

Formulasi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel *Hand Sanitizer* Berbahan Aktif Kitooligosakarida

Diah Ayu Wardhani, Ari Susilowati* dan Artini Pangastuti

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Jalan Ir. Sutami 36A, Surakarta, Indonesia, 57126.

*email korespondensi: arisusilowati@staff.uns.ac.id

Diterima 23 September 2022, Disetujui 07 Maret 2023, Dipublikasi 30 Maret 2023

Abstrak: Kitooligosakarida merupakan derivat dari kitosan yang memiliki sifat antimikroba dan dijadikan bahan aktif dalam cairan *hand sanitizer*. *Hand sanitizer* bebas alkohol dapat menghindari terjadinya toleransi bakteri terhadap bahan kimia seperti alkohol dan mengurangi efek buruk alkohol bagi kulit. Penelitian bertujuan untuk mengetahui karakteristik sediaan *hand sanitizer* kitooligosakarida dan efektivitasnya dalam membunuh mikroba. Serbuk kitooligosakarida ditambahkan dalam formulasi *hand sanitizer* dengan variasi berat 1 g (formula 1), 1,5 g (formula 2), dan 2 g (formula 3) menggunakan basis NaCMC, propilenglikol, essens, dan metil paraben. Evaluasi stabilitas fisik *hand sanitizer* berdasarkan warna, tekstur, aroma, pH, homogenitas, dan daya sebar. Uji daya hambat *hand sanitizer* diuji melalui metode *disc diffusion* dilanjutkan dengan perbandingan daya hambat melalui pengukuran diameter zona penghambatan dan uji one-way ANOVA. Uji penurunan angka koloni mikroba dengan metode *swabbing* dan dilanjutkan perbandingan rerata penurunan koloni mikroba melalui uji T berpasangan. Hasil evaluasi stabilitas fisik *hand sanitizer* memenuhi kriteria gel yang baik. Hasil uji formula 1 memiliki kriteria angka diameter zona hambat yang lemah pada *S. aureus* (14,33 cm) dan daya hambat sedang pada *E. coli* (17,33 cm), Formula 2 memiliki angka diameter zona hambat kuat sebesar 21,33 cm pada *S. aureus* dan 20,33 cm pada *E. coli*. Formula 3 menghasilkan zona hambat kuat, yaitu 20,67 cm pada *S. aureus* dan 22,33 cm pada *E. coli*. Hasil penurunan angka koloni mikroba sediaan *hand sanitizer* paling besar yaitu formula 3 sebesar 80,22%. *Hand sanitizer* kitooligosakarida menunjukkan kemampuan penurunan angka koloni mikroba dan dapat digunakan sebagai formulasi alternatif *hand sanitizer*.

Kata kunci: *Hand sanitizer*; kitooligosakarida; kitosan

Abstract. Formulation and Antibacterial Activity Test of Hand Sanitizer Gel Chitooligosaccharide. Chitooligosaccharide is a derivative of chitosan which has antimicrobial properties and is used as an active ingredient in hand sanitizer. Alcohol-free *hand sanitizer* can avoid the bacterial tolerance to chemicals such as alcohol and reduce the bad effects of alcohol on skin. This study aimed to determine the characteristics of chitooligosaccharide *hand sanitizer* formulations and their effectiveness in killing microbes. Chitooligosaccharide powder was added into *hand sanitizer* formulation with various weights of 1 g (formula 1), 1.5 g (formula 2), and 2 g (formula 3) into the NaCMC base, propylene glycol, essence, and methyl paraben. Evaluation of the physical stability of hand sanitizers based on color, texture, aroma, pH, homogeneity, and spreadability. The *hand sanitizer* inhibition was tested using the disc diffusion method followed by comparison of inhibitory through the measurement of the inhibition zone diameter and one-way ANOVA test. The test for decreasing microbial numbers was carried out by swabbing method and followed by comparison of mean decrease in microbial colonies through paired T-test. The results of the evaluation of physical stability of *hand sanitizer* meet the criteria for a good gel. Formula 1 had a weak inhibition zone diameter for *S. aureus* (14.33 cm) and moderate inhibition for *E. coli* (17.33 cm). Formula 2 has a strong inhibition zone diameter of 21.33 cm in *S. aureus* and 20.33

cm in *E. coli*. Formula 3 produces a strong inhibition zone, which are 20.67 cm in *S. aureus* and 22.33 cm in *E. coli*. The result of largest decrease in the number of microbes in *hand sanitizer* formulations was formula 3 by 80.22%. Chitooligosaccharide *hand sanitizer* has the ability to reduce microbial numbers and can be used as an alternative formulation of hand sanitizer.

Keywords: Hand sanitizer; chitooligosaccharide; chitosan

1. Pendahuluan

Tangan mengandung banyak mikroba karena sering bersentuhan dengan benda lain maupun saat sedang berjabat tangan, maka dalam aktivitas manusia sehari-hari, tangan seringkali menjadi media transmisi mikroba dari lingkungan dan dapat menjadi perantara masuknya mikroba ke dalam tubuh, terutama jika tangan tidak dibersihkan dengan benar (Silakhudin & Fatmawati, 2015). Penelitian Faturrahman & Rahmawati, (2019) menjelaskan bahwa tempat umum seperti pasar tradisional dapat menjadi tempat tumbuhnya bakteri, seperti pada dinding bangunan, pakaian, barang dagangan, uang, sampah, genangan air, maupun binatang di sekitar pasar. Penelitian lain yang dilakukan oleh Rachmawati & Ningrum, (2015) tentang keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada tangan penjamah makanan di Jember menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara praktik *hygiene* terhadap keberadaan bakteri di tangan. Seseorang yang memiliki praktik *hygiene* yang buruk terutama dalam hal membersihkan kuku, kebiasaan mencuci tangan, dan penggunaan alat bantu dalam mengambil makanan dapat mengalami infeksi bakteri dan menyebabkan penyakit seperti diare. Pada lingkungan rumah sakit, *Staphylococcus aureus* dan *Enterococci* merupakan bakteri yang sering menyebabkan infeksi aliran darah, sedangkan *E. coli* menjadi penyebab umum dari infeksi saluran kemih. Pada tangan personel rumah sakit, ditemukan lebih banyak bakteri gram positif dibanding bakteri gram negatif dengan *Staphylococcus sp.* merupakan bakteri gram positif yang paling banyak ditemukan pada tangan dan permukaan benda-benda (Bakkali & Hmid, 2016). Mikroba bertransmisi melalui tangan, baik di lingkungan umum maupun di lingkungan rumah sakit, dapat menyebabkan infeksi yang mengganggu kesehatan seseorang yang terkena infeksi. Pencegahan kontaminasi tersebut umumnya dapat dilakukan dengan cara tangan dibersihkan menggunakan sabun kemudian dibilas dengan air mengalir.

Produk sabun belakangan ini sudah mengandung zat antiseptik seperti sabun cair untuk mencuci tangan yang banyak disukai masyarakat karena lebih praktis penggunaannya dan lebih mudah disimpan (Marhamah *et al.*, 2019). Seiring berkembangnya zaman, banyak dikembangkan produk instan yang dapat digunakan untuk membersihkan tangan saat sibuk bekerja atau ketika berada di tempat yang sulit untuk mencuci tangan menggunakan sabun. Produk pembersih tangan ini sering disebut *hand sanitizer*. *Hand sanitizer* dapat dijumpai di apotek atau toko-toko di Indonesia. Produk antiseptik tersebut mayoritas berbahan dasar

alkohol dan memiliki nama kimia *Ethyl alcohol* atau Ethanol. Alkohol dapat membunuh mikroba yang terdapat di permukaan suatu benda (Susatyo, 2016).

Penelitian yang dilakukan oleh Pidot *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa beberapa strain bakteri seperti *Enterococcus faecium* sudah mulai menyesuaikan diri terhadap pembersih tangan berbahan dasar alkohol meskipun belum resisten terhadapnya. Bakteri mulai menyesuaikan diri atau toleran terhadap suatu senyawa antibakteri, maka bakteri tersebut akan lebih sulit dan membutuhkan waktu lebih lama untuk dihambat oleh senyawa antibakteri tersebut, hal ini menunjukkan bahwa ketika bakteri menjadi resisten, akan sulit untuk membunuh bakteri menggunakan alkohol. Laporan kasus oleh Inder & Kumar, (2020), penggunaan *hand sanitizer* berbahan aktif alkohol yang berlebihan selama pandemi COVID-19 menyebabkan peradangan dan ruam pada kulit tangan, hal ini disebabkan selain dapat melarutkan lemak pada lapisan luar virus, tetapi *hand sanitizer* ini juga menyebabkan kerusakan struktural protein pada lapisan terluar kulit inang bersamaan dengan perubahan lipid antar sel sehingga mengarah ke peradangan dan kekeringan kulit. Penelitian oleh Saha *et al.*, (2021) juga menyebutkan hal yang sama terkait kontak langsung antara kulit dan bahan alkohol menyebabkan iritasi kulit dan reaksi alergi pada orang yang sensitif terhadap alkohol serta insiden permasalahan kulit tangan, seperti kemerahan, nyeri, gatal, dan rasa seperti terbakar yang lebih tinggi pada petugas kesehatan selama pandemi COVID-19 berkaitan dengan meningkatnya frekuensi penggunaan pembersih tangan.

Kitooligosakarida atau oligokitosan merupakan produk yang dihasilkan melalui proses depolimerisasi kitosan (senyawa turunan kitin) melalui pemutusan ikatan glikosidik yang dapat larut dalam air (Pari *et al.*, 2022). Senyawa ini dapat diperoleh dari berbagai sumber di alam, seperti kelompok crustaceae, arthropoda, moluska, insekta dan fungi. Kitin yang terkandung di beberapa hewan, yaitu pada kepiting 50-60%, udang 42-57%, cumi-cumi 40%, dan kerang 14-35% (Hardani *et al.*, 2021). Kulit udang yang dijual di pasar masih kurang dimanfaatkan dan hanya dibuang begitu saja, sehingga dapat menyebabkan pencemaran lingkungan (Agustina *et al.*, 2015). Penelitian Hardani *et al.*, (2021), kitosan dan turunannya bermanfaat sebagai zat antitumor, neuroprotektif, antijamur, antibakteri dan anti-inflamasi. Mekanisme anti bakteri kitooligosakarida sebagai derivat dari kitosan dapat mengganggu stabilitas membran sel bakteri serta menghambat aliran nutrisi yang masuk ke dalam sel bakteri sehingga menyebabkan kematian sel (Li *et al.*, 2010). Sifat antibakteri yang terkandung dalam kitooligosakarida dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat *hand sanitizer* yang berpotensi dapat mencegah resistensi bakteri di tangan terhadap alkohol. Menurut Magani *et al.*, (2020), nanopartikel kitosan dengan konsentrasi 0,5% mampu memberikan penghambatan yang baik terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus aureus* maupun *Escherichia coli*.

Penelitian ini, kitooligosakarida dibuat menjadi gel *hand sanitizer* menggunakan formulasi gel yang mengacu pada penelitian Supomo *et al.*, (2016) yang mengandung bahan-bahan penunjang, seperti propilenglikol, metil paraben, dan *essence* lemon untuk mempertahankan kualitas dan stabilitas gel. Formulasi dalam Supomo *et al.*, (2016) menggunakan konsentrasi basis gel NaCMC yang berbeda-beda. Peneliti melakukan perlakuan yang berbeda dengan membuat konsentrasi kitooligosakarida yang berbeda pada setiap formulasi gel *hand sanitizer* serta akan digunakan konsentrasi Na CMC yang sama untuk setiap formulasi, yaitu 1% dengan tujuan kekentalan *hand sanitizer* yang dihasilkan lebih rendah sehingga bahan aktif yang dikandung dapat lebih mudah terserap ke dalam kertas cakram dan daya sebar gel menjadi lebih baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik warna, bentuk, aroma, pH, homogenitas, dan daya sebar dari *hand sanitizer* berbahan dasar kitooligosakarida, mengetahui daya hambat *hand sanitizer* berbahan dasar kitooligosakarida terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta untuk mengetahui penurunan jumlah mikroba pada tangan dari sebelum ke sesudah penggunaan *hand sanitizer* kitooligosakarida. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan referensi ilmiah dalam pembuatan *hand sanitizer* non-alkohol khususnya dari bahan kitooligosakarida.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan bahan

2.1.1. Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu oven, *biology safety cabinet* (Esco), cawan uap, neraca analitik (Mettler Toledo), inkubator (Mettmert), lemari pendingin (Expo), *colony counter* (Suntex) dan pH strip (Merck).

2.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu serbuk kitooligosakarida dengan DD 95%, alkohol 70% (Medika), asam setat 4% (Merck), NaCMC sebagai basis *hand sanitizer*, aquades, propilenglikol (Lansida), metil paraben, *essence* lemon, larutan garam fisiologis 0,9%, *Mueller-Hinton Agar* (MHA) (Oxoid), *Plate Count Agar* (PCA) (Oxoid), *Nutrient Agar* (NA) (Pronadisa), *Nutrient Broth* (NB) (Merck), isolat murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, dan *hand sanitizer* komersial berbahan alkohol 70% (Dettol).

2.2. Metode

2.2.1. Formulasi *hand sanitizer* kitooligosakarida

Formulasi *hand sanitizer* dengan bahan kitooligosakarida dibuat berdasarkan formulasi dalam Supomo *et al.*, (2016) dengan penyesuaian ditinjau dari hasil penelitian tersebut sesuai dengan kondisi Tabel 1. Bahan disiapkan dan ditimbang. NaCMC dikembangkan dalam

aquades hingga membentuk basis gel, kemudian metil paraben dilarutkan dalam propilenglikol panas. Kitoooligosakarida murni dalam bentuk serbuk dilarutkan homogen dalam asam asetat 4% cair dan ditambahkan ke dalam basis gel yang telah dibuat. Campuran ditambahkan essens lemon serta aquades steril kemudian diaduk hingga homogen.

Tabel 1. Formulasi *hand sanitizer* dengan bahan kitoooligosakarida dibuat berdasarkan formulasi dalam Supomo *et al.*, (2016).

Komposisi	Formula 1 (F1)	Formula 2 (F2)	Formula 3 (F3)
NaCMC	1 gram	1 gram	1 gram
CH ₃ COOH 4%	20 mL	20 mL	20 mL
Propilenglikol	2 mL	2 mL	2 mL
Metil paraben	0,002 gram	0,002 gram	0,002 gram
Essens lemon	3 gtt	3 gtt	3 gtt
Kitoooligosakarida (COS)	1 gram	1,5 gram	2 gram
Aquades	hingga 100 mL	hingga 100 mL	hingga 100 mL

2.2.2. Evaluasi stabilitas fisik sediaan *hand sanitizer* kitoooligosakarida

Stabilitas fisik *hand sanitizer* kitoooligosakarida meliputi uji warna, tekstur, aroma, pH, uji homogenitas, dan uji daya sebar.

- Uji organoleptik

Pengujian mutu produk *hand sanitizer* kitoooligosakarida secara fisik yaitu dengan dilihat dari segi warna, tekstur, dan aroma dari sediaan. Tekstur dilihat dari sediaan yang mampu mengalir dalam wadah ketika wadah dimiringkan. Warna dilihat dengan latar belakang kertas putih disertai penerangan lampu. Aroma dicium dengan cara mengibaskan tangan di atas sediaan yang telah jadi.

- Uji pH

Nilai pH dalam produk *hand sanitizer* perlu diukur secara berkala sebagai salah satu indikator stabilitas fisik produk yang tidak cepat berubah selama masa penyimpanan dan memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan kertas pH universal pada suhu kamar (Supomo *et al.*, 2016)

- Uji homogenitas

Homogenitas diamati untuk mengetahui ada atau tidaknya gumpalan dalam produk yang menandakan senyawa terlarut tidak tercampur secara merata dalam sediaan. Sediaan diamati ada atau tidaknya gumpalan kasar setelah dilakukan masa penyimpanan selama 4 minggu. Ada atau tidaknya gumpalan dilihat dengan mengoleskan produk *hand sanitizer* pada sebuah kaca dan ditutup dengan kaca penutup.

- Uji daya sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan satu tetes cairan *hand sanitizer* diteteskan pada cawan petri kemudian ditindih dengan beban sebesar 150 gram di atasnya dan didiamkan selama satu menit. Kemudian diameter cairan diukur menggunakan penggaris. Evaluasi stabilitas *hand*

sanitizer dilakukan setiap satu minggu sekali selama masa penyimpanan 4 minggu (Yati *et al.*, 2018).

- Uji daya hambat *hand sanitizer*

Uji daya hambat dilakukan terhadap isolat murni *S. aureus* (gram positif) dan *E. coli* (gram negatif). Masing-masing bakteri disubkultur pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sebelum digunakan untuk pengujian. Kultur bakteri yang tumbuh kemudian diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam larutan garam fisiologis 0,9% dan dihomogenkan. Kekeruhan larutan dibandingkan dengan standar *mcFarland* 0,5 melalui visualisasi garis pada *wickerham card*. Bakteri diambil menggunakan *cotton swab steril* kemudian diusapkan secara merata ke seluruh permukaan media MHA. Cakram kertas berdiameter 6 mm direndam ke dalam masing-masing untuk *hand sanitizer* kitooligosakarida konsentrasi 1 g, 1,5 g, dan 2 g, alkohol 70% komersial sebagai kontrol positif, dan aquades steril sebagai kontrol negatif. Pencelupan cakram kertas dilakukan selama 60 menit. Cakram diletakkan pada *plate* agar yang sama dengan membagi *plate* menjadi 5 bagian. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali kemudian media MHA diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

- Uji penurunan angka mikroba pada tangan

Tahapan uji penurunan angka mikroba pada tangan berdasar penelitian yang telah dilakukan oleh Nurwaini & Saputri, (2018), Situmeang & Sembiring, (2019), dan Radji & Suryadi, (2007) dengan penyesuaian. Metode yang digunakan yaitu *swabbing* dengan responden sebanyak 5 orang. Responden diminta untuk membasuh tangan dengan air mengalir selama 20 detik kemudian menggosokkan kedua telapak tangan supaya mikroba homogen. Kemudian *cotton swab steril* dicelupkan ke dalam media NB dan diusapkan dengan kuat pada salah satu jari tangan dari arah distal ke arah proksimal sebanyak 3 kali. *cotton swab* kemudian digoreskan secara merata pada media *plate count agar* pada cawan petri.

Formulasi *hand sanitizer*, kontrol positif, dan kontrol negatif diambil dan dioleskan secara merata pada jari tangan. *Hand sanitizer* alkohol 70% komersial sebagai kontrol positif dioleskan pada ibu jari. Aquades steril sebagai kontrol negatif dioleskan pada jari telunjuk. *Hand sanitizer* kitooligosakarida formula 1 dioleskan pada jari tengah, formula 2 pada jari manis, dan formula 3 pada jari kelingking. *Swabbing* dilakukan kembali pada masing-masing jari setelah *hand sanitizer* yang diusapkan mengering. *Cotton swab* digores secara merata pada media PCA.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Stabilitas fisik *hand sanitizer* kitooligosakarida

Sediaan *hand sanitizer* kitooligosakarida formula 1, formula 2, dan formula 3 memiliki stabilitas fisik yang baik meskipun telah melalui masa penyimpanan selama empat minggu. Hal

tersebut ditandai dengan tidak adanya perubahan pada warna, bau, tekstur, homogenitas, dan pH masing-masing sediaan *hand sanitizer* kitooligosakarida. Sediaan *hand sanitizer* tetap berwarna keruh (warna yang keruh dilihat melalui badan botol dengan bantuan latar hitam, di mana latar hitam tidak terlihat karena terhalang warna sediaan dalam botol), kental (tekstur semi-solid). Sediaan mengalir dalam wadah tetapi lebih lambat daripada air, serta tidak ada perubahan aroma pada essens lemon yang digunakan sehingga sediaan masih berbau lemon. Stabilitas *hand sanitizer* kitooligosakarida dapat dilihat pada Tabel 2 serta gambaran produk *hand sanitizer* kitooligosakarida dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 2. Stabilitas *hand sanitizer* kitooligosakarida yang melewati masa penyimpanan selama 4 minggu.

Parameter Uji	Formula		
	1	2	3
Warna	Keruh	Keruh	Keruh
Bau	Lemon	Lemon	Lemon
Tekstur	Kental	Kental	Kental
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
pH	6,00 ± 0,82	6,00 ± 0,82	6,00 ± 0,82
Daya sebar (cm)	6,68 ± 0,43	5,83 ± 0,15	5,18 ± 0,42

Hand sanitizer dalam bentuk gel lebih disukai oleh masyarakat (Asngad *et al.*, (2018) dalam Rasid *et al.*, (2021). *Hand sanitizer* yang homogen sehingga lembut dan tidak terdapat gumpalan kasar serta dengan ditamhkannya *essens* lemon yang menghilangkan bau kimia dari komposisi *hand sanitizer* menjadi berbau lemon sehingga *hand sanitizer* lebih disukai oleh masyarakat. Kitooligosakarida yang digunakan dapat larut dengan baik dan memiliki rerata pH 6 sehingga sediaan *hand sanitizer* tetap homogen dan sesuai dengan pH yang dianjurkan untuk kulit. Sediaan juga memiliki daya sebar yang baik sehingga lebih nyaman apabila digunakan pada kulit. Konsentrasi kitooligosakarida dalam formulasi berbanding lurus dengan kekentalan sediaan *hand sanitizer*, sedangkan kekentalan berbanding terbalik dengan daya sebar sediaan. Konsentrasi kitooligosakarida yang tinggi akan menyebabkan sediaan *hand sanitizer* memiliki kekentalan yang tinggi, sedangkan kekentalan yang tinggi akan menyebabkan sediaan memiliki daya sebar yang kecil. Daya sebar yang baik menandakan bahwa *hand sanitizer* dapat menyebar dan menjangkau bagian kulit tangan dengan baik meskipun hanya digunakan sedikit. Daya sebar sediaan *hand sanitizer* yang terbaik ditunjukkan oleh formula 1 dengan rerata daya sebar yaitu 6,68 ± 0,43 cm dengan kekentalan sediaan yang paling rendah dibanding formula 2 dan 3. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan bahwa sediaan *hand sanitizer* yang baik memiliki stabilitas baik yang ditunjukkan oleh tidak adanya perubahan fisik selama penyimpanan (Megawati *et al.*, 2015), memiliki pH 6-8 yang sesuai dengan pH kulit (Rohmani & Kuncoro, 2019), serta memiliki daya sebar yang baik, yaitu 5-7 cm (Yati *et al.*, 2018). Formulasi *hand sanitizer* kitooligosakarida juga telah menghasilkan produk dengan pH yang telah memenuhi

standar SNI yaitu pH berada pada rentang 4-10 (Badan Standarisasi Nasional, 2017). Namun, kandungan total bahan aktif dalam sediaan masih belum memenuhi standar SNI yaitu sebanyak 10%.



Gambar 1. Produk hasil hand sanitizer dengan bahan aktif kitooligosakarida formula 1, 2 dan 3.

3.2. Daya hambat *hand sanitizer* kitooligosakarida terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Hand sanitizer dengan bahan aktif kitooligosakarida dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* secara in vitro. *Hand sanitizer* formula 2 dan 3 memiliki daya hambat yang kuat terhadap *S. aureus* dan *E. coli* serta memiliki daya hambat yang lebih tinggi daripada *hand sanitizer* alkohol komersial. *Hand sanitizer* formula 1 memiliki daya hambat yang lebih kuat terhadap *E. coli* daripada *S. aureus*, namun *hand sanitizer* formula 1 memiliki daya hambat yang lebih lemah daripada formula 2 dan 3. Perbedaan daya hambat *hand sanitizer* formula 1 terhadap *E. coli* daripada *S. aureus* dapat disebabkan oleh *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki perbedaan struktur dinding sel dengan bakteri gram positif seperti *S. aureus* sehingga menyebabkan perbedaan respon kedua golongan bakteri terhadap kitooligosakarida. Penelitian Damayanti *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri gram negatif lebih mudah dihambat karena memiliki dinding sel yang lebih tipis (peptidoglikan 10% dan lipid yang tinggi sebesar 11-22%) serta lebih mudah dirusak dibandingkan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel tebal. Daya hambat masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

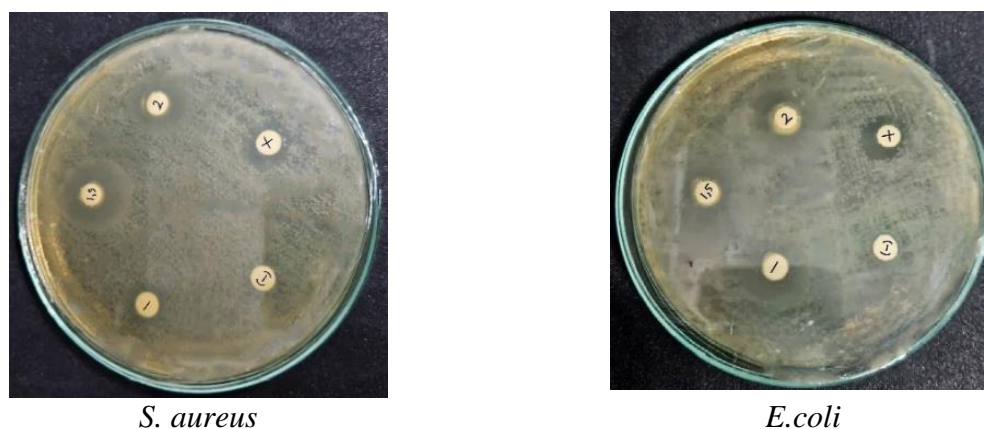
Tabel 3. Daya hambat perlakuan *hand sanitizer* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. ^{a, b, p, q} = pangkat huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan rerata tidak berbeda secara signifikan antar kelompok perlakuan berdasar *Tukey HSD post hoc* ($P < 0,05$); (-) = tidak ada daya hambat (Hikmat *et al.*, 2022).

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)		Kategori	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Hand sanitizer</i> alkohol 70%	13,67 ± 1,53 ^a	12,67 ± 1,53	Lemah	Lemah
Aquades steril	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
Formula 1	14,33 ± 3,51 ^a	17,33 ± 0,58 ^p	Lemah	Sedang
Formula 2	21,33 ± 2,08 ^b	20,33 ± 1,53 ^{pq}	Kuat	Kuat
Formula 3	20,67 ± 2,52 ^b	22,33 ± 2,52 ^q	Kuat	Kuat

Rerata ukuran diameter zona penghambatan pada kultur bakteri *E. coli* oleh masing-masing formulasi *hand sanitizer* kitooligosakarida meningkat seiring peningkatan konsentrasi

kitooligosakarida yang terkandung dalam sediaan *hand sanitizer*. *Hand sanitizer* formula 3 memiliki daya hambat yang paling optimal, hal ini menunjukkan bahwa sediaan *hand sanitizer* dengan konsentrasi kitooligosakarida yang semakin tinggi memiliki kemampuan penghambatan yang lebih baik terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*. Hal ini sesuai dengan penelitian Chamidah *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi kitooligosakarida dalam sediaan *hand sanitizer*, maka akan memicu kemampuan penghambatan bakteri yang semakin besar.

Hand sanitizer formula 2 memiliki aktivitas penghambatan yang paling baik pada *S. aureus*, hal tersebut sedikit berbeda dengan efek penghambatan masing-masing formula *hand sanitizer* pada *E. coli*. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh konsentrasi kitooligosakarida sebesar 1,5 g merupakan konsentrasi dengan aktivitas paling optimal dalam menghambat *S. aureus* sehingga tidak memberikan perbedaan daya hambat yang lebih besar apabila dilakukan penambahan konsentrasi kitooligosakarida, sementara pada *E. coli* berbanding lurus antara zona hambat yang terbentuk dengan peningkatan konsentrasi kitooligosakarida yang digunakan pada masing-masing formulasi. Gambaran zona penghambatan masing masing perlakuan terhadap *S. aureus* dan *E. coli* ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Zona penghambatan perlakuan hand sanitizer terhadap kultur *S. aureus* dan *E. coli*. + : kontrol positif; (-) : kontrol negatif; 1 : formula 1; 1,5 : formula 2; 2 : formula 3.

3.3. Penurunan angka koloni mikroba pada tangan

Uji penurunan angka koloni mikroba yang dilakukan terhadap 5 responden menggunakan *hand sanitizer* kitooligosakarida menunjukkan bahwa *hand sanitizer* baik pada formula 1, 2 dan 3 dapat menurunkan jumlah angka koloni mikroba dari sebelum pemakaian ke sesudah pemakaian sediaan *hand sanitizer*. Data penurunan angka koloni mikroba pada tangan dapat dilihat pada Tabel 4.

Konsentrasi kitooligosakarida dalam formulasi *hand sanitizer* berbanding lurus dengan persentase penurunan mikroba. Formula 3 memberikan hasil penurunan angka koloni mikroba terbesar dengan hasil sebesar 80,22%. *Hand sanitizer* formula 1 dan 2 juga memberikan

penurunan angka koloni mikroba pada tangan yaitu berturut-turut sebesar 63,52% dan 75,58%. Penurunan angka koloni mikroba pada masing-masing perlakuan tersebut telah dihitung reratanya dan dibandingkan melalui uji T berpasangan pada SPSS dan diinterpretasikan hasilnya pada Tabel 5.

Tabel 4. Penurunan angka koloni mikroba pada tangan sebelum dan sesudah diberi perlakuan *hand sanitizer*.

Perlakuan	Persentase penurunan (%)
<i>Hand sanitizer</i> alkohol 70%	95,57
Aquades steril	17,38
Formula 1	63,52
Formula 2	75,58
Formula 3	80,22

Konsentrasi kitooligosakarida yang tinggi menyebabkan persentase penurunan mikroba yang semakin besar. Hasil penelitian pada Tabel 5, ketiga formulasi *hand sanitizer* kitooligosakarida memberikan penurunan yang signifikan terhadap jumlah koloni mikroba ($t_{hitung} > t_{tabel}$), sedangkan kontrol positif maupun negatif tidak memberikan perbedaan yang signifikan ($t_{hitung} < t_{tabel}$). Meskipun begitu, pada hasil uji T dari perlakuan kontrol positif yang tidak menunjukkan perbedaan signifikan meski memiliki persentase penurunan mikroba yang besar dapat disebabkan karena rentang data (variasi) yang besar dari masing-masing sampel sehingga menyebabkan standar deviasi kelompok data sesudah perlakuan pada kontrol positif lebih besar dibanding reratanya. Oleh karena standar deviasi merupakan penyimpangan dari rerata, maka jika standar deviasi yang lebih besar daripada reratanya menunjukkan bahwa rerata merupakan representasi yang buruk dari keseluruhan kelompok data tersebut (Khairunisa, 2017). Hal ini juga dapat memengaruhi hasil uji T, di mana uji ini untuk menguji rerata dari dua kelompok sampel.


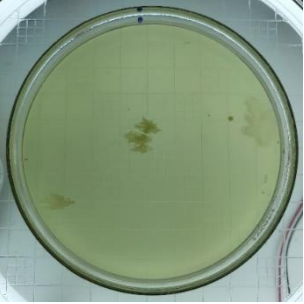
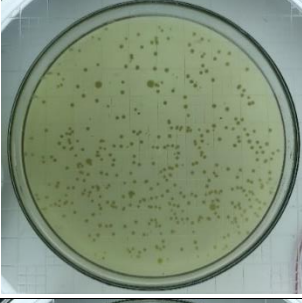
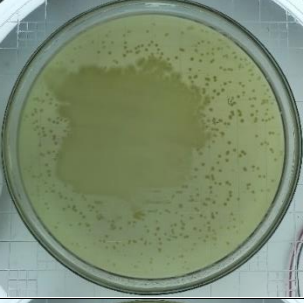



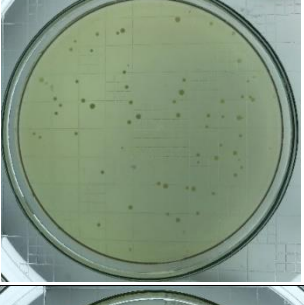
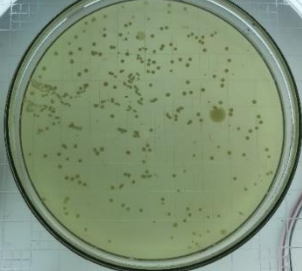
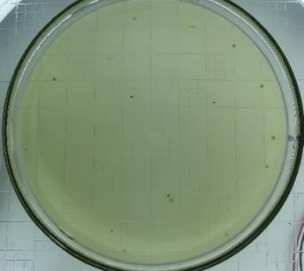
Tabel 5. Analisis statistik penurunan angka koloni mikroba pada tangan sebelum dan sesudah perlakuan *hand sanitizer*.

Perlakuan	Rerata Jumlah Koloni Mikroba		Uji Statistik		Keterangan
	Sebelum	Sesudah	t_{hitung}	t_{tabel} (df=4)	
<i>Hand sanitizer</i> alkohol 70%	94,80 ± 85,21	4,20 ± 4,87	2,464	2,776	Tidak signifikan
Aquades steril	206,00 ± 121,43	170,20 ± 131,14	2,411	2,776	Tidak signifikan
Formula 1	146,40 ± 97,22	53,40 ± 39,82	3,084	2,776	Signifikan
Formula 2	241,60 ± 122,88	59,00 ± 44,86	3,230	2,776	Signifikan
Formula 3	151,00 ± 100,97	27,60 ± 26,42	2,834	2,776	Signifikan

Penurunan mikroba yang terjadi menunjukkan bahwa bahan aktif kitooligosakarida sebagai derivat dari kitosan yang terkandung dalam *hand sanitizer* dapat membunuh bakteri

pada tangan sehingga hanya sedikit bakteri hidup pada tangan yang terambil ketika dilakukan pengusapan atau *swabbing* setelah menggunakan *hand sanitizer*. Gambaran penurunan angka koloni mikroba pada tangan dari sebelum ke sesudah pemberian perlakuan *hand sanitizer* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Gambaran penurunan angka koloni mikroba pada tangan setelah perlakuan menggunakan hand sanitizer alcohol 70%, aquades steril, formula 1, formula 2 dan formula 3.

Perlakuan	Sebelum	Sesudah
<i>Hand sanitizer</i> alcohol 70%		
Aquades steril		
Formula 1		
Formula 2		
Formula 3		

Hand sanitizer kitooligosakarida dalam menurunkan jumlah mikroba pada tangan dapat terjadi akibat senyawa aktif kitooligosakarida dalam sediaan *hand sanitizer* memiliki mekanisme yang dinyatakan dalam Trisnawati *et al.*, (2013) bahwa kitosan akan berikatan dengan protein membran sel, glutamat dan fosfolipid sebagai komponen membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas *inner membrane* (IM). Naiknya IM akan mempermudah keluarnya cairan dan menyebabkan lisisnya sel, oleh karena terdapat sel yang lisis, maka ketika dilakukan *swabbing*, mikroba yang tumbuh telah berkurang karena mati akibat pemberian *hand sanitizer* pada permukaan kulit tangan. Penambahan konsentrasi kitooligosakarida dalam formulasi sediaan *hand sanitizer* menyebabkan penurunan mikroba yang lebih besar. Hal ini dapat dikarenakan semakin banyak senyawa kitooligosakarida sebagai bahan aktif yang terkandung dalam sediaan, maka semakin banyak pula senyawa yang dapat berikatan dengan protein membran pada sel bakteri dan menghasilkan lebih banyak sel bakteri yang tereliminasi.

Hand sanitizer kitooligosakarida dimasukkan ke dalam wadah botol *fliptop* supaya mudah dikeluarkan langsung pada telapak tangan. Penggunaan *hand sanitizer* kitooligosakarida sama dengan *hand sanitizer* alkohol yaitu dengan digosokkan secara merata pada kedua telapak tangan dan ditunggu hingga mengering. *Hand sanitizer* kitooligosakarida juga dapat digunakan untuk orang yang mengalami reaksi kulit kering akibat penggunaan *hand sanitizer* dengan bahan aktif alkohol. Meskipun demikian, *hand sanitizer* kitooligosakarida memiliki beberapa kekurangan seperti pembuatan senyawa murni kitooligosakarida dengan derajat deasetilasi yang tinggi agar menghasilkan aktivitas antimikroba yang lebih besar memerlukan waktu dan bahan baku dalam jumlah yang besar. Penambahan konsentrasi kitooligosakarida menyebabkan kekentalan sediaan gel *hand sanitizer* meningkat dan menurunkan daya sebar sehingga dinilai sulit untuk membuat produk *hand sanitizer* kitooligosakarida dengan persentase total bahan aktif sesuai dengan standar SNI yaitu minimal 10%. Selain itu, *hand sanitizer* kitooligosakarida juga lebih lambat mengering dibandingkan *hand sanitizer* dengan bahan alkohol.

4. Kesimpulan

Hand sanitizer kitooligosakarida telah menunjukkan stabilitas fisik yang baik dengan warna, tekstur, bau yang tidak berubah selama masa penyimpanan, pH sesuai SNI dengan pH 6, dan daya sebar sesuai daya sebar sediaan gel yang baik (5-7 cm), yaitu formula 1 yaitu sebesar 6,68 cm, formula 2 sebesar 5,83 cm, dan formula 3 sebesar 5,18 cm. *Hand sanitizer* kitooligosakarida formula 2 dan 3 memiliki daya hambat yang kuat pada bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. *Hand sanitizer* dengan penghambatan *E. coli* yang paling baik yaitu pada formula 3. Penghambatan bakteri oleh formula 2 dan 3 lebih baik secara signifikan dibanding penghambatan oleh formula 1 pada kultur *S. aureus*. *Hand sanitizer* formula 3 memberikan persentase penurunan angka koloni mikroba pada tangan yang paling besar, yaitu 80,22%,

sedangkan formula 1 sebesar 63,52% dan formula 2 sebesar 75,58%. Persentase penurunan koloni mikroba meningkat berbanding lurus dengan konsentrasi kitooligosakarida dalam formulasi sediaan *hand sanitizer*.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih kepada orang tua, bapak/ibu dosen program studi S1 Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta atas dukungan dan bimbingan sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik dan lancar.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Agustina, S., Swantara, I. M., dan Suartha, I. (2015). Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia*, 9(2), 271–278.
- Badan Standarisasi Nasional. (2017). *SNI 2588:2017 Sabun Cair Pembersih Tangan*. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- Bakkali, M., dan Hmid, K. (2016). Characterization of Bacterial Strains and their Resistance Status in Hospital Environment. *Journal of Tropical Diseases*, 4(180), 2.
- Chamidah, A., Widiyanti, C. ., dan Fabiyani, N. (2019). Pemanfaatan Kitosan Larut Air sebagai Hand sanitizer Antiseptik. *Jurnal Perikanan*, 21(1), 9–16.
- Damayanti, W., Rochima, E., dan Hasan, Z. (2016). Aplikasi Kitosan Sebagai Antibakteri Pada Filet Patin Selama Penyimpanan Suhu Rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3), 321–328.
- Faturrahman, M.A., dan Rahmawati, R.K. (2019). Deteksi Keberadaan Bakteri Staphylococcus di Udara dalam Ruangan Pasar Tradisional Kota Pontianak. *Jurnal Protobiont*, 8(2).
- Hardani, P. T., Perwito, D., dan Mayzika, N. A. (2021). Review Artikel : Isolasi Kitin dan Kitosan dari Berbagai Sumber Bahan Alam. *Prosiding Seminar Nasional Hasil Riset Dan Pengabdian*. Surabaya, Universitas PGRI Adi Buana.
- Hikmat, D.J., Filmaharani, Yaya, Halid, N.H.A., dan Pusmarani, J. (2022). Formulasi Gel Hand sanitizer dari Ekstrak Metanol Kulit Semangka (*Citrullus lanatus*). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 8(1), 11-23.
- Inder, D., dan Kumar, P. (2020). Isopropyl Alcohol (70%)-Based Hand sanitizer -Induced Contact Dermatitis : A Case Report Amid COVID-19. *Indian Journal Case Reports*, 6(7), 403–405. <https://doi.org/10.32677/IJCR.2020.v06.i07.017>
- Khairunisa, U. (2017). Analisis Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pengangguran Terbuka di Kota-Kota Provinsi Jawa Tengah (Periode 2010-2015), *Doctoral dissertation*, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Li, X., Feng, X., Yang, S., Fu, G., Wang, T., dan Su, Z. (2010). Chitosan Kills *Escherichia coli* Through Damage to be of Cell Membrane Mechanism. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 493–499. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.011>
- Magani, A.K., Tallei, T.E., dan Kolondam, B.J. (2020). Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7-12.
- Marhamah, M., Ujjani, S., dan Tuntun, M. (2019). Kemampuan Sabun Antiseptik Cair yang Mengandung Triclosan yang Terdaftar di BPOM dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan*, 10(1), 17.
- Megawati, Roosevelt, A., dan Akhir, L. (2015). Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebagai Obat Sariawan Menggunakan Variasi Konsentrasi Basis Carbpol. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 5(1),

- 5–10.
- Nurwaini, S., dan Saputri, I. . (2018). Pengujian Sifat Fisik dan Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel *Hand sanitizer* Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain). In *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1(3). Medan, Talenta Publisher.
- Pari, R.F., Mayangsari, D., dan Hardiningtyas, S.D. (2022). Depolimerisasi Kitosan dari Cangkang Udang dengan Enzim Papain dan Iradiasi Sinar Ultraviolet. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 25(1), 118-131.
- Pidot, S. J., Gao, W., Buultjens, A. H., Monk, I. R., Guerillot, R., Carter, G. P., Lee, J. Y. H., Lam, M. M. C., Grayson, M. L., Ballard, S. A., Mahony, A. A., Grabsch, E. A., Kotsanas, D., Korman, T. M., Coombs, G. W., Robinson, J. O., Gonçalves, A., Seemann, T., Howden, B. P., Johnson P. D. R., dan Stinear, T. P. (2018). Increasing Tolerance of Hospital *Enterococcus faecium* to Handwash Alcohols. *Science Translational Medicine*, 10(452).
- Rachmawati R., P. T. Ningrum, dan R. S. P. (2015). Praktik Higiene Personal dan Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* pada Tangan Penjamah Makanan (Studi pada Pedagang Kaki Lima di Jalan Kalimantan Kecamatan Summersari Kabupaten Jember). *Artikel Ilmiah Mahasiswa*. Jember, UNEJ Press. <http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/72293>
- Radji, M., dan Suryadi, H. (2007). Uji Efektivitas Antimikroba Beberapa Merek Dagang Pembersih Tangan Antiseptik. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 4(1), 1–6.
- Rasid, S. I., Mursyanti, E., dan Sidharta, B. R. (2021). Potensi Antibakteri Ekstrak Tanaman Suku Rubiaceae dan Aplikasinya dalam Sediaan Hand sanitizer. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 6(2), 95–110. <https://doi.org/10.24002/biota.v6i2.4165>
- Rohmani, S., dan Kuncoro, M. A. A. (2019). Uji Stabilitas dan Aktivitas Gel Handsanitizer Ekstrak Daun Kemangi. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(01), 16–28. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i1.27212>
- Saha, T., Khadka, P., dan Das, S. C. (2021). Review Alcohol-based *Hand sanitizer* – composition, proper use and precautions. *GERMS*, 11(3), 408.
- Silakhudin, A. R., dan Fatmawati, D. (2015). Affectivity of Repeatly Used Alcohol towards Inhibition of Bacteria *Streptococcus mutans*. *Jurnal Riset Kesehatan*, 4(3), 807–812.
- Situmeang, S. M. ., dan Sembiring, T. (2019). Efektivitas Hand sanitizer dalam Membunuh Kuman di Tangan. *Jurnal Analis Laboratorium Medis*, 1(1), 6–11.
- Supomo, Sukawaty, Y., dan Baysar, F. (2016). Formulasi Gel Hand sanitizer dari Kitosan dengan Basis Karboksimetil Selulosa. In *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. Samarinda, Unmul Press
- Susatyo, J.H. (2016). Perbedaan Pengaruh Pengolesan dan Perendaman Alkohol 70% Terhadap Penurunan Angka Hitung Kuman Pada Alat Kedokteran Gigi. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 2(2), 160–164.
- Trisnawati, E., Andesti, D., dan Saleh, A. (2013). Pembuatan Kitosan dari Limbah Cangkang Kepiting Sebagai Bahan Pengawet Buah Duku Dengan Variasi Lama Pengawetan. *Jurnal Teknik Kimia*, 19(2), 17–26.
- Yati, K., Jufri, M., Gozan, M., dan Dwita, L. P. (2018). Pengaruh Variasi Konsentrasi Hidroxy Propyl Methyl Cellulose (HPMC) terhadap Stabilitas Fisik Gel Ekstrak Tembakau (*Nicotiana tabaccum* L.) dan Aktivitasnya terhadap *Streptococcus mutans*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(3), 133–141.

