanya memiliki aktivitas pada permukaan saja melainkan sampai bawah media agar diameter daya hambat yang didapat menjadi lebih besar, pada penelitian ini menggunakan media NA karena media NA memiliki kandungan

karbohidrat yang merupakan kandungan penting dalam proses pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun negatif, dan *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang dapat tumbuh dengan oksigen maupun tanpa oksigen serta mampu bertahan dalam media yang miskin nutrisi (Cahyono, 2019).

Hasil uji aktivitas bakteri sediaan gel 10% replikasi 1 memiliki rerata diameter daya hambat sebesar 7,30 mm yang termasuk dalam kategori sedang, untuk sediaan gel 10% replikasi 2 memiliki rerata diameter daya hambat sebesar 7,30 mm yang juga termasuk dalam kategori sedang, untuk sediaan gel 10% replikasi 3 memiliki rerata diameter daya hambat sebesar 8 mm termasuk dalam kategori sedang, kemudian untuk kontrol positif memiliki rerata diameter daya hambat sebesar 10,26 mm termasuk dalam kategori sedang, dan untuk kontrol negatif (basis gel) tidak memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri. Berdasarkan penelitian (Surjowardojo *et al.*, 2015) nilai diameter daya hambat antibakteri 6 – 10 mm termasuk dalam kategori sedang, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao dalam sediaan gel ekstrak memiliki aktivitas antiseptik dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan hasil analisis statistik SPSS, terdapat perbedaan signifikan antara sediaan gel 10% R1 R2 dan R3 terhadap kontrol negatif, hal ini menunjukkan bahwa sediaan gel ekstrak kulit buah kakao memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri *Escherichia*

coli , karena ekstrak kulit buah kakao memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid yang dapat merusak fungsi membran sel akibat sifat lipofiliknya sehingga perlahan dapat menyebabkan kerusakan sel bakteri *Escherichia coli* hingga akhirnya dapat terjadi kematian sel (Ariyanti & Wahyuni, 2019). Berdasarkan penelitian lain ekstrak kulit buah kakao memiliki beberapa metabolit sekunder selain flavonoid yaitu seperti tanin, saponin dan alkaloid, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao memiliki potensi dalam menghambat aktivitas bakteri *E.coli* (Madiha, 2021).

Untuk hasil analisis statistik SPSS pada sediaan gel 10% R1 R2 dan R3 dengan sediaan pembanding (kontrol positif) memiliki perbedaan yang bermakna atau signifikan, hal ini menunjukkan bahwa antara sediaan gel ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 10% dengan kontrol positif (nuvo gel) belum memiliki aktivitas yang sebanding, hal ini dapat disebabkan karena kontrol positif (nuvo gel) memiliki kandungan alkohol 70%, di mana alkohol merupakan kandungan utama dalam menghambat bakteri dan alkohol juga telah terbukti efektifitas nya, memiliki kemampuan aktivitas bakteriosida yang baik terhadap sebagian besar bakteri baik gram negatif maupun gram positif, selain itu *hand sanitizer* di pasaran biasanya mengandung agen antibakteri lainnya seperti triloksan sehingga diameter daya hambat yang dihasilkan lebih besar (Rini & Nugraheni, 2018).

Basis yang digunakan dalam pembuatan sediaan gel ekstrak kulit buah kakao yaitu carbopol, menggunakan carbopol karena basis ini cenderung memiliki sifat stabil dan dapat larut baik dalam air maupun etanol serta dapat menghasilkan sediaan gel yang jernih. Untuk bahan lain seperti TEA (trietanolamin) digunakan sebagai alkalizing agent dari carbopol dengan mengurangi tegangan permukaan dan dapat meningkatkan kejernihan sediaan yang dihasilkan. Untuk bahan lain seperti metil paraben digunakan sebagai pengawet sediaan dan untuk meningkatkan kemampuan pengawet metil paraben ditambahkan propilenglikol yang juga digunakan sebagai humektan (Madiha, 2021).

Berdasarkan analisis hasil dan hasil penelitian yang telah dilakukan, terdapat perbedaan signifikan antara ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 10% dengan sediaan gel ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 10%. Hal ini dapat terjadi karena beberapa faktor seperti penambahan beberapa bahan lain yang dapat mempengaruhi hasil seperti penambahan basis gel carbopol maupun bahan tambahan lain seperti trietanolamin, propilenglikol maupun nipagin.

Keterbatasan penelitian ini yaitu belum dilakukannya pengujian uji iritasi sediaan gel ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap sukarelawan, belum dilakukannya fraksinasi ekstrak sehingga tidak diketahui secara pasti senyawa apa yang dapat menghambat aktivitas bakteri *Escherichia coli*. Serta perlu

dilakukannya uji stabilitas fisik dalam jangka waktu tertentu untuk mengetahui stabilitas sediaan dalam masa penyimpanan jangka panjang.



BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

- 5.1.1. Ekstrak etanolik kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) dalam sediaan gel *hand sanitizer* dengan konsentrasi 10% terbukti memiliki aktivitas antiseptik terhadap *Escherichia coli*.
- 5.1.2. Sediaan gel *hand sanitizer* kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) memiliki rerata diameter daya hambat bakteri sebesar 7,53 mm termasuk dalam kategori sedang.
- 5.1.3. Sediaan gel *hand sanitizer* kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) secara organoleptis memiliki bentuk gel kental, warna coklat dan memiliki bau khas kulit buah kakao, memiliki rerata pH 4,88, memiliki rerata daya sebar 5,8 cm, dan rerata viskositas 19140 cps.

5.2. Saran

- 5.2.1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji iritasi pada sediaan gel *hand sanitizer* kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*) untuk mengetahui efek iritasi yang dapat terjadi saat penggunaan.
- 5.2.2. Perlu dilakukannya fraksinasi pada ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma kakao L.*).

5.2.3. Perlu dilakukannya uji stabilitas fisik sediaan gel *hand sanitizer* kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) untuk mengetahui stabilitas sediaan dalam penyimpanan jangka waktu yang lama.



DAFTAR PUSTAKA

- Adhikari, U., Esfahanian, E., Mitchell, J., Charbonneau, D., Song, X., & Lu, Y. (2020). *Quantitation of risk reduction of E. Coli transmission after using antimicrobial hand soap*. *Pathogens*, 9 (10), 1–17.
- Anonim. (2010). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Ariyanti, M., & Wahyuni, W. (2019). *Kandungan Flavonoid Dan Total Fenol Pada Bubuk Kakao Fermentasi*. Peneliti Balai Besar Industri Hasil Perkebunan. Makassar.
- Awaludin, A., Dwi Laksono Timur, H., Abdul Jaziri, A., Nurdiani, R., & Pradarameswari, K. A. (2018). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove Sonneratia alba Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru*. *Indonesia Journal of Halal Malang*.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). *Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.)*. Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani. Cimahi.
- Bereket, W., Hemalatha, K., Getenet, B., Wondwossen, T., Ali, S., Zeynudin, A., & Kannan, S. (2012). *Update On Baterial Nosocomial Infections*. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16(8), 1039–1044.
- Cahyono, A. D. (2019). *Pengaruh Penambahan Media Kultur terhadap Pertumbuhan Bakteri Symbion Larva Oryctes rhinoceros L.* Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Depkes RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi, L. A. P. (2016). *Pembuatan Gel Ekstrak Daun Pepaya Dengan Variasi penambahan Hydroxypropyl Methyl Cellulose*. Politeknik Negeri Sriwijaya. Palembang, 66, 37–39.
- FDA. (2014). *Safety and Effectiveness of Consumer Antiseptics; Topical Antimicrobial Drug Products for Over-the-Counter Human Use; Proposed Amendment of the Tentative Final Monograph; Reopening of Administrative Record*. Department of Health and Human Services, 79 (41), 1–41.
- Hedetniemi, K., & Liao, M. . (2006). *Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses: Escherichia coli*. American Society for Microbiology.
- Hidayanti, U. W., Fadraersada, J., & Ibrahim, A. (2015). *Formulasi Dan Optimasi Basis Gel Carbopol 940 Dengan Berbagai Variasi Konsentrasi*. Fakultas

Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda.

- In Lidia Putama Mursal, Anggun Hari Kusumawati, & Devi Hartianti Puspasari. (2019). *Pengaruh Variasi Konsentrasi Gelling Agent Carbopol 940 Terhadap Sifat Fisik Sediaan Gel Hand Sanitizer Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum sanctum L.)*. Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi, 4(1), 268–277.
- Ilyas, A. (2013). *Kimia Organik Bahan Alam*. Alauddin University Press.
- Jolly, W. M., & Hadlow, A. M. (2012). *A comparison of two methods for estimating conifer live foliar moisture content*. International Journal of Wildland Fire, 21(2), 180–185.
- Karmawati, E., Mahmud, Z., Syakir, M., Munarso, S. J., Ardana, I. K., & Rubiyono. (2010). *Budidaya dan Pasca Panen Kakao*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor.
- Kemenkes RI. (2011). *Situasi diare di Indonesia*. Jurnal Buletin Jendela Data & Informasi Kesehatan, 2, 1–44.
- Kemenkes RI. (2014). *Perilaku Mencuci Tangan Pakai Sabun Di Indonesia*. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.
- Lee, J., Jing, J., Yi, T. P., Bose, R. J. C., McCarthy, J. R., Tharmalingam, N., & Madheswaran, T. (2020). *Hand Sanitizers : A Review on Formulation Aspects , Adverse Effects , and Regulations*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17, 3326.
- Madiha, R. (2021). *Formulasi dan Uji Aktivitas Aktibakteri Sediaan Gel Antijerawat Yang Mengandung Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) Terhadap Propionibacterium acne dan Staphylococcus epidermidis*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Manus, N., Yamlean, P. V. Y., & Kojong, N. S. (2016). *Formulasi Sediaan Gel Minyak Atsiri Daun Sereh (Cymbopogon citratus) Sebagai Antiseptik Tangan*. Pharmacon, 5(3), 1–5.
- Mulyatni, A. S., Budiani, A., & Taniwiryono, D. (2012). *Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (Theobroma cacao L.) terhadap Escherichia coli, Bacillus subtilis, dan Staphylococcus aureus*. Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia. Bogor.
- Murtini, G. (2016). *Farmestika Dasar*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Nailufa, Y. (2020). *Formulasi dan Evaluasi Gel Hand Sainitizer Dengan Moisturizer Alga Hijau (Spirulina Platensis) dan Vitamin E*. Journal of Chemical Information and Modeling, 53(9), 1689–1699.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). *Perbandingan*

Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. Jurnal Teknologi Hasil Peternakan, 1(2), 41.

- Nurwaini, S., & Saputri, I. D. (2018). *Pengujian Sifat Fisik dan Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Daun Lidah Mertua (Sansevieria trifasciata Prain).* Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM), 1(3), 078–085.
- Pratiwi, E. (2010). *Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide dari Tanaman Sambiloto (Arographis paniculata (Burm.f.) Nees).* IPB Repository.
- Pratyaksa, I. P. L., Ganda Putra, G. P., & Suhendra, L. (2020). *Karakteristik Ekstrak Kulit Biji Kakao (Theobroma cacao L.) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi.* Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri, 8(1), 1.
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., Komalasari, E., & . (2018). *Escheria Coli : Patogenitas, Analisis dan Kajian Risiko.* IPB Press, 01(05), 1–156.
- Rini, E. P., & Nugraheni, E. R. (2018). *Uji Daya Hambat Berbagai Merek Hand Sanitizer Gel Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus.* JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research, 3(1), 18.
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik.* Journal of Chemical Information and Modeling (Vol. 53, Issue 9). Deepublish.
- Situmorang, D. (2016). *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao (Theobroma kakao L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli.* Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Sudibyo, A. (2012). *Peran Cokelat Sebagai Produk Pangan Derivat Kakao Yang Menyehatkan.* Balai Besar Industri Agro. Bogor.
- Surjowardojo, P., Susilorini, T. E., & Sirait, G. (2015). *Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (Malus sylvestris Mill.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Pseudeomonas sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah.* J. Ternak Tropika Universitas Brawijaya Malang.
- Suryani, N., Permana, D. G., & Jambe, A. (2015). *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (Pometia pinnata).* Fakultas Teknologi Pangan Universitas Udayana. Bali.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). *Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (Clerodendrum).* Journal of

Pharmaceutical and Medicinal Sciences, 2(1), 32–39.

Wulansari, N. T., & Parut, A. A. (2019). *Pengendalian Jumlah Angka Mikroorganisme Pada Tangan Melalui Proses Hand Hygiene*. *Jurnal Media Sains*, 3(1), 7–13.

Yusmaniar, Wardiyah, & Nida, K. (2017). *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

