Prototipe *Hand Sanitizer* Nanoemulsi Berbasis Surfaktan Alami Lerak *(Sapindus rarak)* Sebagai Antibakteri

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh :

DINISA EKA PUTRI
145090201111009

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Prototipe *Hand Sanitizer* Nanoemulsi Berbasis Surfaktan Alami Lerak *(Sapindus rarak)* Sebagai Antibakteri

oleh:
DINISA EKA PUTRI
145090201111009

Setelah diseminarkan di depan Majelis Penguji
pada tanggal ..19..JUL..2018.....
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Edi Priyo Utomo, MS.	Dr. Elvina Dhiaul Iftitah, S.Si., M.Si
NIP. 197571227198603 1003	NIP. 197204191997022001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197310202002121001

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : DINISA EKA PUTRI
NIM : 145090201111009
Jurusan : KIMIA
Penulis skripsi berjudul :

Prototipe *Hand Sanitizer* Nanoemulsi Berbasis Surfaktan Alami Lerak *(Sapindus rarak)* Sebagai Antibakteri

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, ... 2018
Yang menyatakan,

(Dinisa Eka Putri)
NIM. 145090201111009

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

Prototipe *Hand Sanitizer* Nanoemulsi Berbasis Surfaktan Alami Lerak (*Sapindus rarak)* sebagai Antibakteri

ABSTRAK

Telah dilakukan optimasi komposisi bahan dalam pembuatan nanoemulsi *Hand Sanitazer* dengan menggunakan pendekatan metoda permukaan respons. Bahan-bahan tersebut terdiri dari ekstrak lerak yang mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*, etanol dan Tween 80. Ketiga bahan tersebut diformulasikan menurut metoda permukaan respons Box-Behken sehingga dihasilkan 17 formula yang kemudian diuji karakternya meliputi ukuran nanoemulsi, kejernihan larutan, kestabilan larutan, kelngketan dan kecepatan kering. Pembentukan nanoemulsi dengan surfaktan Lerak pada prototipe *hand sanitizer* dengan dibantu proses sonikasi selama 2 jam dapat menghasilkan distribusi nanoemulsi berukuran 296 - 1000 nm sebanyak 1%. Optimasi hasil prototipe nanoemulsi *hand sanitizer* yang dilakukan menggunakan *Design Expert 6.0.8 Portable* menghasilkan komposisi optimum etanol 86,18%, ekstrak Lerak 2% dan tween 80 0,21%. Pada komposisi tersebut menghasilkan titik optimal yang diprediksi memiliki ukuran nanoemulsi sebesar 667 nm dengan tingkat kejernihan 60,60%, stabilitas nanoemulsi lebih besar 5 jam 61,48%. Respon panellist terhadap kelengketan sebesar 52,42% (tidak lengket) dan kecepatan kering kurang dari 1 menit sebesar 89,88%.

Kata kunci : Ekstrak Lerak, Nanoemulsi, Metode Permukaan Respon.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

The Prototype of Nanoemulsion Hand Sanitizer Based on Lerak Natural Surfactant (*Sapindus rarak*) as Antibacterial

ABSTRACT

An optimization of the material composition has been made for Hand Sanitizer nanoemulsion by using surface response method approach. The ingredients consisted of extracts of Lerak which had an antibacterial activity of *Staphylococcus aureus*, ethanol and Tween 80. The three materials were formulated according to Box-Behnken response surface method so that 17 formulas were obtained then tested against to the characteristic of the formula including size of nanoemulsion, tansmittance of solution, stability of nanoemulsion, sticky power and long dryness. The formation of nanoemulsion with surfactant on the hand sanitizer was performed by using sonication for 2 hours, that can result the size of nanoemulsion around 296 - 1000 nm at 1% distribution level. The Design Expert 6.0.8 was used for optimal composition of the prototype. The result show that the composition was at optimum emulsion consist of 86.18% ethanol, 2% Lerak extract and 0.21% Tween 80. This composition was predicted to have the size of nanoemulsion was at 667 nm with a tansmittance of solution 60,60%, the stability of nanoemulsion 61,48%, sticky power 52,42% and long dryness 89,88%.

Keywords: Lerak extract, Nanoemulsion, Surface Response Method

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, taufiq, serta hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul **Prototipe *Hand Sanitizer* Nanoemulsi Berbasis Surfaktan Alami Lerak (*Sapindus rarak)* sebagai Antibakteri** dapat tersusun dan terselesaikan dengan baik. Penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Ucapan terimakasih ditujukan kepada:

1. Dr. Edi Priyo Utomo, MS. selaku pembimbing I sekaligus penasihat akademik dan Dr. Elvina Dhiaul Iftitah, S.Si., M.Si selaku Pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, perhatian dan doa yang diberikan selama penyusunan skripsi ini.
2. Masruri, S.Si, M.Si, Ph.D, selaku Ketua Jurusan Kimia dan segenap staf pengajar Jurusan Kimia atas semua bimbingan, bantuan dan ilmu yang telah diberikan.
3. Seno Aji Prastowo, S.Si. PT. Multi Sarana Indotani, Desa Lengkong, Mojoanyar, Mojokerto, yang telah membantu fasilitas PSA untuk analisis nanopartikel.
4. Pusat Unggulan Iptek Agroindustri Atsiri Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Bapak Slamet Widodo, S.Sos, M.Si dan Almh. Ibu Yuliastuti selaku orang tua penulis, Nadila Safira Isnaeni, Om Fendi, Tante Intan serta segenap keluarga besar atas segala dukungan dan do'a yang diberikan dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Radityo Ari Nugroho atas segala dorongan semangat, dukungan, waktu dan bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat-sahabat perjuangan kuliah Tia, Melia, Rizki, Deby, Ida, Anita, serta teman-teman Kimia 2014 atas semua

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

bantuan, dukungan, motivasi dan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

8. Kak Agung, Kak Sapri, Kak Andi, Fidel dan Putri yang telah membantu penulis selama berada di perkuliahan.
9. Seluruh pihak dan instansi yang membantu terselesaikannya penelitian dan skripsi ini.

Disamping kekurangan dari skripsi ini, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Penulis menerima kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dan perkembangan penelitian untuk dilakukan kedepannya.

Malang, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL		i
HALAMAN PENGESAHAN		ii
HALAMAN PERNYATAAN		iii
ABSTRAK		iv
ABSTRACT		v
KATA PENGANTAR		vi
DAFTAR ISI		viii
DAFTAR GAMBAR		xi
DAFTAR TABEL		xiii
DAFTAR LAMPIRAN		xiv
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN		xv
BAB I PENDAHULUAN		1
1.1	Latar Belakang	1
1.2	Perumusan Masalah	3
1.3	Batasan Masalah	3
1.4	Tujuan Penelitian	3
1.5	Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA		5
2.1	*Hand Sanitizer*	5
2.2	Buah Lerak *(Sapindus rarak)*	5
2.3	Minyak Sereh Wangi	7
2.4	Tween 80	8
2.5	Nanoemulsi	9
2.5.1	Bahan Dasar Nanoemulsi	11
2.5.2	Metode Pembentukan Nanoemulsi	11
2.6	Optimasi Variabel Desain Percobaan	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		15
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2	Alat Penelitian	15
3.3	Bahan Penelitian	15
3.4	Rancangan Penelitian dan Tahap Penelitian	15

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

3.5 Prosedur Kerja 16
3.5.1 Uji Antibakteri Ekstrak Lerak terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* 16
3.5.2 Identifikasi Komponen Senyawa Saponin Ekstrak Lerak Menggunakan LC-MS 16
3.5.3 Formulasi Formula *Hand Sanitizer* Nanoemulsi berdasarkan Metoda Permukaan Respons Menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable* 16
3.5.4 Karakterisasi Nanoemulsi 18
3.5.5 Uji nilai pH, Viskositas, Stabilitas Nanoemulsi dan Uji Organoleptik 19
3.6 Analisis Data 20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 21
4.1 Pembuatan Ekstrak Lerak dan Uji Antibakteri Ekstrak Lerak terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* 21
4.2 Identifikasi Komponen Senyawa Saponin Ekstrak Lerak Menggunakan LC-MS 23
4.2.1 Pembentukan Emulsi 25
4.3 Formulasi Formula *Hand Sanitizer* Nanoemulsi berdasarkan Metoda Permukaan Respons Menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable* 26
4.4 Karakterisasi Nanoemulsi 26
4.4.1 Karakterisasi dengan *Particle Size Analyser* (PSA) 26
4.4.2 Karakterisasi Nanoemulsi dengan Spektrofotometer UV-Vis 27
4.5 Uji nilai pH, Viskositas, Stabilitas Nanoemulsi dan Uji Organoleptik 29
4.5.1 Uji pH 29
4.5.2 Uji Viskositas 29

4.5.3 Uji Stabilitas 30
4.5.4 Uji Organoleptik 31
4.6 Optimasi Desain Pembuatan Hand Sanitizer 33
5.6 **BAB V PENUTUP** 46
5.1 Kesimpulan 46
5.2 Saran 46
DAFTAR PUSTAKA 47
DAFTAR LAMPIRAN 56

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 *Hand sanitizer* yang berada di pasaran 5

Gambar 2.2 Buah Lerak[18] 6

Gambar 2.3 Struktur Saponin Buah Lerak [19] 7

Gambar 2.4 Struktur Sitronellol, Geraniol, Sitronellal [8] 8

Gambar 2.5 Struktur Tween 80 [27] 9

Gambar 2.6 Karakterisasi Nanoemulsi berdasarkan Spektrofotometri UV-Vis [33] 10

Gambar 4.1 Hasil ekstrak Lerak 21

Gambar 4.2 Spektra massa hasil analisis saponin ekstrak Lerak menggunakan LC-MS 23

Gambar 4.3 Hasil perbesaran kromatogram pada Peak 1000 24

Gambar 4.4 Gambar pembentukan emulsi surfaktan Lerak 26

Gambar 4.5 Grafik Hubungan Antara % Transmitan dan Panjang Gelombang pada Formula 1-10 28

Gambar 4.6 Grafik Hubungan Antara % Transmitan dan Panjang Gelombang pada Formula 11-17 28

Gambar 4.7 Nilai Viskositas Formula Hand Sanitizer 30

Gambar 4.8 Grafik 3D metode respon permukaan ukuran nanoemulsi pada perlakuan etanol dan Lerak 34

Gambar 4.9 Grafik kontur metode respon permukaan ukuran nanoemulsi pada perlakuan etanol dan Lerak 34

Gambar 4.10 Grafik 3D metode respon permukaan kejernihan formula pada perlakuan etanol dan Lerak 36

Gambar 4.11 Grafik kontur metode respon permukaan kejernihan formula pada perlakuan etanol dan Lerak 36

Gambar 4.12 Grafik 3D metode respon permukaan stabilitas formula pada perlakuan etanol dan Lerak 38

Gambar 4.13 Grafik kontur metode respon permukaan stabilitas formula pada perlakuan etanol dan Lerak 38

Gambar 4.14 Grafik 3D metode respon permukaan tingkat kelengketan formula pada perlakuan etanol dan Lerak 40

Gambar 4.15 Grafik kontur metode respon permukaan tingkat kelengketan formula pada perlakuan etanol dan Lerak 40

Gambar 4.16 Grafik 3D metode respon permukaan tingkat kekeringan formula pada perlakuan etanol dan Lerak 42

Gambar 4.17 Grafik kontur metode respon permukaan 42

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Formulasi Nanoemulsi[12] 11

Tabel 3.1 Hasil Formulasi *Box Behnken Design* menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable* 17

Tabel 3.2 Hasil Respon Formulasi *Box Behnken Design* menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable* 17

Tabel 3.3 Hasil Formulasi Menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable* 17

Tabel 3.4 Lembar Penilaian Panelis 20

Tabel 3.5 Lembar Penilaian Panelis 20

Tabel 4.1 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Lerak 21

Tabel 4.2 IC50 Ekstrak Lerak 22

Tabel 4.3 Pengolahan Data Optimasi Respon 44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A Skema Kerja	56
Lampiran B Perhitungan	58
Lampiran C Uji Antibakteri Ekstrak Lerak	64
Lampiran D Identifikasi Senyawa Saponin dengan LC-MS	65
Lampiran E Hasil Analisis PSA	66
Lampiran F Uji Kejernihan dengan Spektrofotometer UV-Vis	70
Lampiran G Uji pH	72
Lampiran H Uji Stabilitas Formula	73
Lampiran I Perhitungan Anova *Design Expert 6.0.8 Portable*	74

repository.ub.ac.id

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Simbol/singkatan	Keterangan
Nm	nanometer
α	alfa
%	persen
m	meter
psi	*pounds per square inch*
g	gram
µm	mikrometer
PSA	*particle size analyzer*
L	liter
mg	miligram
LC-MS	*liquid chromatography mass spectrometry*
mL	mililiter
rpm	rotasi per menit
mm	millimeter
µL	mikroliter

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mencuci tangan merupakan salah satu cara untuk membersihkan tangan agar bebas dari kuman dan mikroorganisme. Tetapi seiring dengan meningkatnya aktivitas masyarakat yang padat, mencuci tangan terkadang menjadi suatu hal yang kurang praktis. Selain itu mencuci tangan tidak bisa dilakukan apabila berada di suatu tempat yang sulit air dan tidak ada sabun. Oleh sebab itu, zat antiseptik dibuat dengan kemasan yang praktis dan mudah dibawa yang digunakan untuk membersihkan tangan dari kuman dan mikroorganisme atau sering disebut dengan *hand sanitizer*[1].

Hand sanitizer merupakan salah satu produk kecantikan yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan kuman dan mikroorganisme pada tangan[2]. *Hand sanitizer* pada umumnya mengandung 62% etil alkohol, pelembut dan pelembab. Penggunaan etil alkohol dalam *hand sanitizer* dapat berbahaya bagi kesehatan yaitu menyebabkan infeksi gangguan pencernaan apabila tertelan karena masih tertinggal di tangan[3]. Untuk *hand* sanitizer berbasis alkohol mengandung 60-95% ethanol atau isopropanol. Rentang tersebut merupakan konsentrasi terbaik yang dapat membunuh kuman[4]. Seiring dengan berkembangnya zaman pengembangan formulasi *hand sanitizer* berbahan alami sangat diperlukan untuk mengurangi penggunaan konsentrasi alkohol.

Salah satu bahan alami yang memiliki tingkat aktifitas bakteri yang cukup tinggi adalah buah Lerak *(Sapindus rarak)*. Buah Lerak banyak ditemui di daerah Jawa Tengah Indonesia yang dimanfaatkan sebagai bahan insektisida, antiseptik dan bahan pencuci batik. Saponin dapat bersifat sebagai surfaktan karena saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dan dapat membentuk busa secara stabil[5]. Buah Lerak mengandung senyawa fitokimia sebagai zat antibakteri yang dapat menghambat dan membunuh aktifitas pertumbuhan mikroba[6]. Menurut penelitian Winarsih dkk. (2011) rebusan Lerak efektif menghambat dan membunuh *methicilin resistant Staphylococcus aureus* secara in vitro. Hal tersebut juga didukung oleh Marsa (2010) yang membuktikan adanya efek antibakteri ekstrak etanol tumbuhan Lerak terhadap *Enterococcus faecalis*. Sementara

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

itu, penelitian Widiana dkk. (2013) menyimpulkan bahwa zat aktif seperti alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, dan tanin memiliki aktivitas antibakteri, salah satunya pada *Escherichia coli* [7].

Selain menggunakan bahan aktif alami pengembangan formulasi *hand sanitizer* perlu menambahkan bahan pewangi secara alami agar memiliki wangi yang khas. Indonesia merupakan salah satu negara dengan permintaan minyak atsiri tertinggi di dunia. Hal tersebut terjadi karena minyak atsiri memiliki bebagai macam manfaat yang digunakan sebagai bahan penyedap makanan, obat luka, aroma terapi, parfum/pewangi, dan digunakan juga sebagai bahan peptisida nabati seperti pengendali lalat buah dan pengusir nyamuk, salah satu contohnya adalah minyak sereh wangi. Minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus)* merupakan jenis tanaman obat dan rempah yang memiliki aroma khas yang diketahui mampu bertindak sebagai penolak nyamuk. Komponen utama yang terdapat dalam minyak sereh wangi adalah geraniol, sitronellal dan sitronelol[8].

Berdasarkan *hand sanitizer* yang beredar dipasaran diperlukan penggunaan nanoemulsi agar dapat meningkatkan absorpsi bahan aktif melalui kulit dengan luas permukaan yang besar sehingga lebih efektif sebagai sistem pembawa [9]. Nanoemulsi merupakan sistem emulsi yang tembus cahaya berupa dispersi minyak dan air yang distabilkan oleh surfaktan atau molekul surfaktan dengan ukuran droplet 50-500nm [10]. Ukuran droplet nanoemulsi yang kecil membuat nanoemulsi stabil secara kinetik sehingga mencegah terjadinya sedimentasi dalam penyimpanan [11]. Keuntungan nanoemulsi yaitu luas permukaannya lebih besar dan bebas energi jika dibandingkan dengan makroemulsi sehingga lebih efektif dalam sistem pembawa. Nanoemulsi tidak toksik dan tidak iritasi oleh sebab itu mudah diaplikasikan melalui kulit [12]. Oleh karena itu diperlukan suatu contoh model atau prototipe yang digunakan sebagai contoh pembuatan *hand sanitizer* dalam bentuk nanoemulsi agar dapat dikaji lebih dalam tentang manfaat pembuatannya terhadap kulit.

Prototipe adalah karakterisasi model dalam bentuk umum yang menggambarkan hubungan antara model dan model analisis data dengan menerapkan model ke area penelitian konsep lebih lanjut [13]. Representasi konsep merupakan masalah terbuka di bidang teknik ontologi. Oleh karena itu, representasi berbasis prototipe dapat digunakan untuk mewakili suatu konsep sehingga dapat bermanfaat di

bidang teknologi [14]. Dalam pembuatan prototipe ini dibantu dengan menggunakan program komputasi kimia dengan metode permukaan respon agar memperoleh hasil formula optimum.

Seiring dengan banyaknya prodak *hand sanitizer* yang beredar di pasaran, penelitian ini dilakukan untuk membuat prototipe formulasi *hand sanitizer* nanoemulsi berbasis herbal dengan memanfaatkan surfaktan alami ekstrak buah Lerak dan minyak sereh wangi sebagai pewangi alami sebagai fasa minyak.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah yang dapat diambil adalah:

1. Bagaimana efektifitas buah Lerak sebagai penghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada kulit?
2. Bagaimana pembentukan nanoemulsi dengan surfaktan Lerak pada prototipe *hand sanitizer?*
3. Bagaimana komposisi *hand sanitizer* yang dapat menghasilkan efek fisiko-kimia optimum berdasarkan kejernihan, kelengketan, kecepatan kering formula dan ukuran emulsi?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah diatas, batasan masalah yang dapat diambil adalah:

1. Efek fisiko-kimia meliputi kejernihan, kelengketan, kecepatan kering, dan ukuran emulsi.
2. Pengukuran ukuran droplet nanoemulsi menggunakan *Particle Size Analyzer*, sedangkan tingkat kejernihan nanoemulsi ditentukan berdasarkan %Transmitansi menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis.
3. Kelengketan dan kecepatan kering formula ditentukan dengan menggunakan uji panelis
4. Bakteri pada kulit yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus.*

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Megetahui efektifitas buah Lerak sebagai penghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada kulit.

2. Mengetahui cara pembentukan nanoemulsi dengan surfaktan Lerak pada prototipe *hand sanitizer*.
3. Mengetahui komposisi *hand sanitizer* yang dapat menghasilkan efek fisiko-kimia optimum berdasarkan kejernihan, kelengketan, kecepatan kering formula dan ukuran emulsi.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan, antara lain:

1. Dapat digunakan sebagai prototipe pembuatan*hand sanitizer* berbahan alami yang aman digunakan.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Hand sanitizer*

Hand sanitizer adalah zat antiseptik pembersih tangan yang digunakan sebagai alternatif untuk mencuci tangan tanpa menggunakan sabun dan air. *Hand sanitizer* mengandung alkohol, asam poliakrilat sebagai zat pengental untuk gel alkohol, humektan seperti gliserin dan polipropilena glikol, serta minyak esensial tanaman. *Hand sanitizer* berbasis alkohol lebih efektif membunuh sebagian besar mikroorganisme jika dibandingkan dengan sabun dan tidak cepat kering di tangan. Tingkat alkohol bervariasi antara 60-80%. Alkohol dapat membunuh bakteri, jamur dan beberapa virus. Setidaknya, *hand sanitizer* mengandung alkohol sebanyak 70% (terutama etil alkohol) agar dapat membunuh 99,9% bakteri yang ada di tangan selama 30 detik dan membunuh 99,999% bakteri setelah pengaplikasian di tangan selama 1 menit [15].

Gambar 2.1: *Hand sanitizer* yang berada di pasaran

2.2 Buah Lerak (*Sapindus rarak*)

Buah Lerak (*Sapindus rarak)* merupakan buah yang banyak di temukan di Pulau Jawa yang tumbuh pada ketinggian 450 sampai 1.500 m diatas permukaan air laut dengan tingkat kelembapan yang tinggi [6]. Buah Lerak terdiri dari biji yang mengandung minyak dan daging buah yang mengandung saponin[16]. Daging buah Lerak

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

dimanfaatkan sebagai sabun pencuci batik karena daging buah Lerak mengandung senyawa sekunder berupa saponin dan seskuiterpen[17].

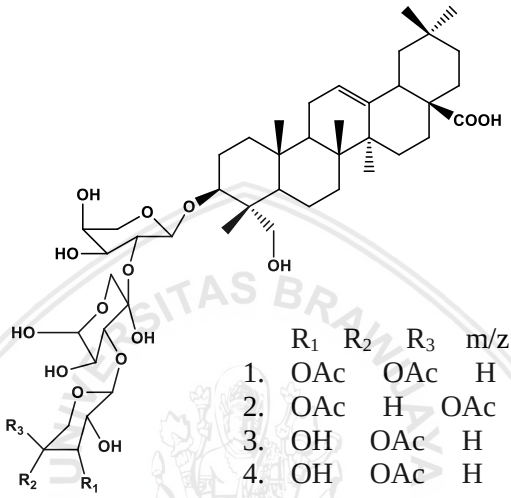
Gambar 2.2: Buah Lerak**[18]**

Secara taksonomi, Lerak memiliki urutan sebagai berikut [18]:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Eudikotiledon
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Fmili	: Sapindaceae
Sub Famili	: Sapindoideae
Genus	: Sapindus
Spesies	: *Sapindus rarak* DC
Sinonim	: *Sapindus delavayi* (China, India)
	Sapindus detergens (syn Var soapnut Ritha)
	Sapindus emarginatus Vahl (Southern Asia)
	Sapindus laurifolius Vahl-Ritha (India)
	Sapindus tomentosus (China)

Buah Lerak memiliki berbagai macam bahan aktif diantaranya alkaloid, flavanoid, tannin, triterpen, dan saponin. Saponin yang terdapat pada buah Lerak merupakan salah satu alkaloid beracun yang dimanfaatkan sebagai bahan pencuci batik, pembersih peralatan dapur dan lantai. Selain itu buah Lerak juga berpotensi sebagai insektisida[18]. Saponin memiliki berat molekul sebesar 923 g/mol[19]. Saponin dapat bersifat sebagai surfaktan karena saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dan dapat membentuk busa

secara stabil[5]. Bila diekstrak menggunakan methanol kandungan saponin pada buah Lerak meningkat menjadi 15% dibanding tanpa diekstrak[20]. Saponin yang diekstrak menggunakan methanol dapat menghemolisis sel darah merah dan dapat menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus, Salmonela typhimurium* dan *Escherchia coli*[21].



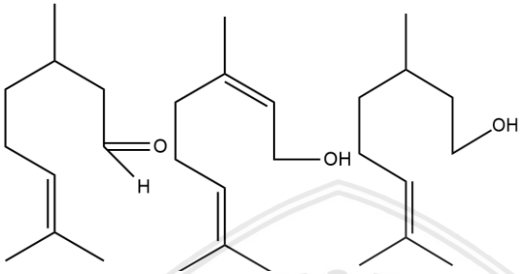
	R_1	R_2	R_3	m/z =[M-1]
1.	OAc	OAc	H	= 965
2.	OAc	H	OAc	= 965
3.	OH	OAc	H	= 881
4.	OH	OAc	H	= 881

Gambar 2.3: Struktur Kimia Saponin Ekstrak Lerak [19]

2.3 Minyak Sereh Wangi

Sereh wangi (*Cymbopogon nardus)* termasuk dalam suku graminae. Dalam perdagangan dunia, sereh wangi dikenal dengan nama *Citronella Oil*. Komponen senyawa utama minyak sereh wangi terdiri dari sitronelal, sitronellol, dan geraniol. Kandungan sitronelal, sitronellol, dan geraniol pada sereh wangi dapat menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri [22]. Selain itu minyak sereh wangi memiliki aroma khas yang diketahui mampu bertindak sebagai penolak nyamuk[8]. Minyak sereh wangi yang berasal dari Tawangmangu Indonesia, mampu menghasilkan zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*. Hasil menunjukkan bahwa aktifitas antibakteri minyak sereh wangi lebih besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*[23]. Menurut penelitian yang

dilakukan oleh Brugnera (2011) minyak sereh wangi asal Brazil memiliki komponen kimia sitronelal sebesar (34,6%), geraniol (23,17%), dan sitronellol (12,09%) dan mampu menghambat aktifitas bakteri *Staphylococcus aureus* serta mampu menghambat aktifitas bakteri gram negatif yaitu *Escherchia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*[24].

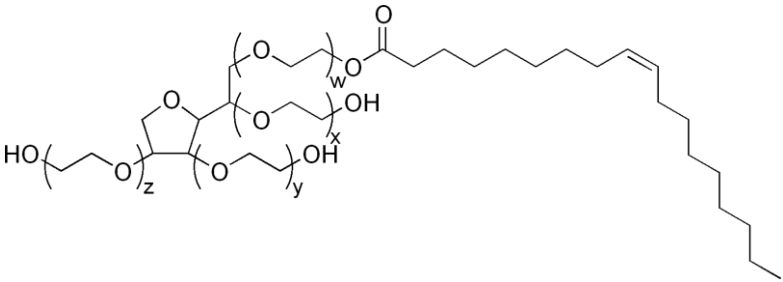


Gambar 2.4: (a) Struktur Kimia Sitronelal, **(b)** Geraniol dan **(c)** Sitronellol Minyak Sereh Wangi [8]

Bagian yang diambil dari sebagai minyak atsiri adalah bagian daunnya. Minyak sereh wangi banyak dimanfaatkan sebagai parfum untuk sabun mandi atau sabun cuci dan campuran bahan kosmetik. Minyak sereh wangi dapat dimanfaatkan sebagai obat pengusir nyamuk baik digunakan secara tunggal maupun campuran dengan minyak atsiri lain minyalnya minyak kayu putih. Dalam aroma terapi minyak sereh wangi dimanfaatkan sebagai lilin wangi [25].

2.4 Tween 80

Tween 80 adalah surfaktan non ionik berbentuk cair dengan warna kuning terang yang berasal dari ester sorbitan yang sering dimanfaatkan sebagai emulsifier dan pendispersi ketika dimasukkan ke dalam berbagai formula media kultur. Tween 80 ini dapat digunakan untuk mengemulsi dan menyebarkan komponen media hidrofobik. Tween 80 mempunyai nama lain Polysorbate 80 yang bertindak sebagai surfaktan untuk sampel makanan dan kosmetik yang memiliki kandungan lemak tinggi atau bersifat hidrofobik [26].



Gambar 2.5: Struktur Tween 80 **[27]**

2.5 Nanoemulsi

Nanoemulsi adalah sistem emulsi transparan tembus cahaya yang merupakan sistim dispersi antara minyak air yang distabilkan menggunakan surfaktan dengan ukuran droplet antara 50-500 nm [10]. Ukuran droplet nanoemulsi yang kecil membuat nanoemulsi stabil secara kinetik sehingga mencegah terjadinya sedimentasi dalam penyimpanan [11]. Nanoemulsi berbasis minyak dalam air dapat meningkatkan ketersediaan hayati, yaitu kecepatan jumlah obat mencapai sirkulasi sistemik secara keseluruhan dengan perbandingan zat aktif yang mencapai peredaran darah teradap jumlah obat yang diberikan[28]. Selain itu nanoemulsi dapat meningkatkan stabilitas fisik senyawa aktif dan melindungi dari senyawa kimiawi dan degradasi akibat pengaruh lingkungan. Sistem penghantaran dalam ukuran nano dapat meningkatkan mekanisme adsorbsi seluler pasif yang meningkatkan aktifitas antimikroba[29].

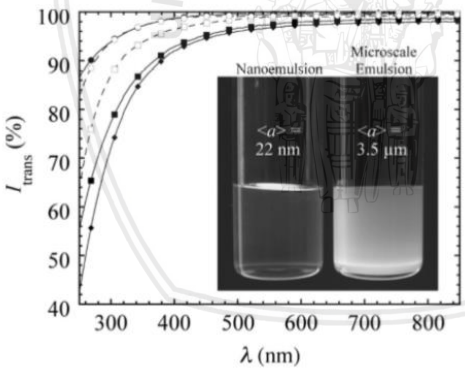
Nanoemulsi dibuat dari surfaktan dalam fasa air agar lebih stabil. Komponen sediaan nanoemulsi meliputi minyak, surfaktan dan kosurfaktan. Pemilihan komponen nanoemulsi tidak boleh sensitif terhadap kulit. Minyak merupakan komponen terpenting dalam formulasi nanoemulsi karena melarutkan bahan aktif lipofilik. Surfaktan non ionik digunakan karena memiliki toksisitas yang rendah dibandingkan surfaktan ionik [30]. Terdapat beberapa kondisi penting yang perlu dipertimbangkan selama persiapan nanoemulsi diantaranya [31]:

1. Surfaktan yang dipilih memiliki tegangan antar muka yang rendah (<10-3 mN/m) sehingga dapat dicapai antarmuka minyak/air dan membentuk nanoemulsi.

2. Konsentrasi surfaktan harus cukup tinggi untuk menstabilkan mikrodroplet agar menghasilkan tegangan antar muka yang rendah.
3. Antarmuka harus fleksibel atau cukup air untuk mendorong pembentukan nanoemulsi.

Nanoemulsi dapat dilakukan dengan berbagai cara, diantaranya ultrasonikasi, mikrofluidisasi dan homogenizer bertekanan tinggi. Dalam pembuatan nanoemulsi menggunakan metode homogenizer bertekenan tinggi ada beberapa hal yang perlu diperhatikan, diantaranya tekanan homogenizer, jumlah siklus homogenizer dan suhu homogenizer yang dapat mempengaruhi ukuran fisik dan stabilitas fisik nanoemulsi tersebut. Metode ini tidak dapat dilakukan pada molekul yang labil [32]. Nanoemulsi memiliki beberapa kelebihan, antara lain:

1. Fase terdispersi memiliki rentang ukuran 5-200 nm dan memiliki tegangan antarmuka minyak/air yang sangat rendah karena ukuran tetesan kurang dari 25% dari panjang gelombang cahaya tampak. Nanoemulsi bersifat transparan [31].



Gambar 2.6: Karakterisasi Nanoemulsi berdasarkan Spektrofotometri UV-Vis **[33]**

2. Nanoemulsi tidak terjadi *creaming* yang disebabkan oleh gravitasi, flokulasi, koalesensi, dan sedimentasi yang pada umumnya terjadi pada makroemulsi [34].

3. Nanoemulsi memiliki energi bebas dan luas permukaan yang lebih tinggi dibandingkan dengan makro emulsi [12].
4. Nanoemulsi dapat diaplikasikan ke dalam berbagai formulasi menggunakan formula yang tidak beracun dan tidak mengiritasi sehingga dapat diterapkan pada kulit dalam produksi krim, cairan, semprotan, dan busa [35].

2.5.1 Bahan dasar pembentukan nanoemulsi

Bahan dasar utama yang diperlukan dalam pembentukan nanoemulsi adalah minyak sebagai bahan pembawa reagen aktif atau reagen itu sendiri, surfaktan atau kosurfaktan sebagai emulsifier dan fase berair yang biasanya menggunakan air atau alkohol [31]. Berikut adalah beberapa bahan yang digunakan sebagai antioksidan dan pengawet [12]:

Tabel 2.1: Komposisi Formulasi Nanoemulsi**[12]**

Minyak	Emulsifier	Zat Adiktif
• Minyak Jarak • Minyak Kelapa • Minyak Nabati • Minyak Biji Kapas • Minyak Ikan • Minyak Jojoba • Minyak Biji Rami • Minyak Zaitun • Minyak Kacang Tanah • Minyak Wijen • Minyak Bunga Matahari • Minyak Gandum	• Lesitin alami dari tumbuhan atau hewan • Polisorbates • Stearliamin	• Antioksidan (α tokoferol, asam askot) • Pengubah tonisitas (gliserol, sorbitol, xylitol) • Agen penyesuai pH (NaOH atau HCl)

2.5.2 Metode pembentukan nanoemulsi

Metode pembentukan nanoemulsi terdapat beberapa cara, diantaranya:

1. Metode Sonikasi

Metode sonikasi merupakan cara terbaik untuk mempersiapkan nanoemulsi. Dalam metode ini ukuran tetesan emulsi konvensional dikurangi dengan bantuan sonikasi. Metode ini tidak sesuai untuk pembuatan dalam skala besar, hanya pembuatan nanoemulsi dalam skala kecil yang dapat digunakan dengan metode ini[36]. Menurut Aviana dkk (2014) pembuatan nanoemulsi karotenoid mendapatkan ukuran partikel terkecil pada sonikasi selama 2 jam dengan ukuran partikel sebesar 24,2-136,1 nm[36].

2. Homogenasi Tekanan Tinggi

Metode ini dilakukan dengan cara menerapkan tekanan tinggi pada sistem yang memiliki fasa minyak, fasa air, surfaktan atau kosurfaktan. Tekanan diaplikasikan dengan bantuan peralatan khusus yang dikenal sebagai homogenizer. Kekurangan dari metode ini adalah produktivitas yang buruk, kerusakan komponen akibat produksi massal yang sulit dan menghasilkan panas. Metode ini hanya bisa dibuat untuk nanoemulsi cair kurang dari 20% fasa minyak dengan diameter tetesan rata-rata yang lebih rendah dari 200 nm. Namun, metode ini merupakan metode yang masih banyak digunakan [37].

3. Mikrofluidisasi

Mikrofluidisasi merupakan metode teknologi campuran yang memanfaatkan perangkat mikrofluidizer. Perangkat ini memompa perpindahan positif tingkat tinggi (500-2000 psi) melalui ruang interaksi yang terdiri dari saluran kecil yang disebut "*microchannels*". Produk mengalir melalui microchannels ke area pelampiasan sehingga menghasilkan partikel submikron yang sangat halus. Dua larutan (fasa berair dan fasa berminyak) digabungkan bersamaan dan diproses dalam homogenizer inline untuk menghasilkan emulsi kasar. Emulsi kasar dalam mikrofluidizer diproses lebih lanjut untuk mendapatkan nanoemulsi stabil. Emulsi kasar dilewatkan melalui ruang interaksi mikrofluidizer berulang kali sampai ukuran partikel yang diinginkan diperoleh. Emulsi disaring melalui filter dibawah nitrogen untuk menghilangkan tetesan besar sehingga menghasilkan nanoemulsi yang seragam [37].

2.6 Optimasi variabel desain percobaan menggunakan pendekatan metode permukaan respon

Desain eksperimental adalah suatu metode yang dimanfaatkan untuk meningkatkan dan memperbaiki suatu proses. Desain eksperimental ini merupakan suatu uji yang dilakukan dengan cara merubah variabel (faktor) suatu proses untuk diketahui perubahan output (respon). Salah satu metode desain yang biasa digunakan adalah metode permukaan respon *(response surface methodology).* Metode ini dilakukan secara statistik untuk mengetahui nilai optimal suatu respon. Sehingga dapat diketahui nilai variabel independen yang menyebabkan nilai variabel respon menjadi optimal dengan menyusun suatu model matematika. Hubungan antara respon (y) dengan variabel bebas (x) adalah sebagai berikut[38]:

$$y= f(x_1,x_2,\ldots,x_k) + \varepsilon$$

dengan:

y	=	variabel respon
x_i	=	variabel bebas/independen (i = 1,2,3,…,k)
ε	=	galat pada pengamatan

Langkah yang dilakukan untuk menggunakan metode permukaan respon ini yaitu mencari hubungan antara respon (y) dengan perlakuannya atauvariabel bebasnya (x). Hubungan yang pertama kali dicoba adalah bentuk hubungan linier karena memiliki pendekatan fungsi atau *first orde model*[38]. Selanjutnya dilakukan percobaan dengan pendekatan bentuk kuadrat atau *second model orde.* Masing-masing orde dilakukan uji simultan untuk mengetahui apakah variabel bebas berpengaruh signifikan terhadap respond dan uji *lack of fit* untuk mengetahui kecocokan model. Pengambilan uji simultan dilakukan dengan cara memeriksa nilai F atau nilai P (*P Value).* Jika nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ atau $P_{value}<$ tingkat signifikansi maka variabel berpengaruh signifikan terhadap respon yang berarti modelnya cocok. Pada pengujian *lack of fit* nilai Ho berarti tidak ada *lack of fit* dalam model sedangkan H_1 berarti ada *lack of fit* dalam model. Ho diterima jika F Hitung < F Tabel artinya tidak ada *lack of fit* dalam model sehingga dapat disimpulkan bahwa model yang digunakan telah sesuai. Untuk menerima atau menolak Ho bisa dilakukan dengan mencocokkan nilai *P value.* Jika nilainya lebih besar dari signifikan yang dipilih (α) maka

Ho diterima dengan kata lain modelnya cocok. Setelah ditentukan model mana yang cocok antara model orde I atau orde II dilakukan uji eksperimen yang terdiri dari uji koefisien regresi secara serentak dan individu, uji identik, dan uji distribusi normal. Uji asumsi identik digunakan untuk memeriksa apakah varian residual dari model yang diperoleh sama penyebarannya. Residual merupakan perbedaan antara variabel independen y dengan y prediksi berdasarkan nilai persamaan regresi. Asumsi identik terpenuhi jika plot antara residual *versus fitted value* tidak membentuk pola tertentu seperti berkumpul ditengah atau sejajar. Hal tersebut berarti semua parameter faktor tidak berbengaruh signifikan. Pemeriksaan asumsi kenormalan dilakukan dengan membuat plot antara residual dengan nilai probabilitas normal. Asumsi ini dapat diperiksa dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dengan hipotesis Δ Maks yang dihasilkan $<\Delta$ Maks table [39].

BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga Mei 2018 di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas kimia 250 mL, gelas ukur 100 mL, pipet ukur 10 mL, batang pengaduk, corong, bola hisap, *stopwatch*,viskometer oswald, blender, kain penyaring, botol sampel 100 mL, labu ukur 500 mL, tabung sentrifugasi,sentrifugator, alumunium foil, pH meter,*magneticstirrer, hot plate stirrer*, sonikator merek Cody CD-3A tipe frekuensi 40Khz, Spektrofotometer UV-Vis UV-1600 Series Shimadzu, *Laser Diffraction Particle Size Analyzer* merek *Shimadzu* tipe *Sald-2300* dan *software Desain Expert 6.0.8 Portable* dapat di download secara gratis pada web berikut http://design-expert2.software.informer.com/6.0/

3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak Lerak, etanol 60%, aquades, minyak sereh wangi, tween 80 dan bakteri *Staphylococcus aureus.*

3.4 Rancangan Penelitian dan Tahap Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan rancangan acak lengkap dengan variabel pembanding ekstrak Lerak.Tahapan dari penelitian ini meliputi:

1. Pembuatan ekstrak Lerak dan uji antibakteri ekstrak Lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.*
2. Identifikasi komposisi senyawa saponin ekstrak Lerak menggunakan LC-MS.
3. Formulasi formula *hand sanitizer* nanoemulsi berdasarkan metoda permukaan respon menggunakan *Software Design Expert 6.0.8.*

4. Karakterisasi nanoemulsi menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dilakukan di PT. Multi Sarana Indotani Mojokerto, dan Spektrofotometer UV-Vis.
5. Uji nilai pH, viskositas, stabilitas nanoemulsi dan uji organoleptik.
6. Analisis Data

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Pembuatan ekstrak Lerak dan uji antibakteri ekstrak buah Lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Buah Lerak dipisahkan dengan bijinya, kemudian ditimbang sebanyak 500 g. Setelah itu dihaluskan menggunakan blender dengan 1 L air. Disaring buah Lerak yang telah halus menggunakan kain penyaring dan dipisahkan dengan residunya dan didiamkan selama 1 hari. Kemudian filtrat disaring kembali menggunakan kain untuk diambil filtratnya. Kemudian filtratnya dilakukan uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

3.5.2 Identifikasi komposisi senyawa saponin ekstrak buah Lerak menggunakan LC-MS

Identifikasi komposisi senyawa saponin ekstrak Lerak dilakukan di Laboratorium Kimia Analisa Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Ekstrak Lerak diukur massanya sebanyak 2 mg dan dilarutkan ke dalam methanol. Lalu diinjeksikan ke dalam instrument LC-MS sebanyak 2 µL dengan laju alir 5 µL/menit. Analisis ini digunakan untuk mengetahui berat molekul senyawa saponin yang terdapat pada ekstrak Lerak.

3.5.3 Formulasi formula *hand sanitizer* nanoemulsi berdasarkan metoda permukaan respone menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable*

Formulasi formula *hand sanitizer* nanoemulsi dilakukan dengan menggunakan *Software Design-Expert 6.0.8 Portable.* Langkah awal yaitu dibuka *SoftwareDesign-Expert 6.0.8 Portable.* Setelah itu, diklik *File →New Design.* Kemudian, diklik *Response Surface →Box-Behnken* lalu dimasukkan nilai minimal dan maksimal masing-masing bahan sebagai berikut:

Tabel 3.1: Hasil Formulasi *Box Behnken Design* Menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable*

Name	Unit	Low	High
Etanol	%	80	90
Lerak	%	2	4
Tween 80%	%	0	1

Kemudian, diklik *continue*→*Responses* →5 sehingga muncul tabel sebagai berikut:

Tabel 3.2: Hasil Respon Formulasi *Box Behnken Design* Menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable*

Name	Unit
Ukuran nanoemulsi	Nm
Kejernihan Formula	%T
Stabilitas Formula	%T
Tingkat Kelengketan	skor
Kecepatan Kering	skor

Setelah itu, diklik *continue* lalu *design formula hand sanitizer* yang akan dibuat akan ditampilkan sebagai berikut:

Tabel 3.3: Hasil Formulasi Menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable*

No Formula	Etanol 60% (%)	Lerak (%)	Tween 80 (%)	Sereh Wangi (%)	Air (%)
1	85	2	1	3	8,5
2	85	3	0,5	3	8,5
3	80	4	0,5	3	12,5
4	90	4	0,5	3	2,5
5	85	2	0	3	10

6	85	3	0,5	3	8,5
7	80	3	1	3	13
8	90	3	1	3	3
9	85	3	0,5	3	8,5
10	80	2	0,5	3	14,5
11	80	3	0	3	14
12	90	2	0,5	3	4,5
13	85	3	0,5	3	8,5
14	90	3	0	3	4
15	85	4	0	3	8
16	85	3	0,5	3	8,5
17	85	4	1	3	7

Pembuatan formula dilakukan sesuai dengan formulasi yang telah dibuat berdasarkan *Software Design-Expert 6.0.8 Portable* yang dimulai dengan memasukkan minyak sereh wangi ke gelas kimia lalu ditambahkan tween 80 dan ekstrak Lerak kemudian diadukmenggunakan *magnetic stirrer* selama 5 menit dan ditambahkan etanol secara perlahan kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit dan disonikasi selama 2 jam.

3.5.4 Karakterisasi nanoemulsi

3.5.4.1 Karakterisasi dengan *Particle Size Analyzer* (PSA)

Ukuran droplet diukur dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* dengan cara membersihkan kuvet hingga bersih. Lalu dimasukkan sampel sebanyak 10 mL ke dalam kuvet dan dilakukan analisis dengan instrument. Kemudian dipilih *icon* "*measurement*" dari data *Acquisition* pada panel fungsi, lalu dipilih "start". Untuk menampilkan grafik, klik grafik yang diinginkan. Setelah pengukuran selesai data grafik di transfer ke file yang diinginkan dengan klik SOP [40].

3.5.4.2 Karakterisasi dengan Spektrofotometri UV-Vis

Dimasukkan etanol 60% ke dalam kuvet hingga penuh sebagai larutan blanko. Lalu dimasukkan masing-masing sampel yang akan ditentukan nilai transmitansinya pada panjang gelombang 300-800 nm untuk diukur tingkat kejernihan larutannya.

3.5.5 Uji nilai pH, viskositas, stabilitas nanoemulsi dan uji organoleptik

3.5.5.1 Uji pH

Sebelum dilakukan pengukuran pH larutan sampel, pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan buffer pH 4 dan pH 7. Setelah itu elektroda dibersihkan menggunakan aquades dan dikeringkan menggunakan tissue. pH meter dimasukkan ke dalam larutan sampel dan dibaca hasil yang ditunjukkan pada layar pH meter. Pengukuran pH dilakukan terhadap semua sampel dan dilakukan kalibrasi ulang sebelum pengukuran untuk memastikan konsistensi pengukuran pH meter.

3.5.5.2 Viskositas

Piknometer kosong ditimbang menggunakan neraca. Lalu dimasukkan masing-masing formulasi nanoemulsi *hand sanitizer* ke dalam piknometer menggunakan pipet tetes dan ditimbang. Kemudian dimasukkan 8 mL formula nanoemulsi *hand sanitizer* ke dalam viskometer oswald dan dibiarkan 10 menit hingga temperatur konstan dan dihitung waktu alirnya menggunakan *stopwatch*.

3.5.5.3 Stabilitas nanoemulsi

Dimasukkan masing-masing sampel ke dalam tabung sentrifugator sebanyak 10 mL dan di sentrifugasi dengan kecepatan 3800 rpm selama 5 jam dan diamati hasilnya. Setelah itu diukur tingkat kejernihannya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis berdasarkan nilai %Transmitansi nya setiap 1 jam.

3.5.6 Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan cara di ujikan kepada 30 orang panelis yang akan memberikan penilaian tentang respon kenyamanan penggunaan berdasarkan daya lengket dan kecepatan keringsetelah pengaplikasian *hand sanitizer* pada tangandengan mengisi kuisioner penilaian.

Berikut adalah contoh kuisioner penilian yang diberikan kepada panelis:

Tanggal :
Nama Panelis :
Produk Uji : Prototipe nanoemulsi *hand sanitizer*

Instruksi : Nyatakan penilaian anda dan berikan tanda check (✓) pada pernyataan yang sesuai dengan penilaian anda

Tabel 3.4: Lembar penilaian panelis
Daya lengket

Sampel	Skor			
	1	2	3	4
1 2				

Note:
1 : Sangat Lengket
2 : Lengket
3 : Cukup Lengket
4 : Tidak Lengket

Tabel 3.5: Lembar penilaian panelis
Kecepatan Kering

Sampel	Skor			
	1	2	3	4
1 2				

Note:
1 : > 5 menit
2 : 2-3 menit
3 : 1 menit
4 : < 1 menit

3.6Analisis data

Data fisiko-kimia dikumpulkan dan ditabulasi kemudian diolah menggunakan perangkat lunak excel dan design expert untuk memperoleh persamaan permukaan respon.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan ekstrak Lerak dan uji antibakteri ekstrak buah Lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan ekstrak Lerak sehingga diperoleh ekstrak Lerak berbentuk cair dengan aroma yang khas dan berwarna coklat tua dengan berat jenis 1,06 g/mL dengan konsentrasi ekstrak Lerak sebesar 0,42 g/mL.

Gambar 4.1: Hasil ekstrak Lerak

Uji antibakteri ekstrak Lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan metode *Agar Well Diffusio* untuk mengetahui diameter zona hambat dari bakteri tersebut sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4.1: Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Lerak

Konsentrasi (%)	Diameter Zona (mm)
0	0

10	0
20	0
30	0
40	0
50	10,33
60	13,66
70	16
80	16
90	16,5
100	17

Berdasarkan data yang dihasilkan dari uji antibakteri ekstrak Lerak menunjukkan adanya aktifitas antibakteri ekstrak Lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berupa terbentuknya zona hambat difusi agar yang dimulai pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%. Diameter terbesar terdapat pada konsentrasi 100% yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dalam agar dengan diameter sebesar 17 mm dan terkecil terdapat pada konsentrasi 50% yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dalam agar dengan diameter sebesar 10,33 mm.

Tabel 4.2: LC_{50} Ekstrak Lerak

Probability	**95% Confidence**	**Limit for**	**konsentrasi**
	Estimate	**Lower Bound**	**Upper Bound**
10	10.18	-37.12	30.63
100	33.268	2.463	48.962
200	42.99	18.247	57.561
300	50.001	29.013	64.376
400	55.99	37.64	70.77
500	61.589	45.123	77.331
600	67.188	51.992	84.503
700	73.178	58.683	92.835
800	80.188	65.772	103.328
900	89.91	74.426	118.85

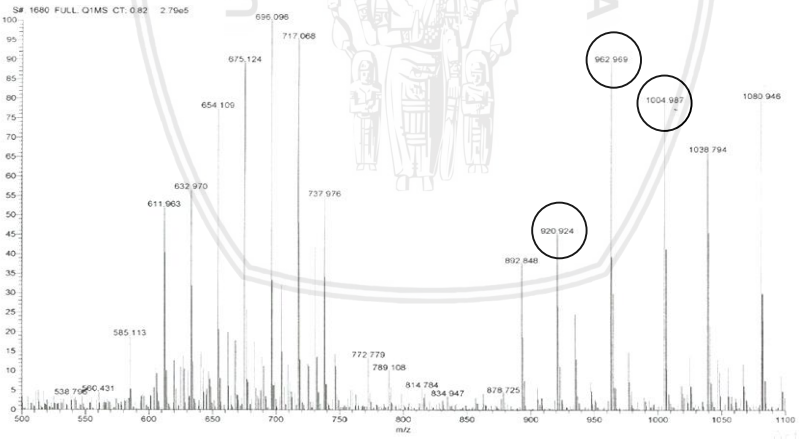
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

990	112.99	93.22	158.168

Berdasarkan diameter zona hambat yang telah diperoleh, dapat ditentukan nilai LC_{50} (*Inhibitory Contrentration 50)* ekstrak Lerak untuk mengetahui nilai konsentrasi ekstrak Lerak yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan sebagian bakteri *Staphylococcus aureus.* Nilai LC_{50} diperoleh menggunakan *software* SPSS untuk mendapatkan nilai probit sehingga diperoleh nilai LC_{50} sebesar 61,589%. Sehingga untuk menghambat pertumbuhan 50% bakteri *Staphylococcus aureus* diperlukan ekstrak Lerak dengan konsentrasi 61,589%. Menurut Winarsih [41], ekstrak Lerak berpotensi sebagai antibakteri karena terdapat saponin dan flavonoida. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak Lerak maka semakin banyak pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang terhambat.

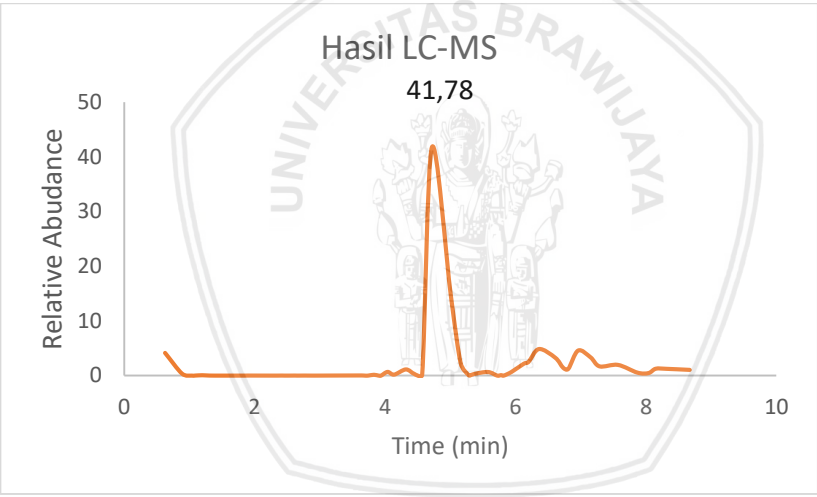
4.2 Identifikasi komposisi senyawa saponin ekstrak buah Lerak menggunakan LC-MS

Hasil identifikasi saponin pada ekstrak Lerak menggunakan LC-MS diperoleh hasil sebagai berikut:



Gambar 4.2: Spektra massa hasil analisis saponin ekstrak Lerak menggunakan LC-MS

Hasil analisis ekstrak Lerak menggunakan LC-MS diperoleh kromatogram **Gambar 4.2.** Dapat diketahui bahwa senyawa saponin yang terdapat pada ekstrak Lerak dapat terdeteksi dengan esi positif yang lebih sensitif daripada esi negatif. Berdasarkan **Gambar 4.2.** terilihat nilai m/z senyawa saponin sebesar 920,924; 962,969 dan 1004,987. Karena mode positif terdapat penambahan ion K maka m/z pada molekul saponin berturut-turut yaitu 881; 923; 965 Menurut Hamburger [19] saponin pada ekstrak Lerak terdiri dari beberapa jenis. Jenis saponin 1 dan 2 memiliki nilai m/z sebesar 965. Jenis saponin 3 memiliki nilai m/z sebesar 923. Sedangkan jenis saponin 4 memiliki nilai m/z sebesar 881. Sehingga jenis saponin pada ekstrak Lerak yang mampu terdeteksi oleh LC-MS adalah jenis saponin 1,2,3 dan 4. Kemampuan saponin sebagai surfaktan disebabkan oleh adanya gugus-gugus hidrofilik dan hidrofobik pada saponin.



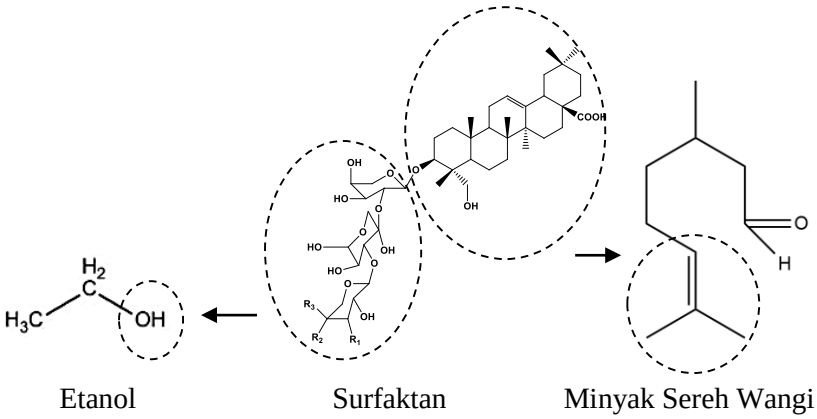
Gambar 4.3: Hasil perbesaran kromatogram pada Peak 1000

Berdasarkan **Gambar 4.3.** hasil analisis menggunakan LCMS diperoleh luas area saponin pada ekstrak Lerak sebesar 41,78% sehingga diperoleh konsentrasi saponinekstrak Lerak sebesar 0,42 g/mL. Menurut Winarsih [41] saponin yang tersusun pada Lerak dapat menghambat proses sintesis protein melalui tahap translasi dan

transkripsi. Selain itu saponin memiliki kemampuan melisiskan membrane sel bakteri dan menghambat kerja DNA polimerase yang menyebabkan sintesis asam nukleat terganggu. Sifat lipofilik yang dimiliki Lerak ini dapat merusak membrane mikroba.

4.2.1 Pembentukan emulsi

Nanoemulsi adalah sistem emulsi transparan tembus cahaya yang merupakan sistim dispersi antara minyak air yang distabilkan menggunakan surfaktan dengan ukuran droplet antara 50-500 nm [10]. Nanoemulsi dibuat dari surfaktan dalam fasa air agar lebih stabil. Komponen sediaan nanoemulsi meliputi minyak, surfaktan dan fasa air [31]. Pada penelitian ini ekstrak Lerak digunakan sebagai surfaktan alami karena pada ekstrak lerak mengandung saponin yang dapat bersifat sebagai antibakteri dan terdapat gugus-gugus hidrofilik dan hidrofobik. Surfaktan memiliki gugus hidrofilik yang merupakan senyawa polar penyuka air dan gugus hidrofobik yang merupakan senyawa non polar penyuka lemak atau minyak [42]. Etanol merupakan fasa air yang bersifat hidrofilik sedangkan sereh wangi merupakan minyak atsiri yang bersifat hidrofobik sehingga etanol yang bersifat hidrofilik dapat mengikat ke bagian hidrofilik pada surfaktan dan sereh wangi yang bersifat hidrofobik dapat mengikat ke bagian hidrofobik pada surfaktan. Senyawa komponen utama yang ada pada pada minyak sereh wangi seperti rantai atom C pada sitronellal, sitronellol dan geraniol bersifat non polar. Rantai atom C yang dapat bereaksi dengan surfaktan bersifat hidrofobik. Hal ini disebabkan karena gugus hidrofobik pada surfaktan tidak suka air sehingga minyak sereh wangi dapat mengikat pada gugus surfaktan. Emulsifier yang digunakan untuk menstabilkan emulsi adalah tween 80. Sehingga dengan adanya surfaktan pada ekstrak lerak ini dapat mencampurkan dua fasa yang tidak bercampur antara fasa air dan fasa minyak sehingga dapat terbentuk emulsi secara stabil.



Gambar 4.4: Gambar pembentukan emulsi dengan surfaktan Lerak

Formulasi formula *hand sanitizer* nanoemulsi berdasarkan metoda permukaan respone menggunakan*Software Design Expert 6.0.8 Portable*

Berdasarkan formula yang telah dibuat, diperoleh 17 komposisi formula. Formula yang dihasilkan berbentuk cair dengan aroma sereh, berwarna kekuningan dengan terkstur yang tidak kental. Berdasarkan bahan yang digunakan ekstrak lerak merupakan surfaktan alami yang mengandung saponin yang memiliki kemampuan menstabilkan tegangan permukaan. Surfaktan memiliki gugus hidrofilik yang merupakan senyawa polar penyuka air dan gugus hidrofobik yang merupakan senyawa non polar penyuka lemak atau minyak sehingga dapat mencampurkan fasa air yang merupakan alkohol dan fasa minyak yang merupakan sereh wangi [42]. Oleh sebab itu penggunaan surfaktan sangat diperlukan dalam pembentukan emulsi agar dapat menyatukan antara fase air dan fase minyak.

4.4Karakterisasi nanoemulsi menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA), dan Spektrofotometer UV-Vis

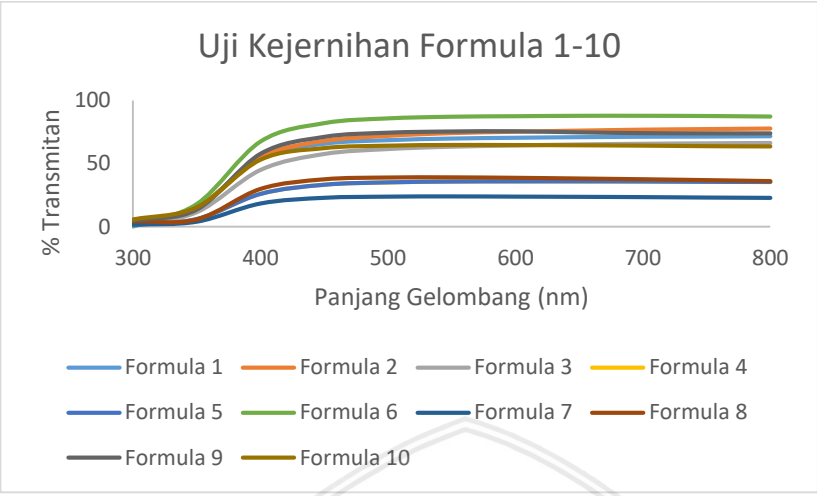
4.4.1 Karakterisasi dengan *Particle Size Analyzer* (PSA)

Karakterisasi nanoemulsi menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) pada **Lampiran E** menunjukkan hasil bahwa sampel yang dapat terbaca distribusi ukuran partikelnya adalah sampel 5, 11, 14 dan 15. Sampel 5 pada tingkat distribusi ukuran partikel 90% memiliki ukuran droplet sebesar 83,205 µm. Sampel 11 pada tingkat distribusi

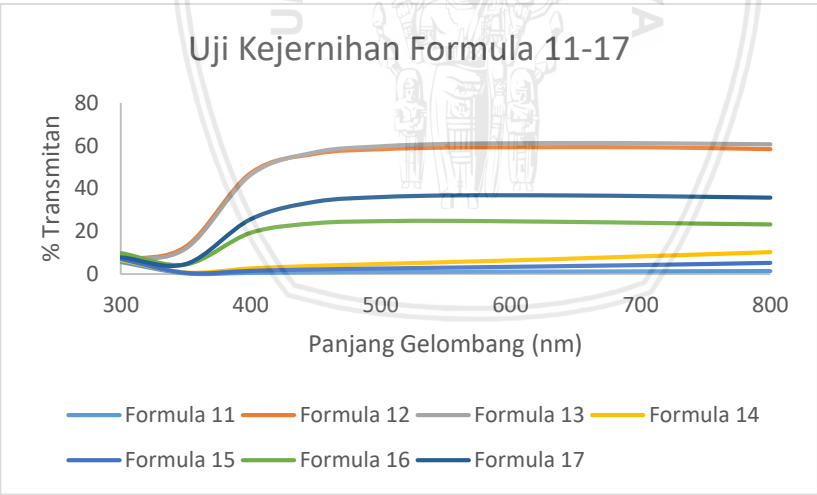
ukuran partikel 90% memiliki nilai distribusi ukuran droplet sebesar 14,930 µm. Sampel 14 pada tingkat distribusi ukuran partikel 90% memiliki nilai distribusi ukuran droplet sebesar 7,702 µm. Sampel 15 pada tingkat distribusi ukuran partikel 90% memiliki nilai distribusi ukuran droplet sebesar 9,178 µm. Sedangkan pada tingkat distribusi ukuran partikel 1% sampel 5 memiliki distribusi ukuran droplet sebesar 296 nm, sampel 11 pada tingkat distribusi ukuran partikel 1% memiliki distribusi ukuran droplet sebesar 536 nm, sampel 14 pada tingkat distribusi ukuran partikel 1% memiliki distribusi ukuran droplet sebesar 296 nm dan sampel 15 pada tingkat distribusi ukuran partikel 1% memiliki distribusi ukuran droplet sebesar 296 nm. Sehingga input yang dimasukkan ke dalam *software* adalah hasil ukuran droplet dengan tingkat distribusi ukuran partikel sebesar 1%. Menurut Shakeel dkk.[10] nanoemulsi merupakan dispersi antara minyak air yang distabilkan menggunakan surfaktan dengan ukuran droplet antara 50-500 nm. Berdasarkan hal tersebut, pada tingkat distribusi ukuran partikel 90% sampel 5, 11, 14 dan 15 masih belum memenuhi syarat tersebut untuk dikatagorikan sebagai nanoemulsi karena distribusi ukuran droplet pada sampel yang diujikan belum mencapai 500 nm. Karena partikel yang diperoleh dari hasil analisis PSA belom mencapai ukuran nanometer, maka metode sonikasi secara optimum belum mampu menghasilkan ukuran nanometer. Hal ini disebabkan karena kecilnya kemampuan sonikator yang digunakan sehingga belum efektif dalam menghasilkan ukuran nanometer

4.4.2 Karakterisasi nanoemulsi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Karakterisasi nanoemulsi dilakukan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur tingkat kejernihan formula nanoemulsi pada panjang gelombang 300-800 nm sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:



Gambar 4.5: Grafik Hubungan Antara % Transmitan dan Panjang Gelombang pada Formula 1-10



Gambar 4.6: Grafik Hubungan Antara % Transmitan dan Panjang Gelombang pada Formula 11-17

Berdasarkan uji kejernihan yang telah dilakukan diperoleh grafik yang menunjukkan bahwa formula 6, 2, 9, 1 yang memiliki kejernihan tinggi dan mengalami kestabilan pada panjang gelombang 450-800 nm dengan besar nilai %Transmitan mendekati 100%. Pengukuran %Transmitan dilakukan untuk mengetahui tingkat kejernihan yang terbentuk oleh formula. Jika nilai %Transmitan semakin tinggi maka formula akan semakin jernih. Apabila nilai %Transmitansi semakin tinggi maka ukuran droplet yang diukur semakin kecil sehingga cahaya dapat diteruskan oleh sampel. Jika cahaya dapat diteruskan oleh sampel maka ukuran droplet dari sampel berukuran sangat kecil mendektai ukuran nanometer [43].

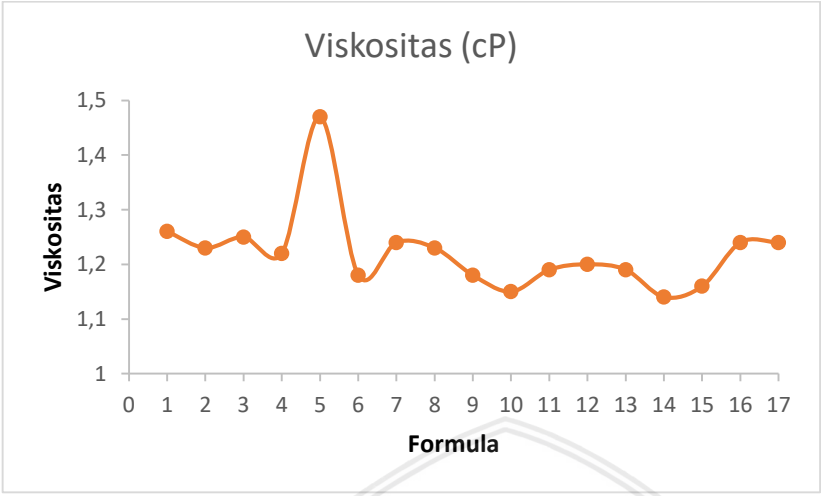
4.5 Uji nilai pH, viskositas, stabilitas nanoemulsi dan uji organoleptik

4.5.1 Uji pH

Pengukuran pH terhadap seluruh formula dilakukan dengan menggunakan pH meter. Masing-masing formula memiliki nilai pH yang tidak berbeda secara signifikan antara formula satu dengan yang lain seperti yang ditunjukkan pada **Lampiran G**. Sehingga dapat disimpulkan bahwa secara keseluruhan diperoleh formula yang memiliki nilai pH dengan rata-rata sebesar 4,27±0,15. Menurut Ali dan Yosipovitch [44] kulit pada tangan memiliki nilai pH sebesar 4-6 sehingga pada formula yang telah dibuat tersebut masih termasuk pada batas aman pH pada kulit.

4.5.2 Uji Viskositas

Pengukuran viskositas terhadap seluruh formula yang telah dilakukan dengan menggunakan viskometer oswald sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:



Gambar 4.7: Nilai Viskositas Formula *Hand Sanitizer*

Berdasarkan data diatas, dapat dilihat bahwa formula yang terbentuk memiliki viskositas sebesar sebesar 1,22±0,07 cP seperti data yang ditunjukkan pada. Viskositas yang dihasilkan oleh masing-masing formula tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Nilai viskositas pada larutan ini termasuk rendah, hal ini dipengaruhi oleh lamanya waktu pengadukan pada saat pencampuran formula. Karena semakin lama waktu pengadukan maka dapat menurunkan nilai viskositas emulsi [45]. Kenaikan suhu pada saat proses sonikasi dapat menstabilkan emulsi minyak kasar sehingga akan menurunkan viskositas emulsi yang membuat laju tumbukan antar droplet meningkat sehingga menyebabkan besarnya ukuran droplet yang dihasilkan [45]

4.5.3 Uji Stabilitas Nanoemulsi

Pengukuran stabilitas nanoemulsi formula *hand sanitizer* yang telah dilakukan dengan sentrifugasi kecepatan 3800 rpm selama 5 jam ditentukan nilai %Transmitannya untuk mengetahui tingkat kestabilan formula. Berdasarkan pengujian stabilitas yang telah dilakukan tidak terjadi adanya pemisahan fasa pada semua formula yang telah diuji. Pada **Lampiran H.** %Transmitan yang dihasilkan setiap formula cenderung stabil pada waktu ke waktu. Hal ini menunjukkan bahwa formula yang telah dibuat cenderung memiliki emulsi yang stabil

secara fisik dan dapat melalui penyimpanan selama 1 tahun. Stabilitas nanoemulsi dipengaruhi oleh nilai viskositas yang cenderung rendah. Kenaikan suhu pada saat proses sonikasi dapat menstabilkan emulsi minyak kasar sehingga akan menurunkan viskositas emulsi yang membuat laju tumbukan antar droplet meningkat sehingga menyebabkan besarnya ukuran droplet yang dihasilkan [45]. Ketidakstabilan emulsi dapat ditandai dengan terjadinya agregasi, koalenses, flokulasi dan *creaming*. Koalensen menyebabkan peningkatan ukuran droplet dan volume fase serta pertumbuhan viskositas. Flokulasi dan koagulasi disebabkan oleh interaksi ukuran droplet ukuran droplet. *Creaming* disebabkan karena adanya perbedaan densitas antara fase minyak dan air karena droplet, dengan ukuran yang lebih kecil dari 0,5 µm tidak menyebabkan *creaming* [46].

4.5.4 Uji organoleptik

Pengujian organoleptik pada **Lampiran J.** yang dilakukan pada 25 Mei 2018 - 30 Mei 2018 di lingkungan Kimia Universitas Brawijaya dilakukan oleh 30 panelis yang merupakan mahasiswa Kimia angkatan 2014 dan 2016. Kemudian berdasarkan uji organoleptik diperoleh sebanyak 73,33% panelis memilih formula 3 dan 4 sebagai formula yang tidak lengket saat diaplikasikan pada tangan dan sebanyak 96,67% panelis memilih formula 9 sebagai formula yang paling cepat kering saat diaplikasikan pada tangan.

Berdasarkan **Lampiran J.2** dapat diketahui bahwa daya lengket paling rendah yang banyak dipilih oleh panelis terdapat pada formula nomor 3 dan 4. Adapun komposisi dari formula 3 terdiri dari 80% etanol, 4% ekstrak Lerak dan 0,5% tween 80 sedangkan formula 4 terdiri dari 90% etanol, 4% ekstrak Lerak dan 0,5% tween 80. Hal ini disebabkan karena sifat hidrofobik yang dimiliki oleh tween 80 dapat mengikat sempurna ke sisi hidrofobik surfaktan pada lerak sehingga mengurangi rasa lengket setelah diaplikasikan pada tangan. Karena interaksi sifat hidrofobik antara Lerak dan tween 80 dapat mempengaruhi tingkat kelengketan pada kulit karena kulit bersifat hidrofobik . Tween 80 sebagai emulsifier dapat mempengaruhi Sedangkan berdasarkan **Lampiran J.4** dapat diketahui bahwa kecepatan kering paling tinggi yang banyak dipilih oleh panelis terdapat pada formula nomor 9. Adapun komposisi dari formula 9

terdiri dari 85% etanol, 3% ekstrak Lerak dan 0,5% tween 80. Hal ini disebabkan karena tingginya penggunaan alkohol yang menyebabkan formula nomor 9 memiliki kecepatan kering yang tinggi

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

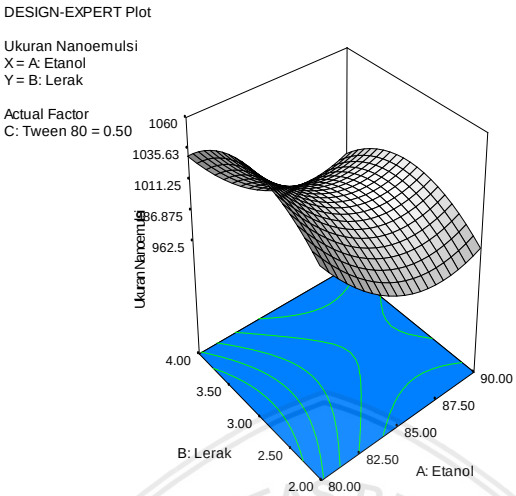
4.6 Optimasi Desain Pembuatan *Hand Sanitizer*

Optimasi desain pembuatan *hand sanitizer* dilakukan dengan menggunakan *Software Design Expert 6.0.8 Portable*. *Software* ini digunakan untuk mengetahui model matematis yang dapat menggambarkan hubungan antara etanol, Lerak dan tween 80 dengan respon ukuran nanoemulsi, kejernihan, stabilitas formula, kelengketan dan kecepatan kering masing-masing formula. Dari hasil analisis ini akan diperoleh solusi formula terbaik yang dapat digunakan sesuai dengan respon yang diinginkan. Berdasarkan analisis yang dilakukan akan diperoleh persamaan matematika dari setiap respon, grafik 3D metode permukaan respon dan grafik kontur metode permukaan respon pada setiap masing-masing respon. Pada persamaan matematika yang dihasilkan akan menunjukkan bahwa masing-masing respon dipengaruhi oleh semua faktor yang diamati. Setiap faktor mempengaruhi respon sesuai dengan konstantanya. Dimana konstanta positif memberikan nilai yang setara dengan respon sedangkan konstanta negatif memberi pengaruh berkebalikan dengan respon [47].

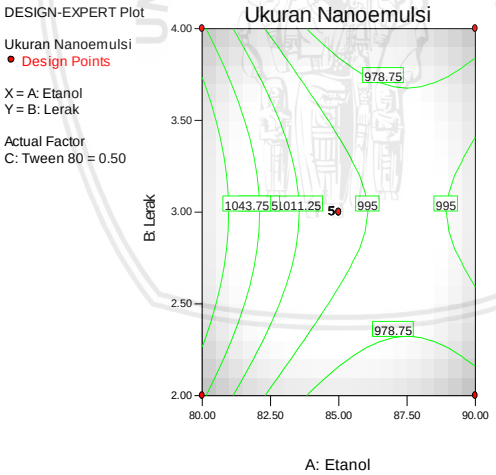
Pada penentuan respon ukuran nanoemulsi diperoleh persamaan sebagai berikut:

$$y_{nanoemulsi} = -30(A) + 0(B) + 322\,(C) + 30\,(A^2) - 30\,(B^2) - 322\,(C^2) + 0\,(AB) + 60\,(AC) + 0\,(BC) + 1000$$

Dimana y adalah persamaan respon ukuran nanoemulsi, A adalah etanol, B adalah Lerak dan C adalah tween 80. Dari persamaan tersebut menunjukkan bahwa pada model persamaan yang disajikan faktor yang memiliki konstanta positif adalah Lerak dan tween 80. Peningkatan nilai faktor-faktor tersebut akan meningkatkan nilai ukuran nanoemulsi. Sedangkan etanol sebagai konstanta negatif akan menurunkan nilai ukuran nanoemulsi seiring dengan meningkatnya jumlah etanol. Sehingga dari persamaan tersebut diperoleh grafik sebagai berikut:



Gambar 4.8: Grafik 3D metode respon permukaan ukuran nanoemulsi pada perlakuan etanol dan Lerak



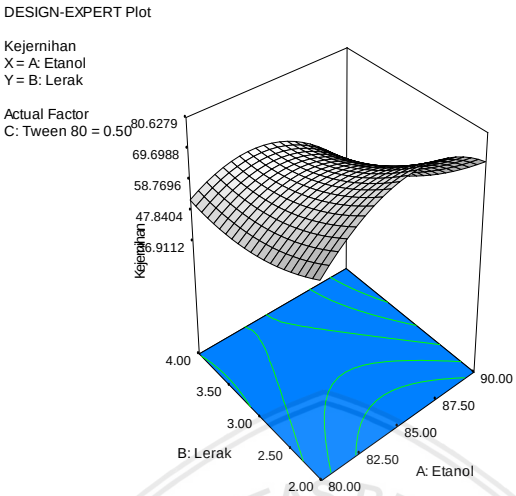
Gambar 4.9: Grafik kontur metode respon permukaan ukuran nanoemulsi pada perlakuan etanol dan Lerak

Pada **Gambar 4.8** terlihat bahwa gambar berbentuk bergelombang tidak menyerupai parabola, hal ini bisa saja dianggap tidak baik karena grafik belum menunjukkan adanya nilai maksimal. Posisi nilai respon tersebut ditunjukkan pada permukaan yang paling tinggi dibanding yang lainnya. Perhitungan ANOVA pada *Software Design Expert 6.0.8 Portable* menunjukkan nilai F-hitung kombinasi kedua faktor ini cukup tinggi yaitu 70,08. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi faktor etanol dan Lerak memberikan pengaruh nyata terhadap ukuran nanoemulsi. Sedangkan pada **Gambar 4.9** terlihat garis kontur melingkar dengan titik merah di lingkaran dalam. Sebanyak 5 titik merah pada gambar merupakan 5 titik *center point* atau titik pusat dari percobaan yang dilakukan, dimana semua faktor menggunakan nilai pada titik pusat. Hal ini menunjukkan bahwa nilai respon terbaik akan diperoleh pada kondisi yang mendekati dengan titik pusat dari desain percobaan[47]. Pada penelitian ini tidak diperoleh nilai *p-value* F *lack of fit* pada respon ukuran nanoemulsi sehingga dapat disimpulkan bahwa model yang digunakan tidak sesuai dengan respon yang dipilih. Hal tersebut terjadi karena belum tercapainya ukuran nanometer pada pengukuran nanoemulsi formula.

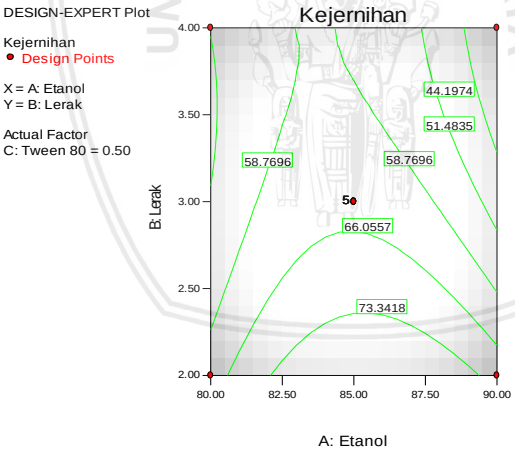
Pada penentuan respon kejernihan formula diperoleh persamaan sebagai berikut:

$$y_{kejernihan} = -168(A) - 11{,}15(B) + 15{,}01(C) - 13{,}76(A^2) + 5{,}21(B^2) - 32{,}91(C^2) - 5{,}72(AB) + 2{,}17(AC) - 0{,}53(BC) + 64$$

Dimana y adalah persamaan respon kejernihan formula, A adalah etanol, B adalah Lerak dan C adalah tween 80. Dari persamaan tersebut menunjukkan bahwa pada model persamaan yang disajikan faktor yang memiliki konstanta positif adalah tween 80. Peningkatan nilai faktor tersebut akan meningkatkan nilai kejernihan formula. Sedangkan etanol dan Lerak sebagai konstanta negative akan menurunkan nilai kejernihan formula seiring dengan meningkatnya jumlah etanol dan Lerak. Sehingga dari persamaan tersebut diperoleh grafik sebagai berikut:



Gambar 4.10: Grafik 3D metode respon permukaan kejernihan formula pada perlakuan etanol dan Lerak



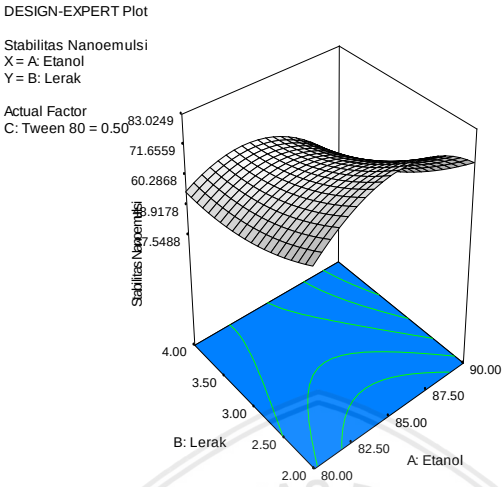
Gambar 4.11: Grafik kontur metode respon permukaan kejernihan formula pada perlakuan etanol dan Lerak

Pada **Gambar 4.10** terlihat bahwa gambar berbentuk bergelombang, hal ini bisa saja dianggap tidak baik karena grafik belum menunjukkan adanya nilai maksimal. Posisi nilai respon tersebut ditunjukkan pada permukaan yang paling tinggi dibanding yang lainnya. Perhitungan ANOVA pada *Software Design Expert 6.0.8 Portable* menunjukkan nilai F-hitung kombinasi kedua faktor ini yaitu sebesar 2,27. Nilai F-hitung ini mengimplikasikan model tidak signifikan dibanding dengan noise. Ada kemungkinan sebesar 14,62% bahwa model F-value sebesar ini terjadi karena adanya noise atau pengganggu. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi faktor etanol dan Lerak tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kejernihan formula.. Sedangkan pada **Gambar 4.11** terlihat garis kontur melingkar dengan titik merah di lingkaran dalam. Sebanyak 5 titik merah pada gambar merupakan 5 titik *center point* atau titik pusat dari percobaan yang dilakukan, dimana semua faktor menggunakan nilai pada titik pusat. Hal ini menunjukkan bahwa nilai respon terbaik akan diperoleh pada kondisi yang mendekati dengan titik pusat dari desain percobaan [47]. Pada penelitian ini diperoleh nilai *p-value* F *lack of fit* pada respon kejernihan sebesar 0,792 tidak signifikan. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa Ho diterima dan model yang digunakan sesuai dengan respon yang dipilih

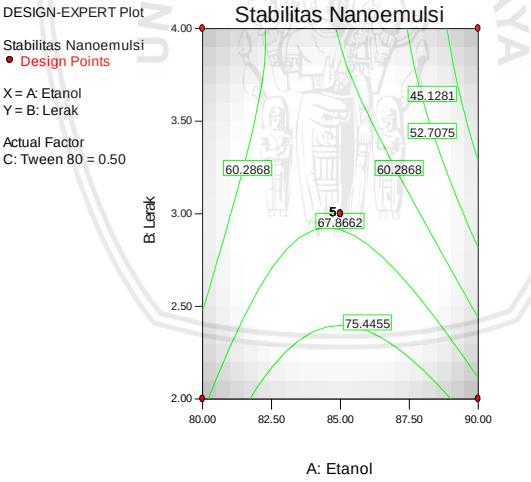
Pada penentuan respon stabilitas formula diperoleh persamaan sebagai berikut:

$$y_{stabilitas} = -3{,}11(A) - 11{,}45(B) + 15{,}90\ (C) - 14{,}25\ (A^2) + 4{,}66\ (B^2) - 33{,}60\ (C^2) - 5{,}15\ (AB) + 1{,}47\ (AC) - 1{,}57\ (BC) + 66{,}85$$

Dimana y adalah persamaan respon stabilitas formula, A adalah etanol, B adalah Lerak dan C adalah tween 80. Dari persamaan tersebut menunjukkan bahwa pada model persamaan yang disajikan faktor yang memiliki konstanta positif adalah tween 80. Peningkatan nilai faktor tersebut akan meningkatkan nilai stabilitas formula. Sedangkan etanol dan Lerak sebagai konstanta negative akan menurunkan nilai stabilitas formula seiring dengan meningkatnya jumlah etanol dan Lerak. Sehingga dari persamaan tersebut diperoleh grafik sebagai berikut:



Gambar 4.12: Grafik 3D metode respon permukaan stabilitas formula pada perlakuan etanol dan Lerak



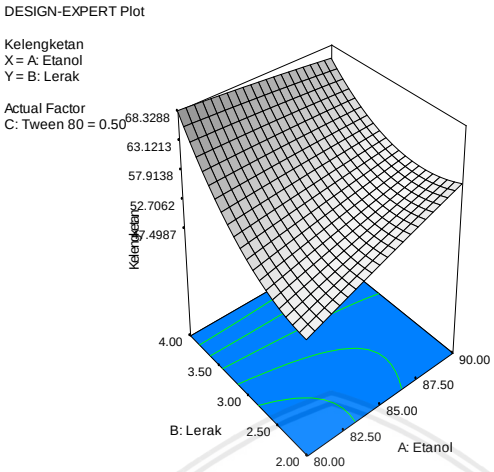
Gambar 4.13: Grafik kontur metode respon permukaan stabilitas formula pada perlakuan etanol dan Lerak

Pada **Gambar 4.12** terlihat bahwa gambar berbentuk bergelombang dan agak melandai tidak menyerupai parabola, hal ini bisa saja dianggap tidak baik karena grafik belum menunjukkan adanya nilai maksimal. Posisi nilai respon tersebut ditunjukkan pada permukaan yang paling tinggi dibanding yang lainnya. Perhitungan ANOVA pada *Software Design Expert 6.0.8 Portable* menunjukkan nilai F-hitung kombinasi kedua faktor ini cukup tinggi yaitu 2,29. Nilai F-hitung ini mengimplikasikan model tidak signifikan dibanding dengan noise. Ada kemungkinan sebesar 14,31% bahwa model F-value sebesar ini terjadi karena adanya noise/pengganggu. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi faktor etanol dan Leraktidak memberikan pengaruh nyata terhadap stabilitas formula nanoemulsi. Sedangkan pada **Gambar 4.13** terlihat garis kontur melingkar dengan titik merah di lingkaran dalam. Sebanyak 5 titik merah pada gambar merupakan 5 titik *center point* atau titik pusat dari percobaan yang dilakukan, dimana semua faktor menggunakan nilai pada titik pusat. Hal ini menunjukkan bahwa nilai respon terbaik akan diperoleh pada kondisi yang mendekati dengan titik pusat dari desain percobaan [47]. Pada penelitian ini diperoleh nilai *p-value* F *lack of fit* pada respon stabilitas sebesar 0,728 tidak signifikan. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa Ho diterima dan model yang digunakan sesuai dengan respon yang dipilih

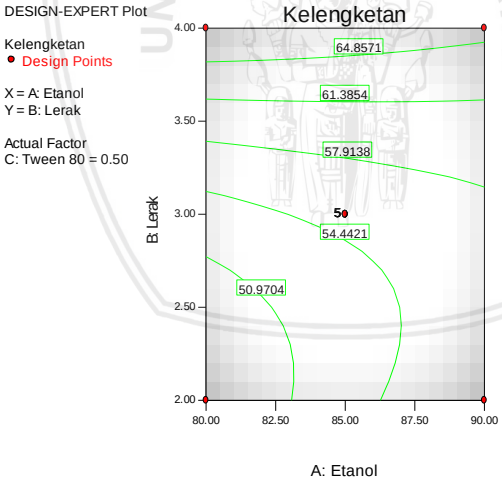
Pada penentuan respon daya lengket formula diperoleh persamaan sebagai berikut:

$$y_{kelengketan} = 2{,}08(A) + 7{,}08(B) + 1{,}67\ (C) - 0{,}17\ (A^2) + 4{,}83\ (B^2) - 12{,}67\ (C^2) - 3{,}33\ (AB) - 5{,}84\ (AC) + 4{,}17\ (BC) + 55{,}33$$

Dimana y adalah persamaan respon daya lengket formula, A adalah etanol, B adalah Lerak dan C adalah tween 80. Dari persamaan tersebut menunjukkan bahwa pada model persamaan yang disajikan faktor yang memiliki konstanta positif adalah etanol, Lerak dan tween 80 sehingga peningkatan jumlai nilai faktor tersebut akan meningkatkan nilai kelengketan formula dengan kata lain dengan meningkatnya skor tingkat kelengketan atau dapat dikatakan semakin tidak lengket. Sehingga dari persamaan tersebut diperoleh grafik sebagai berikut:



Gambar 4.14: Grafik 3D metode respon permukaan tingkat kelengketan formula pada perlakuan etanol dan Lerak



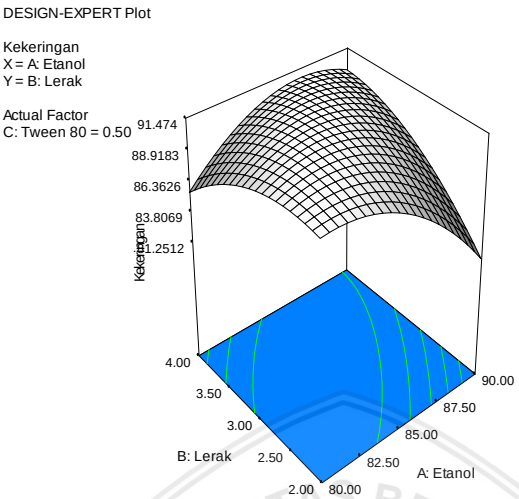
Gambar 4.15: Grafik kontur metode respon permukaan tingkat kelengketan formula pada perlakuan etanol dan Lerak

Pada **Gambar 4.14** terlihat bahwa gambar berbentuk bergelombang dan melandai kearah bawah tidak menyerupai parabola, hal ini bisa saja dianggap tidak baik karena grafik belum menunjukkan adanya nilai maksimal. Posisi nilai respon tersebut ditunjukkan pada permukaan yang paling tinggi dibanding yang lainnya. Perhitungan ANOVA pada *Software Design Expert 6.0.8 Portable* menunjukkan nilai F-hitung kombinasi kedua faktor ini cukup tinggi yaitu 2,18. Nilai F-hitung ini mengimplikasikan model tidak signifikan dibanding dengan noise. Ada kemungkinan sebesar 15,90% bahwa model F-value sebesar ini terjadi karena adanya noise/pengganggu. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi faktor etanol dan Lerak tidak memberikan pengaruh nyata terhadap tingkat kelengketan formula. Sedangkan pada **Gambar 4.15** terlihat garis kontur melingkar dengan titik merah di lingkaran dalam. Sebanyak 5 titik merah pada gambar merupakan 5 titik *center point* atau titik pusat dari percobaan yang dilakukan, dimana semua faktor menggunakan nilai pada titik pusat. Hal ini menunjukkan bahwa nilai respon terbaik akan diperoleh pada kondisi yang mendekati dengan titik pusat dari desain percobaan [47]. Pada penelitian ini diperoleh nilai *p-value* F *lack of fit* pada respon kelengketan formula sebesar 0,218 tidak signifikan. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa Ho diterima dan model yang digunakan sesuai dengan respon yang dipilih

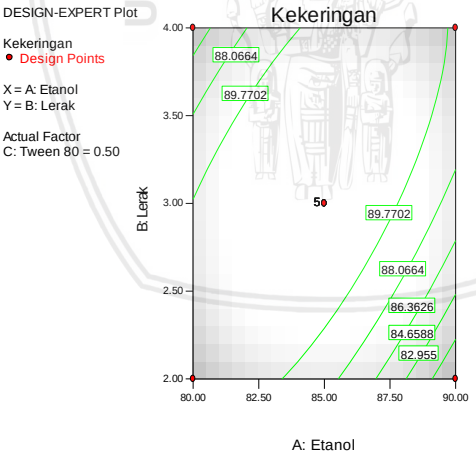
Pada penentuan respon kecepatan kering formula diperoleh persamaan sebagai berikut:

$$y_{\text{kecepatan kering}} = -1{,}25(A) + 0{,}83(B) - 0{,}42\,(C) - 2{,}75\,(A^2) - 1{,}92\,(B^2) - 2{,}75\,(C^2) + 3{,}33\,(AB) - 2{,}50\,(AC) + 5{,}00\,(BC) + 91{,}33$$

Dimana y adalah persamaan respon kecepatan kering formula, A adalah etanol, B adalah Lerak dan C adalah tween 80. Dari persamaan tersebut menunjukkan bahwa pada model persamaan yang disajikan faktor yang memiliki konstanta positif adalah adalah Lerak. Peningkatan nilai faktor tersebut akan meningkatkan nilai tingkat kekeringan formula. Sedangkan etanol dan tween 80 sebagai konstanta negatif akan menurunkan nilai tingkat kekeringan formula seiring dengan meningkatnya jumlah etanol dan tween 80. Sehingga dari persamaan tersebut diperoleh grafik sebagai berikut:



Gambar 4.16: Grafik 3D metode respon permukaan tingkat kekeringan formula pada perlakuan etanol dan Lerak



Gambar 4.17: Grafik kontur metode respon permukaan tingkat kekeringan formula pada perlakuan etanol dan Lerak

Pada **Gambar 4.16** terlihat bahwa gambar berbentuk bergelombang menyerupai parabola, hal ini bisa saja dianggap baik karena grafik menunjukkan adanya nilai maksimal. Posisi nilai respon tersebut ditunjukkan pada permukaan yang paling tinggi dibanding yang lainnya. Perhitungan ANOVA pada *Software Design Expert 6.0.8 Portable* menunjukkan nilai F-hitung kombinasi kedua faktor ini cukup tinggi yaitu 2,79. Nilai F-hitung ini mengimplikasikan model tidak signifikan dibanding dengan noise. Ada kemungkinan sebesar 9,48% bahwa model F-value sebesar ini terjadi karena adanya noise/pengganggu. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi faktor etanol dan Lerak tidak memberikan pengaruh nyata terhadap tingkat kelengketan formula. Sedangkan pada **Gambar 4.17** terlihat garis kontur melingkar dengan titik merah di lingkaran dalam. Sebanyak 5 titik merah pada gambar merupakan 5 titik *center point* atau titik pusat dari percobaan yang dilakukan, dimana semua faktor menggunakan nilai pada titik pusat. Hal ini menunjukkan bahwa nilai respon terbaik akan diperoleh pada kondisi yang mendekati dengan titik pusat dari desain percobaan [47]. Pada penelitian ini diperoleh nilai *p-value* F *lack of fit* pada respon kecepatan kering sebesar 0,732 tidak signifikan. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa Ho diterima dan model yang digunakan sesuai dengan respon yang dipilih.

Software Design Expert 6.0.8 Portable juga memberikan informasi tambahan mengenai nilai koefisien korelasi atau R-square (R^2). Nilai ini digunakan untuk menunjukkan besar pengaruh variabel bebas dan variabel terikat. Nilai R-square dirasa semakin baik jika memiliki nilai mendekati 1 [47]. Pada penelitian ini hasil perhitungan R-square terhadap respon ukuran nanoemulsi, kejernihan, stabilitas, kelengketan dan kecepatan kering formula yaitu sebesar 0,989; 0,745; 0,747; 0,737; 0,782 yang memiliki arti bahwa pengaruh variabel bebas A (etanol), B (Lerak), dan C (tween 80) terhadap perubahan variabel tetap berupa respon Y yaitu sebesar 98,9%; 74,5%; 74,7%; 73,7%; 78,2%. Sedangkan sisanya sebesar 1,1%; 25,5%; 25,3%; 26,3%; 21,8% pada masing-masing respon merupakan faktor lain diluar variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa semua faktor yang diamati pada setiap respon memiliki pengaruh yang besar dan nyata pada masing-masing respon yang diberikan.

Berdasakan persamaan model yang diberikan oleh masing-masing respon *Software Design Expert 6.0.8 Portable* memberikan solusi titik-titik optimal bagi setiap faktor. Solusi yang diberikan dapat digunakan untuk memaksimalkan respon ukuran nanoemulsi dipilih *minimize*, kejernihan, stabilitas kelengketan dan kecepatan kering formula sehingga dipilih *maximize* sebagai kriteria perhitungan, sedangkan kriteria tiap faktor dipilin *in range* untuk menggunakan rentang terrendah dan tertinggi yang telah ditetapkan oleh matriks pada percobaan awal, sehingga diperoleh solusi sebagai berikut:

Tabel 4.3: Pengolahan Data Optimasi Respon

Nama	Goal	Batas Nilai		Importance
		Bawah	Atas	
Etanol	In range	80	90	3
Leral	In range	2	4	3
Tween 80	In range	0	1	3
Ukuran Nanoemulsi	Minimize	296	1000	3
Kejernihan	Maximize	1,18	86,65	3
Stabilitas	Maximize	2,47	88,56	3
Kelengketan	Maximize	33,33	73,33	3
Kekeringan	Maximize	80	96,67	3

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui bahwa semua yang diamati memiliki bobot kepentingan yang sama yaitu 3. Nilai optimasi hasil pengolahan akan ditunjukkan dengan adanya nilai *desirability*. Jika terdapat solusi yang ditawarkan maka solusi dengan nilai *desirability* yang mendekati 1 yang diharapkan menjadi solusi terbaik [47]. Titik optimal yang diberikan memiliki nilai *desirability* sebesar 0,577. Nilai ini dianggap cukup baik karena nilainya mendekati 1. Pada solusi pertama etanol yang digunakan sebanyak 86,18%, sedangkan faktor Lerak sebesar 2% dan faktor tween 80 sebesar 0,21%. Pada perlakuan dititik-titik optimal tersebut dapat diprediksikan bahwa nilai respon ukuran nanoemulsi sebesar 667,067 nm, nilai respon kejernihan formula sebesar 60,6063%, nilai stabilitas formula 61,4779%, nilai respon kelengketan sebesar 52,4236% dan

nilai kekeringan sebesar 89,8851% sehingga diperoleh nilai *desirability* sebesar 0,577. Nilai optimasi berdasarkan solusi dengan nilai *desirability* tertinggi perlu dilakukan verifikasi untuk melihat apakah dalam penerapannya akan mendapatkan hasil yang sama dengan perhitungan *software*.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak Lerak memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 10,33-17 mm.
2. Pembentukan nanoemulsi dengan surfaktan Lerak pada prototipe *hand sanitizer* dengan menggunakan metode sonikasi selama 2 jam hanya dapat mencapai ukuran nanoemulsi pada tingkat distribusi ukuran partikel sebesar 1% yaitu menghasilkan ukuran sebesar 296 nm- 536 nm
3. Optimasi hasil prototipe nanoemulsi *hand sanitizer* yang dilakukan menggunakan *Design Expert 6.0.8 Portable* menghasilkan komposisi penggunaan etanol sebanyak 86,18%, ekstrak Lerak sebesar 2% dan tween 80 sebesar 0,21%. Pada komposisi tersebut menghasilkan titik optimal yang diprediksi memiliki ukuran nanoemulsi sebesar 667,067 nm dengan kejernihan formula sebesar 60,60%, stabilitas formula sebesar 61,47%, kelengketan sebesar 52,42% dan nilai kekeringan sebesar 89,88% .

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan peningkatan kekuatan frekuensi sonikator agat dapat membentuk ukuran nano yang diinginkan agar dapat mencapai rentang ukuran nanoemulsi dengan tingkat ukuran distribusi yang lebih tinggi.

repository.ub.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

1. Desiyanto, F. A., & Djannah, S. N. (2013). Efektivitas mencuci tangan menggunakan cairan pembersih tangan antiseptik (hand sanitizer) terhadap jumlah angka kuman. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (Journal of Public Health), 7 (2)*, 55–112.

2. Rahman, A. (2012). *Kitosan sebagai Bahan Antibakteri Alternatif dalam Formulasi Gel Pembersih Tangan (Hand Sanitizer)* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia. Retrieved from http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/61021

3. Putra, S. K. B. T. P. (2016). *Optimasi Formula Gel Hand Sanitizer Minyak Atsiri Jeruk Bergamot dengan Komposisi HPMC dan Propilen Glikol* (Skripsi). Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Indonesia. Retrieved from https://repository.usd.ac.id/4598/2/128114101_full.pdf

4. Administration, F. A. D. (1994). Topical Antimicrobial Product For Over The Counter Use; Tentative Final Monograph For Healthcare Antiseptic Drug Product. *Federal Register*, 59-31221–2.

5. Thalib, A. (2004). Uji Efektivitas Saponin Buah Sapindus rarak sebagai Inhibitor Metanogenesis secara In Vitro pada Sistem Pencernaan Rumen. *JITV, 9 (3)*, 164–171.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

6. Udarno, L. (2009). Lerak (Sapindus rarak) Tanaman Industri Pengganti Sabun Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri, 15 (2).*

7. Puspitaningrum, A., & Silviani, Y. (2016). Potensi Ekstrak Etil Asetat Lerak (Sapindus rarak) sebagai Anti Escherchia coli. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Sains FKIP UNS, 1 (1).*

8. Kardinan, A. (2005). *Tanaman Penghasil Minyak Atsiri Komoditas Wangi Penuh Potensi*. Jakarta: Agromedia.

9. W. M Lina, N., Maharani, T., R Sutharini, M., P. A. D. Wijayanti, N., & W. Astuti, K. (2017). *KARAKTERISTIK NANOEMULSI EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (Garcinia mangostana L.).* doi:10.24843/JFU.2017.v06.i01.p02

10. Shakeel, F., Baboota, S., Ahujaa, A., Ali, J., Faisal, M. S., & Shafiq, S. (2008). Stability Evaluation of Celecoxib Nanoemulsion Containing Tween 80. *Thai Journal Pharm Sci*, *32*, 4–9.

11. Solans, C., Izquiredo, P., Nolla, J., Azemar, N., & Graciar'Celma, J. (2005). Nano-emulsion. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, *10*, 102–110.

12. Shah, P., Bhalodia, D., & Shelat, P. (2010). Nanoemulsion: A Pharmaceutical Review. *Systematic Reviews in Pharmacy, 1 (1)*, 24–32.

13. Hamton, J. A. (1993). Prototype Models of Concept Representation. *Academic Press*, 67–95.

14. Frixione, M., & Lieto, A. (2012). Prototypes Vs Exemplars in Concept Representation. *International Conference on Knowledge Engineering and Ontologi Development*.

15. Mithun, A. T., Babaso, V. U., Tushar, P. H., Manoj, B. M., & Dnyaneshwar, P. (2015). Formulation and Evaluation of Novel Herbal Hand Sanitizer. *Indo American Journal of Pharm Research, 5 (1)*.

16. Stoffels, K. (2008). Soap Nuts Saponins Create Powerfull Natural Surfactan. *Personal Care Megazine Jeen International Coorporation*.

17. Chung, M. N., Kim, C. L., & Shamon, L. (1997). Dereplication of Saccharide and Polyol Constituents of Candidate Sweet-Tasting Plants: Isolation of the Sesquiterpene Glycoside Mukuroziosid as a Sweet Principle of Sapindus rarak. *Phytochem*, *8*, 49–54.

18. Solikhin, A., Mujtahid, A., & Hasyim, R. F. (2011). *Pemanfaatan Lerak (Sapindus rarak DC) sebagai*

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Sabun Nabati yang Ramah Lingkungan. Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia. Retrieved from repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/44112/1/

19. Hamburger, M., Slacanin, I., Hostettmann, K., & Dyatmiko, W. (1992). Acetylated saponins with molluscicidal activity from Sapindus rarak: unambiguous structure determination by proton nuclear magnetic resonance and quantitative analysis. *Phytochemical analysis*, *3*(5), 231–237.

20. Thalib, A., Suherman, D., Hamid, H., Winugroho, M., & Sabrani, M. (n.d.). Buah Lerak (Sapindus rarak DC) dan Prospek Pemanfaatannya pada Ruminan. *Pros. Seminar Nasional Hasil-Hasil Penelitian Sub. Balitnak Klepu Semarang*, 645–655.

21. Hassan, S., Haq, A., Byrd, J., Berhow, M. A., Cartwright, A., & Bailey, C. A. (2010). Haemolytic and Antimicrobial Activities of Saponin-Rich Extracts from Guar Meal. *Food Chem*, *119*, 600–605.

22. Luangnarumitchai, S., Lamlerthon, S., & Tiyaboonchai, W. (2007). Antimicrobial Activity of Essential Oils Against Five Strains of Propionibacterium Acnes. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*, *34*, 60–64.

23. Putriningtyas, D. (2014). *Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (Piper crocatum ruiz & pav.) dan Minyak Atsiri Daun Sereh Wangi (Cymbopogon nardus (L.) rendle) Asal Tawangmangu terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli* (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia. Retrieved from eprints.ums.ac.id/27800/1/COVER-INTISARI.pdf

24. Brugnera, D. F. (2011). *Ricotta: Microbiological Quality and Use of Spices in the Control of Staphylococcus aureus* (Disertasi). University of Lavras, Lavras, Brazil.

25. Author. (2010). A to Z Minyak Atsiri untuk Industri Makanan, Kosmetik, dan Aromaterapi. Yogyakarta: Andi Publisher.

26. Scheuplein, R., & Ross, L. (1970). Effects of Surfactants and Solvents on the Permeability of Epidermis. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, *21*, 853–873.

27. FERDIANTI, A. (2012). MENGGUNAKAN EMULSIFIER TWEEN 80, 64.

28. Parveen, S. (2010). Nanoemulsion as a Novel Carrier for Delivery of Silymarin Against Carbon Tetrarchloride-Induced Hepatic Damage. *Arch Pharm Res*, *34*, 767–74.

29. Agustinisari, I., Purwani, E. Y., Harimurti, N., & Yuliani, S. (2014). Aktivitas Antimikroba Nanoemulsi Minyak Biji Pala. *J Pascapanen*, *11*, 1–8.

30. Gupta, P. K., Swaroop, P., & Gupta, S. (2010). Pharmaceutical Nanotechnology Novel Emulsion High Energy Emulsification Preparation, Evaluatin, and Aplication. *The Pharma Research*.

31. Devarajan, V., & Ravichandran, V. (2011). Nanoemulsion: As Modified Drug Delivery Tool. *International Journal of Comprehensive Pharmacy*, 2–4.

32. Kurnia, Y. (2016). *Pengaruh Tween 80, Propilenglikol, dan VCO dalam Formulasi Hair Tonic Nanoemulsi Ekstrak Daun Mangkokan (Polyscias scutellaria) dan Daun Teh (Camellia sinensis)* (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto, Indonesia. Retrieved from repository.ump.ac.id/407/1/COVER_YENNY%20KURNIA%20T._FARMASI%2716.pdf

33. Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., & Graves, S. M. (2006). Nanoemulsions: Formation Structure, and Physical Properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, *18 635-666*.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

34. Sharma, S., & Sarangdevot, K. (2012). Nanoemulsions for Cosmetics. *The International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio*, *1(3)*, 408–415.

35. Özgün, S. (2013). *Nanomaterials and Nanotechnology Lecture: Nanoemulsion in Cosmetic*. Anadolu University, Turki. Retrieved from https://www.researchgate.net/.../235890223_Nanoemulsions

36. Aviana, T., Hutajulu, T. F., & Isyanti, M. (2015). Pembuatan Nano-Karotenoid Asal Konsentrat Minyak Sawit dengan Cara Sonikasi. *Kurnal Dinamika Penelitian Industri*, *26*, 11–18.

37. Kumari, T. L. C., Sowjanya, G. N., & Bandhavi, P. (2012). Nanoemulsions An Emerging Trend: A Review. *The International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio*, *4(06)*, 137–152.

38. Design and Analysis of Experiments by Douglas Montgomery: A supplement for Using JMP. (2013), 26.

39. Fajrin, J., Hariyadi, & Marchelina, N. (2017). Aplikasi Metode Eksperimen Response Surface Untuk Mengoptimalkan Kuat Tekan Bata Non Bakar. *Jurnal rekayasa Sipil (JRS-UNAND)*, *Vol. 13*, 2. doi:10.25077/jrs.13.2.79-90.2017

40. Stephanie. (2015). *Pengaruh Variasi Fase Minyak dalam Virgin Coconut Oil dan Medium Chain Triglucerides Oil terhadap Stabilitas Fisik Nanoemulsi Minyak Biji Delima dengan Kombinasi Surfaktan Tween 80 dan kosurfaktan PEG 400* (Skripsi). Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Indonesia. Retrieved from https://repository.usd.ac.id/2666/2/128114145_full.pdf

41. Winarsih, S., Hidayati, S., & Sulistyaningsih, R. (2011). *Uji Efektifitas Dekok Kulit Buah Klerak (Sapindus rarak) Sebagai Aantibakteri Terhadap Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Secara In Vitro*. Universitas Brawijaya, Malang. Retrieved from https://vdokumen.com/download/rita-sulistyaningsih

42. Aisyah, S. (2011). *Produksi Surfaktan Alkil Poliglikosida (APG) dan Aplikasinya pada Sabun Cuci Tangan Cair* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia. Retrieved from http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/46818?show=full

43. Wahyuningsih, L., & Putranti, W. (2015). Optimasi Perbandingan Tween 80 dan Propilen Glikol pada Formula Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Minyak Biji Jinten Hitam. *Pharmacy, 12*, 1693–3591.

44. Ali, S., & Yosipovitch, G. (2013). Skin pH: From Basic SciencE to Basic Skin Care. *Acta Dermato Venereologica*, *93*(3), 261–267. doi:10.2340/00015555-1531

45. Sari, D. K., & Lestari, R. S. D. (2015). PENGARUH WAKTU DAN KECEPATAN PENGADUKAN TERHADAP EMULSI MINYAK BIJI MATAHARI (Helianthus annuus L.) DAN AIR, *5*(3), 5.

46. Alwaly, K. U. A. (2017). Protein Pangan Hasil Ternak dan Aplikasinya. In *Protein Pangan Hasil Ternak dan Aplikasinya*. Malang: UB Press.

47. Rakhmi, I. N. (2013). *Optimasi Tingkat Hidrolisis Enzimatik Minyak Ikan Untuk Produksi Omega-3 Dengan Metode Respon Permukaan* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia. Retrieved from http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/63793/f13inr.pdf;jsessionid=15F23A690F1AF6603225CD35E0BD7651?sequence=1