

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Kitosan Sebagai Bahan Baku

Karakteristik yang dilakukan untuk kitosan meliputi rendemen dan nilai derajat deasetilasi. Dalam pembuatan kitosan dilakukan dalam 4 tahap utama, dimulai dari proses pengeringan, demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi. Hasil karakteristik kitosan (rendemen dan derajat deasetilasi) dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil karakteristik kitosan dan penelitian lainnya

No.	Karakteristik	Hasil (%)	Penelitian Lainnya (%)
1	Rendemen	71,2	67,08 (Agustina <i>et al.</i> , 2015)
2	Derajat Deasetilasi	74	>70 (Khan <i>et al.</i> , 2002)

Dalam setiap proses pembuatannya, bahan pasti akan mengalami penurunan berat bahan. Oleh karena itu dilakukan perhitungan rendemen guna menentukan tingkat efektifitas suatu proses. Semakin besar rendemennya maka semakin tinggi pula nilai ekonomis produk tersebut, begitu pula nilai efektivitas dari produk tersebut (Amiarso, 2003). Pada penelitian ini menggunakan *flake* kulit udang vaname kering sebanyak 4,7 kg. Hasil proses demineralisasi sebanyak 1.87 kg dengan rendemen *flake* sebesar 39,48% dan diperoleh kitin sebanyak 955 g dengan rendemen sebesar 51%. Selanjutnya diperoleh kitosan berbentuk serbuk berwarna putih krem sebanyak 680 g sehingga diperoleh rendemen sebesar 71,2%. Rendemen kitosan pada penelitian ini lebih besar jika diperbandingkan dengan penelitian Agustina *et al.* (2015), yang menghasilkan rendemen kitosan kulit udang sebesar 67,08%.

Kitosan kulit udang vaname pada penelitian ini juga memiliki derajat deasetilasi sebesar 74% dimana hal ini sudah sesuai pada pernyataan Khan

et al. (2002) bahwa suatu bahan dikatakan kitosan jika memiliki derajat deasetilasi sebesar >70%. Derajat deasetilasi adalah suatu parameter mutu kitosan yang menunjukkan persentase gugus asetil yang dapat dihilangkan dari rendemen kitin maupun kitosan. Proses deasetilasi akan menentukan derajat deasetilasi kitosan. Proses penambahan NaOH akan menghilangkan gugus asetil pada kulit udang. Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil kitosan semakin rendah (Knoor, 1982), hal ini disebabkan terjadi interaksi antara ion dan ikatan hidrogennya akan semakin kuat. Pelepasan gugus asetil dari kitosan menyebabkan kitosan bermuatan positif yang mampu mengikat senyawa bermuatan negatif, seperti protein, anion polisakarida membentuk ion netral (Suhartono, 1989).

4.2 Karakteristik Kitosan Larut Air

Kitosan larut air yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil terbaik dari penelitian Widiyanti (2018) dengan perlakuan konsentrasi 13% H₂O₂ dan suhu pemanasan 40°C selama 4 jam. Karakteristik kitosan larut air pada penelitian Widiyanti (2018) dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Karakteristik kitosan larut air

No.	Komposisi	Hasil (%)
1	Rendemen	3,5
2	Kadar Air	10,6
3	Kelarutan	90
4	Derajat Deasetilasi	94,21

Kitosan larut air ini memiliki kelebihan, yaitu dapat larut dalam air atau akuades. Hal ini terjadi karena adanya proses depolimerisasi kitosan menggunakan H₂O₂ yang dapat menurunkan berat molekul kitosan. Sehingga ketika berat molekul kitosan semakin rendah, maka akan semakin mudah larut

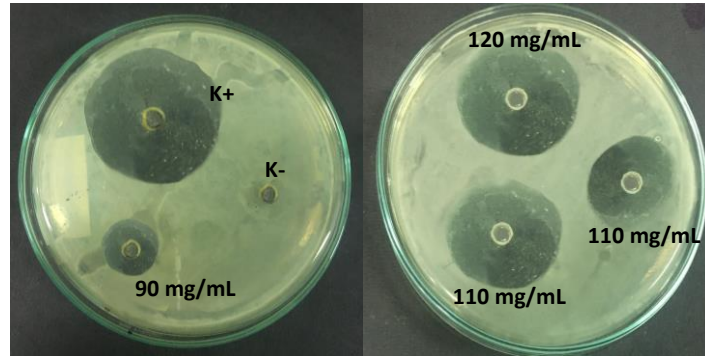
dalam air, berbeda dengan kitosan biasa yang hanya dapat larut dalam asam asetat karena memiliki berat molekul yang tinggi (Qin *et al.*, 2002).

Pada penelitian ini menggunakan kitosan larut air hasil terbaik penelitian Widiyanti (2018). Kelebihan kitosan larut air hasil penelitian Widiyanti (2018) ini memiliki derajat deasetilasi (DD) sebesar 94,21%. Nilai DD ini lebih tinggi jika dibandingkan derajat deasetilasi kitosan sebelumnya yang memiliki DD sebesar 74%, karena menurut Chung *et al.* (2007), tingginya derajat deasetilasi (DD) dapat meningkatkan aktifitas antimikrobal kitosan. Hal ini diharapkan bahwa kitosan larut air yang dihasilkan berpotensi sebagai antibakteri yang lebih baik dibandingkan kitosan biasa. Selain itu, tingginya DD menurut Khan *et al.* (2002), menyebabkan semakin banyak jumlah gugus amina pada kitosan, sehingga jumlah gugus amina yang terprotonasi dalam kondisi asam juga meningkat dan akhirnya dapat larut sempurna, selain itu akan meningkatkan peluang kitosan berinteraksi dengan muatan negatif pada dinding sel mikroorganisme.

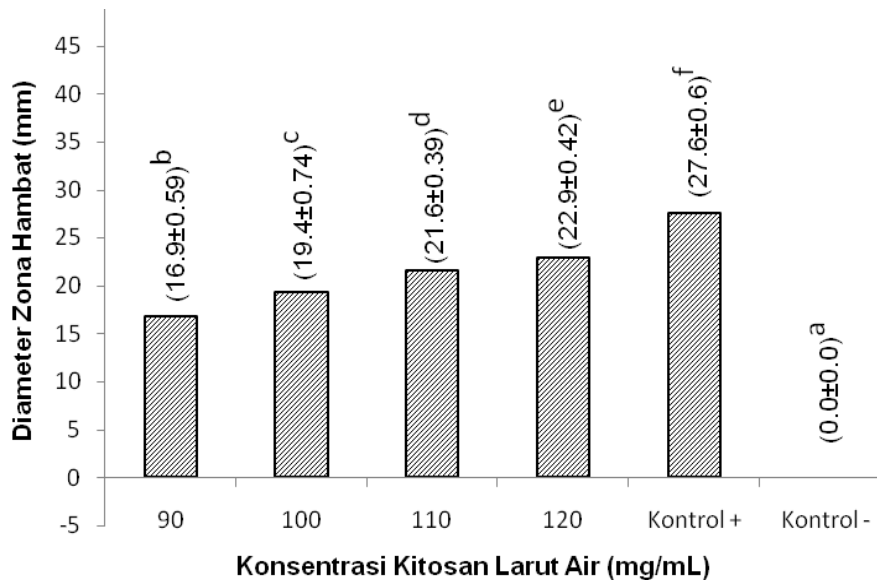
4.3 Uji Antibakteri Kitosan Larut Air Terhadap *Staphylococcus aureus*

Metode sumuran dilakukan untuk mengetahui pengaruh kitosan larut air terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan mengukur diameter zona hambatnya. Hasil uji antibakteri kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* rata-rata 16,9 - 22,9 mm. Hasil analisa data ANOVA menunjukkan bahwa uji antibakteri kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* berbeda nyata ($P < 0,05$) sehingga dilanjutkan pada uji Tukey 5% yang menunjukkan notasi yang berbeda pada setiap konsentrasi seperti yang terlihat pada grafik Gambar 9. Hasil zona hambat kitosan larut air dengan konsentrasi terbaik terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 8. Uji

antibakteri kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan ANOVA dan perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 12.



Gambar 8. Zona hambat kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus*



Gambar 9. Grafik zona hambat kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

Perbedaan notasi huruf dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) dan jika ada persamaan notasi huruf dibelakang angka menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Uji difusi sumuran yang dilakukan menggunakan kitosan larut air dengan konsentrasi 90, 100, 110, dan 120 mg/ mL, kontrol positif menggunakan tetrasiklin (50 µg/mL) dan kontrol negatif menggunakan akuades. Akuades digunakan sebagai kontrol negatif karena akuades

merupakan pelarut kitosan larut air. Penentuan konsentrasi yang digunakan pada uji sumuran dapat dilihat pada Lampiran 8. Sedangkan grafik hasil uji difusi sumuran kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 9.

Pada Gambar 9 menunjukkan bahwa akuades sebagai kontrol negatif tidak memiliki kemampuan daya hambat pada *Staphylococcus aureus* dan hanya bersifat sebagai pelarut kitosan larut air. Akuades menurut Tandah (2016) sering digunakan sebagai pelarut zat antibakteri karena bersifat polar dan tidak mempengaruhi zat antibakteri tersebut. Sedangkan Tetrasiklin sebagai kontrol positif memiliki rata-rata zona hambat yang paling besar yaitu sebesar 27,6 mm. Hal ini menunjukkan bahwa tetrasiklin memiliki kemampuan menghambat *Staphylococcus aureus*. Daya hambat tetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* menurut Fatimah *et al.* (2016) sebesar 23 mm dengan konsentrasi 30 µg/mL, artinya peningkatan konsentrasi Tetrasiklin pada penelitian ini yaitu sebesar 50µg/mL mampu menghasilkan zona hambat yang semakin besar pula.

Daya hambat kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 90, 100, 110, dan 120 mg/mL juga menghasilkan zona hambat yang semakin besar. Zona hambat terbesar didapatkan pada konsentrasi 120 mg/mL sebesar 22,9 mm. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa kitosan larut air dan kitosan biasa memiliki siklus kemampuan daya hambat yang berbeda. Kitosan menurut Nurainy *et al.* (2008) memiliki pola daya hambat bakteri yang menurun. Kitosan dengan konsentrasi 0,4% (b/v) menghasilkan zona hambat sebesar 9 mm sedangkan kitosan dengan konsentrasi 0,8% (b/v) menghasilkan zona hambat sebesar 6 mm. Perbedaan ini karena keduanya menggunakan pelarut yang berbeda. Kitosan larut air larut dalam pelarut akuades atau air, sehingga saat adanya

penambahan konsentrasi, serbuk kitosan larut air ini akan larut dalam akuades dan bersifat encer seperti air. Berbeda dengan kitosan biasa, dimana kitosan hanya larut sempurna dalam asam asetat, dimana kitosan ini bersifat kental saat ditambahkan dalam asam asetat. Sehingga dengan meningkatnya konsentrasi, semakin banyak pula serbuk kitosan yang ditambahkan dalam asam asetat, maka kekentalan larutan kitosan pun semakin meningkat mengakibatkan larutan kitosan akan semakin susah berdifusi kedalam permukaan sel bakteri sehingga daya hambat kitosan pun semakin menurun (Setyahadi, 2006).

Proses penghambatan kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* sama dengan kitosan biasa terhadap bakteri. Kitosan dan turunannya menurut Kamala *et al.* (2013) tidak memiliki perbedaan dalam mekanisme menghambatan atau membunuh bakteri dan bersifat tidak dapat menghambat fungi. Prosesnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri menurut Jeon dan Kim (2000) yaitu gugus fungsional amina ($-NH_2$) yang bermuatan positif pada kitosan berikatan dengan dinding sel bakteri yang bermuatan negatif. Ikatan ini terjadi pada situs elektronegatif di permukaan dinding sel bakteri. Selain itu, karena $-NH_3$ juga memiliki pasangan elektron bebas, maka gugus ini dapat menarik mineral Ca^{2+} yang terdapat pada dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan kovalen koordinasi. Interaksi ini menurut Sarjono *et al.* (2008) akan mengganggu pembentukan peptidoglikan sehingga sel tidak mempunyai selubung yang kokoh dan mudah mengalami lisis sehingga aktivitas metabolisme akan terhambat dan pada akhirnya bakteri mengalami kematian.

4.4 Uji MIC dan MBC Kitosan Larut Air Terhadap *Staphylococcus aureus*

MIC merupakan konsentrasi terendah substrat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba sebanyak 90% dari inokulum asal selama inkubasi 24 jam (Cosentino, 1999). Sedangkan MBC menurut Soleha (2015) merupakan konsentrasi terendah antibakteri yang dapat membunuh bakteri. Pada penelitian ini penentuan nilai MIC dan MBC dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar (sumuran) berdasarkan regresi linier (Bloomfield, 1991). Hasil penentuan nilai MIC dan MBC kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Lampiran 9 dan perbandingan nilai MIC dan MBC pada penelitian ini dengan penelitian lainnya dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Perbandingan hasil MIC MBC kitosan larut air dengan kitosan

Keterangan	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	Keterangan
Kitosan larut air	0,27	1,08	Hasil penelitian Islam <i>et al.</i> (2011)
Kitosan	1,2	1,3	

Dalam menentukan nilai MIC dan MBC kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* metode Bloomfield (1991) diperoleh persamaan linear $Y = 90,30x - 7,323$ dengan nilai MIC sebesar 0,27 mg/mL, yang artinya kitosan larut air pada konsentrasi tersebut sudah dapat menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) *Staphylococcus aureus*. Sedangkan nilai MBC nya sebesar 1,08 mg/mL, yang artinya kitosan larut air pada konsentrasi 1,08 mg/mL sudah dapat membunuh (bakterisidal) *Staphylococcus aureus*. Semakin rendah nilai MIC dan MBC, maka suatu ekstrak semakin berpotensi dalam menghambat ataupun membunuh bakteri (Wei *et al.*, 2011). Pada Tabel 12 dapat dilihat bahwa nilai MIC dan MBC kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* lebih kecil dibandingkan nilai MIC dan MIB kitosan hasil

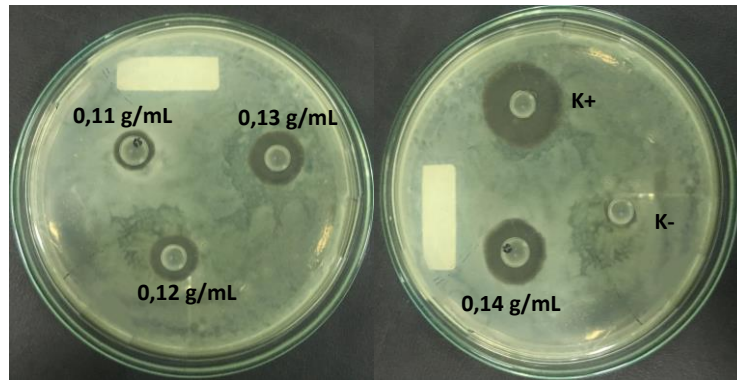
penelitian Islam *et al.* (2011). Hal ini menunjukkan bahwa kitosan larut air dengan konsentrasi lebih rendah telah mampu menghambat ataupun membunuh *Staphylococcus aureus* dibandingkan kitosan biasa.

4.5 Uji Antibakteri *Hand sanitizer* Kitosan Larut Air

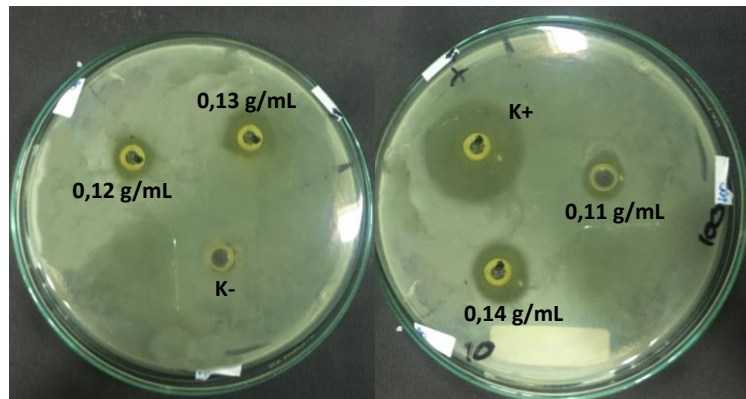
Hasil uji antibakteri *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* rata-rata 11,13 – 14,45 mm, sedangkan hasil uji terhadap *Escherichia coli* rata-rata 7,73 – 9,38 mm. Hasil analisa data menunjukkan bahwa uji antibakteri *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* berbeda nyata ($P < 0,05$) dilanjutkan pada uji Tukey 5%. *Hand sanitizer* menunjukkan notasi yang berbeda pada setiap konsentrasi namun menunjukkan notasi yang sama pada konsentrasi 130 mg/mL dan 140 mg/mL terhadap *Staphylococcus aureus*. Begitu pula terhadap *Escherichia coli* juga menunjukkan notasi yang berbeda. Perbedaan notasi *hand sanitizer* terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada grafik Gambar 12 dan *hand sanitizer* terhadap *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 13. Hasil zona hambat *hand sanitizer* konsentrasi terbaik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 10 dan 11. Uji antibakteri *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan ANOVA dan perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 13 dan Lampiran 14.

Uji difusi sumuran yang dilakukan menggunakan *hand sanitizer* kitosan larut air dengan Formula F0, F1 (0,11 g/mL), F2 (0,12 g/mL), F3 (0,13 g/mL), F4 (0,14 g/mL), dan kontrol positif menggunakan produk komersial *hand sanitizer*. Formula *hand sanitizer* kitosan larut air lebih lengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6. Sedangkan grafik hasil uji difusi sumuran *hand sanitizer*

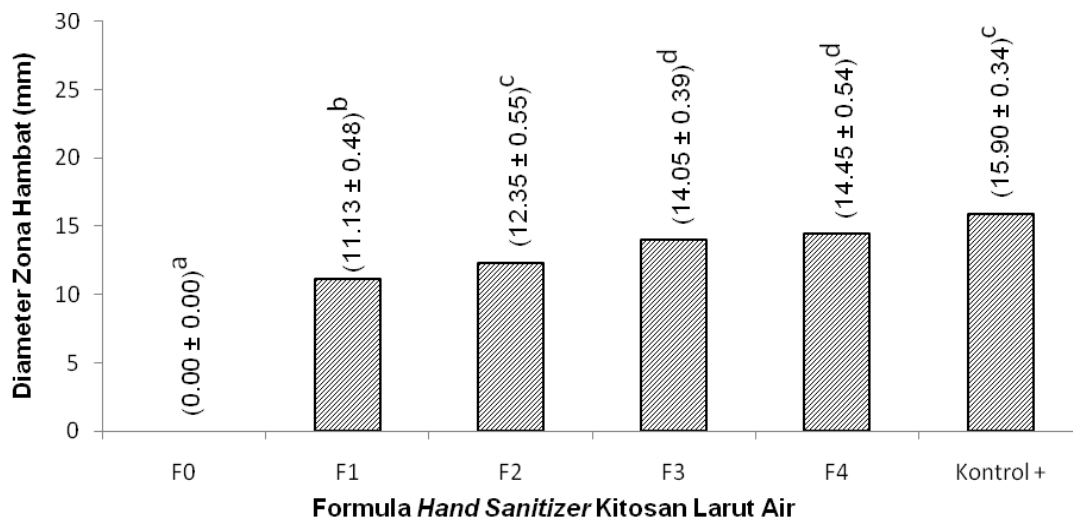
kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 12, sedangkan terhadap *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 10. Zona hambat *hand sanitizer* terhadap *Staphylococcus aureus*



Gambar 11. Zona hambat *hand sanitizer* terhadap *Escherichia coli*

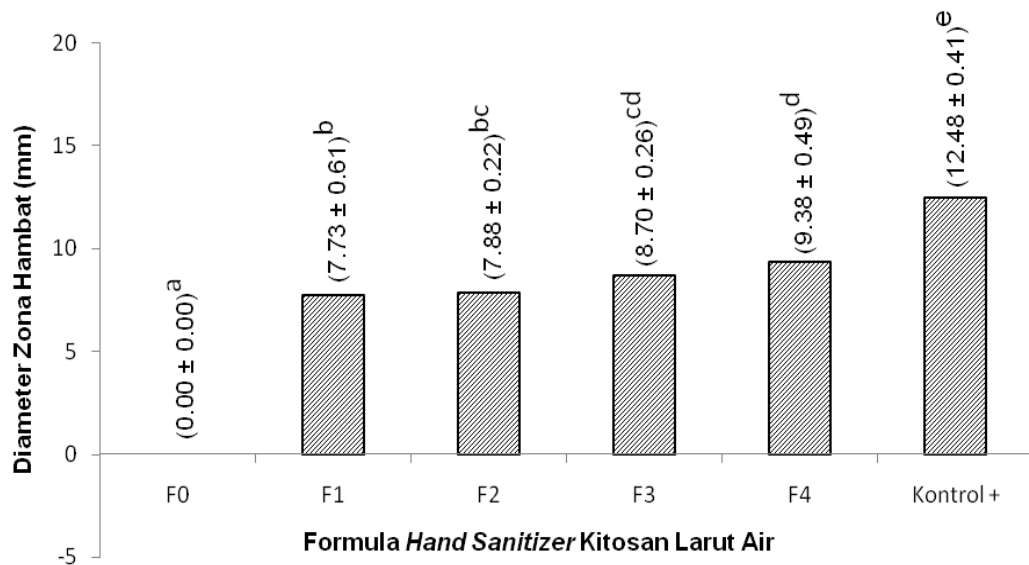


Gambar 12. Grafik zona hambat *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

- Kontrol + = produk komersial
- F0 = *hand sanitizer* formula 0 (0 g/mL)
- F1 = *hand sanitizer* formula 1 (0.11 g/mL)
- F2 = *hand sanitizer* formula 2 (0.12 g/mL)
- F3 = *hand sanitizer* formula 3 (0.13 g/mL)
- F4 = *hand sanitizer* formula 4 (0.14 g/mL)

Perbedaan notasi huruf dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) dan jika ada persamaan notasi huruf dibelakang angka menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)



Gambar 13. Grafik zona hambat *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Escherichia coli*

Keterangan :

- Kontrol + = produk komersial
- F0 = *hand sanitizer* formula 0 (0 g/mL)
- F1 = *hand sanitizer* formula 1 (0.11 g/mL)
- F2 = *hand sanitizer* formula 2 (0.12 g/mL)
- F3 = *hand sanitizer* formula 3 (0.13 g/mL)
- F4 = *hand sanitizer* formula 4 (0.14 g/mL)

Perbedaan notasi huruf dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) dan jika ada persamaan notasi huruf dibelakang angka menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Pada Gambar 12 dan 13 menunjukkan bahwa *hand sanitizer* dengan konsentrasi kitosan larut air yang berbeda yaitu 0, 0,11; 0,12; 0,13 dan 0,14 g/mL menghasilkan zona hambat yang berbeda beda. Semakin tinggi konsentrasi, zona hambat yang dihasilkan semakin besar untuk *Staphylococcus aureus*. Pada Gambar 9 dapat dilihat bahwa zona hambat terbesar terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu pada *hand sanitizer* konsentrasi 0,14 g/mL sebesar 14,45 mm yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan *hand sanitizer* kitosan larut air konsentrasi 130 mg/mL yaitu sebesar 14,05 mm. Begitu pula terhadap *Escherichia coli*, semakin tinggi konsentrasi, zona hambat yang dihasilkan semakin besar pula walaupun tidak begitu signifikan. Pada Gambar 10 dapat dilihat bahwa zona hambat terbesar

terhadap *Escherichia coli* yaitu pada *hand sanitizer* konsentrasi 0,14 g/mL sebesar 9,38 mm.

Dari grafik Gambar 12 dan 13 tersebut juga dapat dilihat bahwa pengaruh *hand sanitizer* terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat lebih besar daripada *Escherichia coli*. Hal ini berarti *hand sanitizer* kitosan larut air lebih mudah terdifusi oleh *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif) daripada *Escherichia coli* (bakteri gram negatif) karena bakteri ini merupakan bakteri gram positif yang memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid rendah (1-4%) dan terdapat banyak pori-pori pada lapisan peptidoglikannya. Adanya pori-pori ini membuat cairan produk lebih mudah masuk ke dalam sel bakteri yang kemudian mengganggu metabolisme dan menyebabkan kematian bakteri (Li *et al.*, 2007). Sedangkan *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel lebih kompleks yaitu adanya lipoprotein, lipopolisakarida, dan fosfolipid serta kandungan lipid dinding sel yang tinggi (11-12%). Adanya fosfolipid ini dapat mengurangi masuknya zat antibakteri ke dalam sel bakteri (Fatisa, 2013).

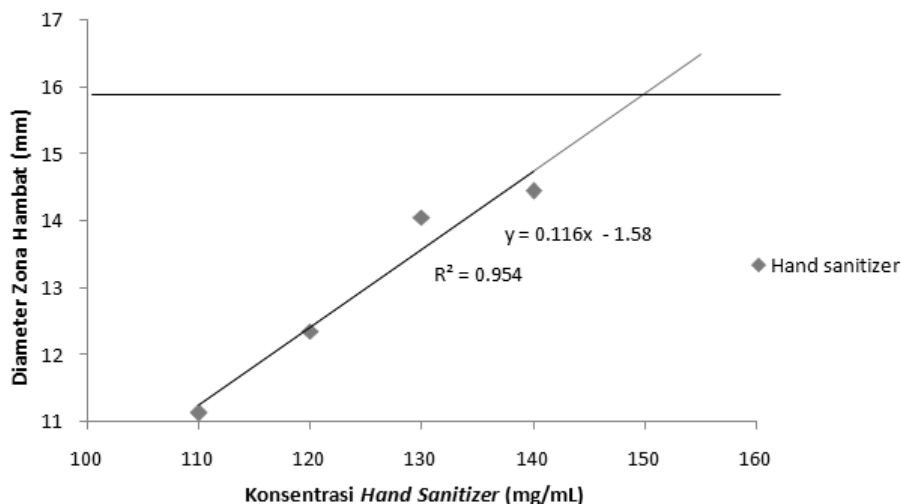
Zona hambat *hand sanitizer* terhadap kedua bakteri tersebut, tidak lah lebih besar jika dibandingkan dengan kontrol + yang merupakan produk komersial yang menghasilkan zona hambat sebesar 15,9 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan sebesar 12,5 mm terhadap *Escherichia coli*. Produk komersial ini mengandung alkohol sebagai komposisi utamanya. Dimana alkohol merupakan salah satu bahan antiseptik yang memiliki kemampuan hambat yang besar terhadap berbagai bakteri (Jones, 2000).

Hasil perbandingan antara rata-rata total zona hambat kitosan larut air dengan *hand sanitizer* kitosan larut air dapat dilihat pada Tabel 12.

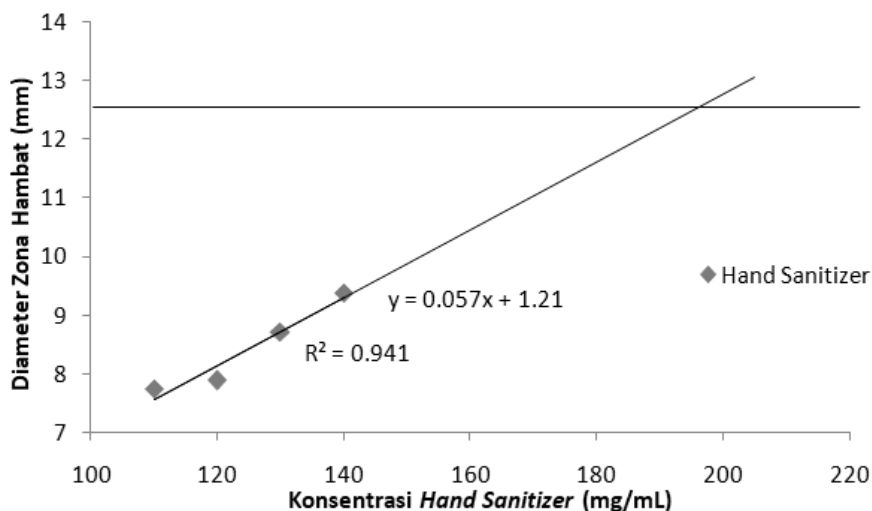
Tabel 12. Perbandingan rata-rata total zona hambat kitosan larut air dengan *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Bakteri	Sampel	Rata-Rata Total Zona Hambat (mm)	Keterangan
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kitosan Larut Air	16.69 ± 8.48	Widiyanti (2018)
	<i>Hand sanitizer</i>	10.4 ± 5.49	
<i>Escherichia coli</i>	Kitosan Larut Air	12.86 ± 6.95	
	<i>Hand sanitizer</i>	6.7 ± 3.52	

Pada Tabel 13 menunjukkan bahwa zona hambat *hand sanitizer* lebih kecil jika dibandingkan dengan zona hambat ekstrak kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan hambat kitosan larut air menurun saat diaplikasikan menjadi *hand sanitizer*. Penurunan ini terjadi karena adanya bahan tambahan lain yang ditambahkan kedalam *hand sanitizer* seperti trietanolamin, gliserin, polisorbit, metil paraben dan akuades. Adanya bahan-bahan pelengkap ini memungkinkan akan menghalangi masuknya kitosan larut air sebagai zat antibakteri kedalam sel bakteri sehingga daya hambat antibakterinya pun ikut menurun. Dengan demikian perlu peningkatan konsentrasi kitosan larut air ketika diaplikasikan kedalam produk *hand sanitizer*.



Gambar 14. Grafik korelasi antara *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus*



Gambar 15. Grafik korelasi antara *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Escherichia coli*

Pada Gambar 14 menunjukkan bahwa *hand sanitizer* kitosan larut air perlu ditingkatkan konsentrasinya hingga 150,7 g/mL agar memiliki daya hambat yang sama dengan *hand sanitizer* produk komersial terhadap *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pada Gambar 15 menunjukkan bahwa *hand sanitizer* kitosan larut air perlu ditingkatkan konsentrasinya hingga 197,7 g/mL agar memiliki daya hambat yang sama dengan *hand sanitizer* produk komersial terhadap *Escherichia coli*.

4.6 Uji MIC dan MBC *Hand sanitizer* Kitosan Larut Air Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

MIC merupakan konsentrasi terendah substrat kasar antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba sebanyak 90% dari inokulum asal selama inkubasi 24 jam (Cosentino, 1999), sedangkan MBC menurut Soleha (2015) adalah konsentrasi terendah antibakteri yang dapat membunuh bakteri. Pada penelitian ini penentuan nilai MIC dan MBC dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar (sumuran) berdasarkan regresi linier (Bloomfield, 1991). Hasil penentuan nilai MIC dan MBC *hand sanitizer* kitosan

larut air terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Lampiran 10 dan 11. Hasil nilai MIC dan MBC *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* metode Bloomfield (1991) dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Nilai MIC dan MBC *hand sanitizer* kitosan larut air terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Jenis Bakteri	Persamaan Linear	Total Rata-Rata Zona Hambat (mm)	MIC (g/mL)	MBC (g/mL)
S. aureus	$Y = -35,182x + 2,7876$	10,39	0,25	1
E. coli	$= 14,769x + 0,9251$	6,74	0,26	1,064

Pada Tabel 13 dapat dilihat bahwa nilai MIC dan MBC *hand sanitizer* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tidaklah jauh berbeda. *Hand sanitizer* dengan konsentrasi 0,25 g/mL sudah dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan dengan konsentrasi 1 g/mL sudah dapat membunuh *Staphylococcus aureus*. Sedangkan *hand sanitizer* dengan konsentrasi 0,26 g/mL sudah dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan dengan konsentrasi 1,064 g/mL sudah dapat membunuh *Escherichia coli*.

Pada Tabel 13 dapat dilihat bahwa nilai MIC dan MBC *hand sanitizer* terhadap *Staphylococcus aureus* lebih rendah daripada nilai MIC dan MBC terhadap *Escherichia coli*. Namun hal ini bukan berarti bakteri *Escherichia coli* lebih rentan daripada *Staphylococcus aureus*, karena dengan nilai MIC 0,25 g/mL, artinya dengan konsentrasi 0,25 g/mL *hand sanitizer* dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar 10,39 mm dalam waktu 6 jam inkubasi. Sedangkan *hand sanitizer* dengan MIC 0,26 g/mL, artinya dengan konsentrasi 0,26 g/mL dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar 6,74 mm dalam waktu 6 jam inkubasi. Inkubasi dilakukan selama 6 jam karena pada inkubasi selama 6 jam *hand sanitizer*

mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan baik. Hal ini dapat dilihat dengan adanya zona bening/hambat yang dihasilkan cukup besar. Jika inkubasi dilakukan hingga 12 atau 24 jam, maka *hand sanitizer* sudah tidak dapat menghambat bakteri secara optimal (bakteriostatik) dan pertumbuhan bakteri pun semakin cepat. Hal ini dapat dilihat dengan adanya zona bening/hambat yang dihasilkan diameternya semakin mengecil. Hal ini didukung oleh pernyataan Kusumawati (2000) yaitu terbentuknya zona hambat yang semakin kecil disebabkan adanya kandungan zat aktif yang mengalami perubahan selama penyimpanan. Penyebab penurunan daya hambat karena adanya kerja sinergis antara aktivitas antimikroba dengan suhu penyimpanan (Kusumawati, 2000).

Perbandingan nilai MIC dan rata-rata zona hambat yang dihasilkan, menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* lebih rentan daripada bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan lapisan dinding sel *Staphylococcus aureus* lebih sederhana dengan kandungan lipid 1-4% dan terdapat banyak pori pada lapisan peptidoglikannya yang memudahkan cairan *hand sanitizer* mudah terserap ke dalam sel bakteri. Berbeda dengan struktur dinding *Escherichia coli* yang lebih kompleks dengan kandungan fosfolipid yang mempunyai sifat dapat menghalangi masuknya zat ke dalam sel bakteri (Fatisa, 2013).

Hand sanitizer kitosan larut memiliki nilai MIC dan MBC tidak jauh berbeda dengan *hand sanitizer* minyak daun mint hasil penelitian (Chamsai *et al.*, 2009) dengan nilai MIC sebesar 0,3 g/mL terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Nilai MBC sebesar 0,31 g/mL terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jika dibandingkan secara keseluruhan, *hand sanitizer* kitosan larut air memiliki kemampuan menghambat bakteri (bakteriostatik) lebih baik dibandingkan *hand sanitizer* minyak daun mint.

Namun *hand sanitizer* minyak daun mint memiliki kemampuan membunuh bakteri (bakterisidal) lebih baik dibandingkan *hand sanitizer* kitosan larut air.

4.7 Uji Iritasi *In Vivo Hand sanitizer*

Hasil pengamatan uji iritasi *hand sanitizer* kitosan larut air secara *in vivo* pada kulit tikus wistar dapat dilihat pada Tabel 14 dan perhitungan indeks iritasi primer dapat dilihat pada Lampiran 14.

Tabel 14. Hasil uji iritasi (eritema dan edema)

Sampel Uji	Perlakuan						Indeks Iritasi Primer
	24 Jam		48 Jam		72 Jam		
	Eritema	Edema	Eritema	Edema	Eritema	Edema	
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Formula 0	0	0	0	0	0	0	0
Formula 1	0	0	0	0	0	0	0
Formula 2	0	0	0	0	0	0	0
Formula 3	0	0	0	0	0	0	0
Formula 4	0	0	0	0	0	0	0
Primary Irritation Indeks (PII)	0						

Keterangan :

- Kontrol + = produk komersial
- F0 = *hand sanitizer* formula 0 (0 g/mL)
- F1 = *hand sanitizer* formula 1 (0,11 g/mL)
- F2 = *hand sanitizer* formula 2 (0,12 g/mL)
- F3 = *hand sanitizer* formula 3 (0,13 g/mL)
- F4 = *hand sanitizer* formula 4 (0,14 g/mL)

Pada Tabel 14 dapat dilihat bahwa pengamatan sampai pada 72 jam setelah diberikan *hand sanitizer* pada kulit punggung tikus wistar jantan memberikan skor eritema dan edema sebesar 0. Dari hasil ini dapat dikatakan bahwa *hand sanitizer* kitosan larut air dengan semua formula yaitu F0, F1, F2, F3, dan F4 tidak melepaskan bahan-bahan kimia yang bersifat dapat menimbulkan iritasi terhadap kulit punggung tikus wistar, yang berarti produk aman. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kuncari *et al.* (2015) bahwa semakin kecil nilai Indeks iritasi pada kulit, pada semakin baik pula sediaan produk

yang diujikan. Nilai Indeks iritasi dibawah 0,4 dapat dikatakan sediaan suatu produk aman.