



Optimization of hand sanitizer gel formula from lime leaf essential oil (*Citrus aurantifolia*) with variations of CMC-Na and glycerin using factorial design

Optimasi formula gel *hand sanitizer* minyak atsiri daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan variasi CMC-Na dan gliserin secara desain faktorial

Agatha Budi Susiana Lestari^{1*}, Elisabet Winarti¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: agatharirin@gmail.com

Abstract

Background: Lime leaves (*Citrus aurantifolia*) contain essential oils that are proven to inhibit the growth of bacteria.

Objective: This study aims to formulate the essential oil from lime leaves in an emulgel dosage form that meets the quality requirements, using CMC-Na as a gelling agent and glycerin as a humectant using factorial design.

Methods: Antibacterial activity tests are carried out using the diffusion method. The positive control used is ceftazidime, while the negative control is DMSO. The quality parameters used are physical properties (organoleptic, homogeneity, pH, viscosity, and spreadability), and physical stability of the preparation (pH shift, viscosity shift, and spreadability shift) using the freeze and thaw method.

Results: Antibacterial test results show that lime leaf essential oil at concentrations of 10, 15, 20, 25, and 50% can inhibit the growth of bacteria that show strong antibacterial activity. Overall, the average test of physical properties and physical stability of the essential oil preparation of lime leaves meets the range of reception, pH 4.5-6.5, viscosity 112.77-180.66 dPa.s, and spreading power 5.55-7.97 cm.

Conclusion: The optimum area specified indicates that all four formulas fulfill the criteria of pH, viscosity, spreadability, and pH shift.

Keywords: CMC-Na, emulgel, essential oil of lime leaves, factorial design, glycerin

Intisari

Latar belakang: Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki kandungan minyak atsiri yang terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan minyak atsiri daun jeruk nipis dalam sediaan emulgel yang memenuhi persyaratan kualitas, dengan CMC-Na sebagai *gelling agent* dan gliserin sebagai humektan dengan metode desain faktorial.

Metode: Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumuran, dengan kontrol positif ceftazidime, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan yakni DMSO. Parameter yang digunakan untuk kontrol kualitas sediaan emulgel meliputi uji sifat fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) dan uji stabilitas fisik (pergeseran terhadap respon pH, respon viskositas, respon daya sebar) dengan metode *freeze and thaw*.

Hasil: Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis pada konsentrasi 10, 15, 20, 25 dan 50%, semuanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan termasuk dalam kategori kuat. Sediaan emulgel yang dihasilkan memenuhi syarat secara organoleptis maupun sifat fisik sediaan, dengan hasil pH 5-7, viskositas 112,77-180,66 dPa.s dan daya sebar 5,55- 7,97 cm. Untuk stabilitas fisik, sediaan emulgel memenuhi persyaratan pergeseran pH.

Kesimpulan: Berdasarkan hasil analisis, diperoleh area optimum dari keempat formula memenuhi kriteria pH, viskositas dan daya sebar dan pergeseran pH.

Kata kunci: Minyak atsiri daun jeruk nipis, CMC-Na, gliserin, emulgel, desain faktorial

1. Pendahuluan

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan bakteri yang banyak terdapat di lingkungan terutama air dan tanah. Bakteri ini dapat menyebabkan diare, jika masuk ke dalam sistem pencernaan manusia (Abdel-Monem *et al.*, 2014). Bakteri *E. coli* yang berada pada saluran pencernaan bersifat patogen yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, meningitis dan sepsis (Farthing *et al.*, 2013). Antiseptik dapat menjadi pilihan utama untuk menjaga kesehatan dan kebersihan tangan yang praktis serta dapat dibawa kemana saja. Salah satu bentuk sediaan yang digunakan oleh masyarakat adalah gel *hand sanitizer* (Shu, 2013). Pada umumnya *hand sanitizer* mengandung alkohol sebagai antiseptik. Penggunaan alkohol terus menerus dapat menimbulkan iritasi dan rasa terbakar pada kulit (Asngad *et al.*, 2018). Karena itu dikembangkan gel *hand sanitizer* yang mengandung bahan alam, salah satunya jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Daun jeruk nipis mengandung minyak atsiri, dan salah satu senyawa yang terdapat di dalam minyak atsiri tersebut yaitu *Caryophyllene* (4,5–7,0%). Menurut Al-Aamri *et al.* (2018), minyak atsiri dapat dimanfaatkan sebagai agen antibakteri dan antioksidan.

Minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau pembunuhan bakteri dengan mengganggu proses pembentukan membran atau dinding sel agar tidak terbentuk atau terbentuk secara tidak sempurna (Pohan & Djojoputro, 2021). Dalam penelitian ini, minyak atsiri daun jeruk nipis dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan *E. coli*. Alkohol pada gel *hand sanitizer* ini dapat digantikan dengan antibakteri dari bahan alam dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang memiliki senyawa berupa minyak atsiri sebagai agen antibakteri. Minyak atsiri digunakan sebagai bahan aktif yang memiliki sifat lipofil, maka formula yang digunakan dalam bentuk emulgel. Emulgel merupakan sediaan kombinasi emulsi dan gel, yakni campuran emulsi baik tipe M/A ataupun A/M (Ali Khan *et al.*, 2020). Adanya konsentrasi gel memberi kemudahan sediaan untuk menyerap dan menyebar pada media kulit (Singla *et al.*, 2012).

Sediaan gel yang memiliki keuntungan mudah dicuci dengan air, daya lekat tinggi, memberikan rasa dingin pada kulit, dan pelepasan obatnya baik (Sugihartini & Wiradhika, 2017). Selain itu sediaan gel merupakan sarana terbaik untuk pengolahan obat secara topikal dibanding dengan sediaan krim. Stabilitas sediaan emulgel dipengaruhi oleh emulgator, yang berfungsi untuk mencegah terjadinya koalesensi (Sayuti, 2015). Surfaktan dapat ditentukan karakternya dengan nilai HLB (*Hydrophilic-Lipophilic Balance*), dimana sistem emulsi tipe M/A memiliki HLB pada rentang 8-16 (Sheskey *et al.*, 2017). Dalam pembuatan emulsi tipe minyak dalam air (M/A), emulsi yang stabil dapat dibuat dengan menggunakan kombinasi zat pengemulsi yang bersifat hidrofilik dan lipofilik,

dimana kombinasi ini dapat menghasilkan viskositas yang cukup untuk meningkatkan stabilitas dan mencegah terjadinya *creaming* (Sumardi., 2015). Formulasi gel membutuhkan senyawa *gelling agent* sebagai bahan pembentuk gel serta humektan. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan formula optimum berdasarkan parameter sifat fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) dan uji stabilitas fisik (persen pergeseran terhadap respon pH, respon viskositas, dan respon daya sebar) dengan metode *freeze and thaw*. Optimasi dilakukan menggunakan metode desain faktorial dan dianalisa dengan *Minitab 19*. Metode desain faktorial digunakan untuk melihat pengaruh dan efek dari dua faktor yang dioptimasi dalam formula ini, yaitu antara CMC-Na dan gliserin dalam menghasilkan sediaan gel *hand sanitizer* yang memenuhi persyaratan kualitas, ditinjau dari kriteria sifat fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) dan uji stabilitas fisik (persen pergeseran terhadap respon pH, respon viskositas, dan respon daya sebar). Pemilihan dua faktor dalam penelitian ini berdasarkan pertimbangan bahwa *gelling agent* dan humektan memegang peranan penting dalam menghasilkan sediaan gel yang berkualitas.

2. Metode

2.1 Bahan dan alat penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diperoleh dari PT. Eteris Nusantara, suspensi bakteri *Escherichia coli* (dibeli dari Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi DIY), Media Mueller Hinton Agar (*Oxoid*), DMSO 80%, CMC-Na, gliserin, metilparaben, ceftazidime serbuk injeksi, *Tween 80* dan *Span 80*, akuades steril dan akuades diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi Sanata Dharma. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (*Pyrex®*), mikropipet (*Socorex®*), cawan petri, lampu spiritus, jarum ose, *Biology Safety Cabinet (ESCO® class II tipe A2 seri 95067)*, jangka sorong, autoklaf (*ALP KT- 40*), *hotplate*, *magnetic stirrer*, viscotester rion (*VT-04*), pH meter (*Ohaus®*), oven (*Memmert®*), kaca pengukur daya sebar, *mixer (Hand River)*, lemari pendingin, neraca analitik (*Mettler toledo®*) dan wadah pot emulgel.

2.2 Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis

Pada media MHA yang telah memadat dioles dengan bakteri yang telah disuspensikan dengan standar $\pm 0,5$ *Mc Farland*. Tujuan dilakukan standar *Mc Farland* ini untuk menentukan berapa jumlah bakteri yang akan digunakan dalam uji. Media yang telah berisi bakteri dibuat lubang sumuran 0,6 mm dan ditetesi dengan minyak atsiri dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25 dan 50% yang telah

dilarutkan menggunakan DMSO 80% diambil sebanyak 50 µL. Ceftazidime sebagai kontrol positif dan DMSO 80% kontrol negatif diletakkan juga di media. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk dapat mengukur diameter zona hambat (zona bening) di sekitar disk. Dalam penelitian ini, digunakan satu konsentrasi minyak atsiri daun jeruk nipis untuk keempat formula yang diuji.

Tabel 1. Formula Sediaan emulgel dengan desain faktorial

Bahan (g)	1	a	b	ab
Minyak atsiri daun jeruk nipis	11,78	11,78	11,78	11,78
CMC-Na	3	3,25	3	3,25
Gliserin	15	15	17,5	17,5
Span 80	2	2	2	2
Tween 80	5	5	5	5
Metil Paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Akuades ad	100g	100g	100g	100g

2.3 Pembuatan sediaan emulgel

Karboksimetilselulosa dikembangkan dalam air (sesuai dengan masing-masing formula) selama 24 jam supaya terbentuk matrik gel. Fase minyak dibuat dengan mencampurkan minyak atsiri daun jeruk nipis dan *Span 80* lalu dicampur hingga homogen. Setelah fase minyak terbentuk, *Tween 80* ditambahkan dan dicampur hingga homogen. CMC-Na yang telah mengembang dicampur dengan metilparaben yang telah dilarutkan dalam gliserin, dicampur hingga homogen. Akuades ditambahkan sedikit demi sedikit sambil dicampur hingga homogen. Emulgel yang telah homogen dimasukkan ke dalam pot dan diberi label.

2.4 Uji sifat fisik dan stabilitas fisik sediaan emulgel

2.4.1 Uji organoleptis

Pemeriksaan organoleptik dilihat secara visual dengan melihat secara langsung bentuk, warna, bau (Ratnapuri *et al.*, 2019).

2.4.2 Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan 3 bagian atas, tengah dan bawah dari emulgel pada kaca transparan. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar pada sediaan. Sediaan dinyatakan homogen jika tidak ada partikel padat dan tidak menggumpal (Ratnapuri *et al.*, 2019).

2.4.3 Uji pH

Sediaan emulgel diambil sebanyak 1 gram, masukkan ke dalam gelas beker dan tambahkan dengan 10 mL akuades lalu diaduk homogen. Elektrode dicelupkan ke dalam emulgel tersebut kemudian diamkan sampai layar pH meter menunjuk angka yang stabil. *Range* pH normal kulit yaitu 4,5-6,5 (Ratnapuri *et al.*, 2019).

2.4.4 Uji viskositas

Uji viskositas sediaan dilakukan menggunakan Viskometer Rion (*VT-04*). Sediaan dimasukkan ke dalam wadah viskometer kemudian diukur viskositasnya dengan menggunakan *spindle* (rotor) no 2. Nilai viskositas yang baik untuk sediaan emulgel berkisar antara 100–200 dPa.s (Nakhil *et al.*, 2018).

2.4.5 Uji daya sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan cara emulgel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan di tengah kaca bulat berskala, kemudian letakkan kaca penutup dan tambahkan pemberat 150 gram. Diamkan selama 1 menit, kemudian dicatat diameter penyebarannya. *Range* daya sebar emulgel yang baik antara 5-7 cm (Ratnapuri *et al.*, 2019).

2.4.6 Uji stabilitas fisik sediaan

Uji stabilitas fisik sediaan dilakukan dengan meletakkan sediaan emulgel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) pada suhu dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam dan dilanjutkan dengan meletakkan kembali sampel pada suhu panas ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam (1 siklus). Percobaan diulang sebanyak 3 siklus, amati kondisi fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) setelah itu bandingkan sebelum dan sesudah uji (Slamet *et al.*, 2020).

2.4.7 Analisis hasil

Data yang dihasilkan berupa uji sifat fisik meliputi organoleptis (bentuk, warna, bau), pH, viskositas dan daya sebar serta stabilitas fisik gel. Analisis data menggunakan *software Minitab 19* untuk dapat menentukan faktor yang memiliki efek signifikan dalam mempengaruhi efek atau respon yang diamati. Daerah optimum diperoleh dengan penggabungan *contour plot* dari hasil data yang signifikan pada uji sifat fisik dan stabilitas fisik sehingga diperoleh *overlaid plots* yang merupakan area optimum dalam penelitian ini.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Uji aktivitas aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* diperoleh data bahwa pada semua seri konsentrasi (10, 15, 20, 25 dan 50%) larutan uji memiliki aktivitas antibakteri dan masuk dalam kategori kuat. Kontrol positif ceftazidime menghasilkan aktivitas sebesar 44,99 mm yang masuk ke dalam kategori sangat kuat dan kontrol negatif tidak memberikan hambatan. Penggolongan antibakteri dapat ditentukan berdasarkan diameter zona hambat, yaitu sangat kuat (zona hambat > 20 mm), kuat (zona hambat 10-20 mm, sedang (zona hambat 5-10 mm), dan lemah (zona hambat < 5 mm) (Surjowardojo *et al.*, 2015). Ceftazidime sebagai kontrol positif memberikan zona hambat karena ceftazidime merupakan antibiotik yang lebih efektif dan tidak mengalami resistensi dalam menghambat *E. coli* dibanding dengan antibiotik yang lain (Pohan *et al.*, 2021). Konsentrasi DMSO 60–80% baik digunakan untuk melarutkan minyak dan tidak menghasilkan aktivitas anti bakteri. Konsentrasi 10% minyak atsiri digunakan dalam formulasi, karena konsentrasi 10% merupakan seri konsentrasi terkecil yang menghasilkan aktivitas antibakteri dengan zona hambat kuat (Brito *et al.*, 2017). Dalam penelitian ini uji antibakteri hanya dilakukan terhadap minyak atsiri daun jeruk nipis, dan tidak dilakukan terhadap sediaan gel *hand sanitizer* yang dibuat. Data hasil uji antibakteri ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis

Konsentrasi (v/v)	Daya sebar (mm)			Rata-rata zona hambat (mm)	SD
	R 1	R 2	R 3		
10 %	10,93	10,91	10	10,61	0,531
15 %	11,91	11,68	11,50	11,69	0,206
20 %	12,66	12,26	13,23	12,71	0,488
25 %	14,01	13,76	13,85	13,87	0,127
50 %	14,46	13,96	14,63	14,35	0,349
Kontrol +	45,21	44,86	44,90	44,99	0,191
Kontrol -	-	-	-	-	-

3.2 Pembuatan sediaan emulgel minyak atsiri daun jeruk nipis

Zat aktif yang digunakan dalam pembuatan emulgel *hand sanitizer* berupa minyak atsiri daun jeruk nipis sebanyak 11,78 gram. *Gelling agent* CMC-Na dikembangkan selama 24 jam supaya terbentuk matrik gel. Fase minyak dibuat dengan mencampurkan minyak atsiri daun jeruk nipis dan

Span 80 lalu dicampur hingga homogen. Setelah fase minyak terbentuk, *Tween* 80 ditambahkan dan dicampur hingga homogen. CMC- Na yang telah mengembang dicampur dengan metilparaben yang telah dilarutkan dalam gliserin, dicampur hingga homogen. Metilparaben ditambahkan sebagai pengawet, dapat digunakan dalam sediaan topikal dengan konsentrasi 0,02 – 0,3%. Akuades ditambahkan sedikit demi sedikit sambil dicampur hingga homogen. Emulgel yang telah homogen dimasukkan ke dalam pot dan diberi label. Pada penelitian ini menggunakan *Tween* 80 dan *Span* 80 sebagai surfaktan yang bersifat nonionik dan aman untuk digunakan. Nilai HLB *Tween* 15 dan *Span* 4,3, nilai ini dapat memberikan HLB yang seimbang, dimana salah satu bersifat hidrofilik dan yang lain bersifat lipofilik. Kombinasi antara nilai HLB menentukan tipe emulsi, baik tipe minyak dalam air (M/A) yang memiliki nilai HLB 8-16 atau tipe emulsi air dalam minyak (A/M) dengan nilai HLB 3-6. Penelitian ini menggunakan nilai HLB campuran 12, dimana jumlah gugus hidrofilik dan lipofiliknya dapat membentuk tipe minyak dalam air (M/A) (Wikantyasning & Indianie, 2021). Selama proses pembuatan sediaan harus dipastikan suhu ruang (20-25°C) dikarenakan sifat minyak atsiri yang mudah menguap.

3.3 Uji sifat fisik sediaan gel

3.3.1 Uji organoleptis

Pengamatan uji organoleptis bertujuan untuk melihat penampilan fisik suatu sediaan yang dilakukan secara visual meliputi bentuk, warna dan bau sediaan emulgel. Hasil yang diperoleh bentuk semisolid, bau khas daun jeruk nipis, dan warna putih susu. Setelah dilakukan penyimpanan *freeze and thaw* sediaan cukup stabil karena tidak mengalami perubahan baik bentuk, bau dan warna.

3.3.2 Uji homogenitas

Pengamatan uji homogenitas bertujuan untuk melihat bahwa semua bahan tercampur rata. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya gumpalan atau butiran kasar pada sediaan emulgel (Ratnapuri *et al.*, 2019). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semua sediaan tercampur merata hal ini terlihat bahwa tidak adanya gumpalan kasar pada sediaan.

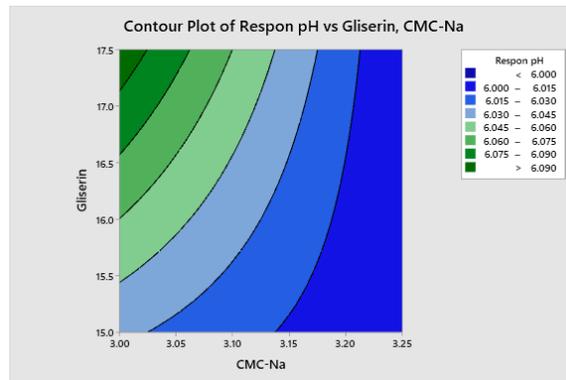
3.2.3 Uji pH dan pergeseran pH

Uji pH dilakukan supaya sediaan emulgel tidak terlalu asam ataupun basa yang dapat mengiritasi kulit. Sediaan emulgel yang baik memiliki range pH normal kulit yaitu 4,5-6,5 (Ratnapuri *et al.*, 2019). Pergeseran pH yang masih dapat diterima sebesar 10% (Rohmani & Kuncoro, 2019). Berdasarkan hasil yang diperoleh, menunjukkan bahwa keempat formula sediaan memiliki pH yang

sesuai pada pH normal kulit sehingga aman digunakan. Persamaan yang diperoleh untuk respon pH adalah :

$$Y = 1,23 + 1,467 (X_1) + 0,347 (X_2) - 0,1067 (X_1X_2) \dots\dots\dots (1)$$

Nilai Y merupakan nilai respon pH, X1 merupakan proporsi CMC- Na, X2 merupakan proporsi gliserin, serta X1X2 merupakan interaksi antara CMC-Na dan gliserin. Berdasarkan perhitungan statistik, diperoleh nilai *p-value* <0,05 dimana nilai *p-value* model sebesar 0,009, dan nilai *p-value* untuk persamaan linear sebesar 0,007 yang berarti nilai model dan persamaan yang dihasilkan bersifat signifikan dan dapat digunakan untuk mencari *overlay plot*. Nilai efek CMC-Na -0,067 yang berarti faktor tersebut memberi efek penurunan terhadap respon pH. Gliserin memiliki nilai efek positif yakni 0,033 yang artinya dapat memberikan efek peningkatan respon pH. Interaksi CMC-Na dan gliserin memiliki nilai negatif -0,033 menunjukkan bahwa interaksi kedua faktor dapat menurunkan respon pH. Persamaan (1) digunakan untuk memprediksi *contour plot* respon pH. Profil respon pH terhadap konsentrasi CMC-Na dan gliserin ditunjukkan pada Gambar 1 berikut.



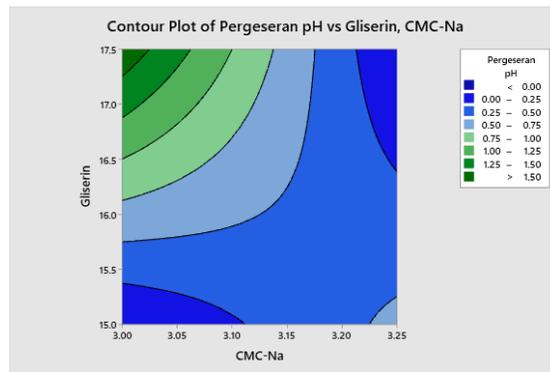
Gambar 1. *Contour plot* respon pH

Gambar 1 menunjukkan area yang dapat menghasilkan pH yang sesuai dengan persyaratan yakni 4,5-6,5. Plot daerah ditunjukkan dengan perbedaan warna. Area akan bergeser ke warna hijau ketika ada peningkatan proporsi gliserin yang menyebabkan peningkatan nilai pH. Sebaliknya warna bergeser ke biru apabila ada peningkatan proporsi CMC-Na yang menyebabkan penurunan nilai pH. Hal ini dapat dikatakan bahwa semakin bertambahnya gliserin respon pH akan semakin meningkat, sebaliknya semakin bertambahnya CMC-Na akan menurunkan respon pH.

Persamaan untuk persen pergeseran pH dan interaksi yang dihasilkan oleh CMC-Na dan gliserin adalah :

$$Y = -177,0 + 55,7 (X_1) + 11,36 (X_2) - 3,563 (X_1X_2) \dots\dots\dots (2)$$

Berdasarkan perhitungan statistik, diperoleh nilai *p-value* <0,05 dimana nilai *p-value* model sebesar 0,009, yang berarti nilai model yang dihasilkan bersifat signifikan dan dapat digunakan untuk mencari *overlay plot*. Nilai efek untuk faktor CMC-Na, gliserin dan interaksi keduanya berturut-turut sebesar -0,557; 0,557 dan -1,113.



Gambar 2. Contour plot respon pergeseran pH

Gambar 2 menunjukkan pengaruh penambahan CMC-Na dan gliserin terhadap respon pergeseran pH. Area akan bergeser ke warna hijau ketika ada peningkatan proporsi gliserin yang menyebabkan peningkatan pergeseran nilai pH. Sebaliknya warna bergeser ke biru ketika pada proporsi tertentu antara CMC-Na dan gliserin yang menyebabkan penurunan nilai pH.

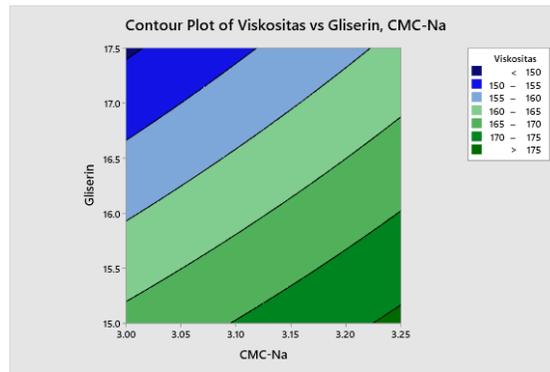
3.3.4 Uji viskositas dan pergeseran viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk melihat kekentalan suatu zat. Semakin tinggi nilai viskositasnya maka semakin tinggi tingkat kekentalan dan hambatan alir zat tersebut (Sayuti, 2015). Uji viskositas sediaan dilakukan menggunakan viskometer rion, dengan spindel no 2, dimana kisaran viskositas emulgel yang baik yakni 100-200 dPa.s (Nakhil *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil uji yang diperoleh, formula I, a, b, dan ab masuk dalam rentang sediaan emulgel *hand sanitizer* yakni 112,77 - 180,66 dPa.s. Persamaan yang diperoleh adalah :

$$Y = 329 - 20,1 (X_1) - 18,59 (X_2) + 3,91 (X_1X_2) \dots\dots\dots (3)$$

Nilai Y merupakan nilai respon viskositas, X_1 notasi untuk CMC- Na, X_2 notasi untuk gliserin, serta X_1X_2 merupakan interaksi antara CMC-Na dan gliserin. Berdasarkan perhitungan statistik, diperoleh nilai *p-value* <0,05 dimana nilai *p-value* model sebesar 0,000, dan nilai *p-value* untuk persamaan linear sebesar 0,000 yang berarti nilai model dan persamaan yang dihasilkan bersifat signifikan dan dapat digunakan untuk mencari *overlay*. Nilai efek CMC-Na, gliserin dan interaksi keduanya berturut-turut adalah 10,890; -15,890; dan 1,223. Gliserin merupakan komponen yang higroskopis oleh karena itu ketika sediaan diberikan perlakuan, gliserin dapat menarik air atau

lembab dari luar yang dapat mengakibatkan konsentrasi gel menjadi lebih encer dan viskositas akan menurun (Sayuti, 2015). Saat viskositas menurun, fase terdispersi menjadi mudah bergerak dalam medium pendispersi sehingga tabrakan antar droplet menjadi tinggi dan cenderung menyatu dan menyebabkan terjadinya peningkatan ukuran partikel (Kailaku *et al.*, 2012). Ukuran partikel yang meningkat mengakibatkan luas kontak antara droplet menjadi lemah dan menurunkan konsentrasi dalam sistem, sehingga viskositas menurun selama penyimpanan (Oktaviasari & Zulkarnain, 2017). Nilai *p-value* CMC-Na dan gliserin memberikan pengaruh terhadap respon viskositas karena memiliki nilai $< 0,05$. Nilai *p-value* interaksi antara CMC-Na dan gliserin tidak memberikan pengaruh yang signifikan karena nilai *p-value* $> 0,05$ yakni 0,132. Persamaan (3) digunakan untuk memprediksi contour plot respon viskositas. Profil respon viskositas terhadap konsentrasi CMC-Na dan gliserin ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Contour plot respon viskositas

Gambar 3 menunjukkan area yang dapat menghasilkan respon viskositas yang sesuai dengan persyaratan yang diinginkan. Plot daerah ditunjukkan dengan perbedaan warna. Area akan bergeser ke warna hijau ketika ada peningkatan proporsi CMC-Na yang menyebabkan peningkatan nilai viskositas. Sebaliknya warna bergeser ke biru apabila ada peningkatan proporsi gliserin yang menyebabkan penurunan nilai viskositas.

Untuk respon pergeseran viskositas, semua formula mempunyai nilai pergeseran viskositas kurang dari 10%. Suatu sediaan dinyatakan memiliki stabilitas yang baik jika tidak terjadi perubahan yang signifikan selama penyimpanan atau nilai pergeseran viskositas kurang dari 10% (Rohmani & Kuncoro, 2019). Persamaan untuk respon pergeseran viskositas adalah :

$$Y = - 57,0 + 18,7 (X_1) + 3,65 (X_2) - 1,141 (X_1X_2) \dots\dots\dots (4)$$

Nilai *p-value* model yang diperoleh $> 0,05$ yaitu 0,393 untuk model dan 0,641 untuk persamaan linear. Hal ini menunjukkan model dan persamaan yang diperoleh tidak dapat

digunakan memprediksi respon pergeseran viskositas pada level faktor yang digunakan. Pergeseran viskositas dapat dipengaruhi oleh jumlah *Tween* 80 dan *Span* 80 yang tidak sesuai yang mengakibatkan fase terdispersi dapat dengan mudah bergerak dalam fase pendispersi sehingga menyebabkan droplet bergabung menjadi partikel yang lebih besar, dan sediaan akan mengalami creaming (Kailaku *et al.*, 2012). Nilai *p-value* CMC- Na, gliserin dan interaksi kedua faktor masing-masing > 0,05 yaitu 0,854, 0,369 dan 0,156 yang berarti tidak signifikan dan tidak mempengaruhi pergeseran respon viskositas.

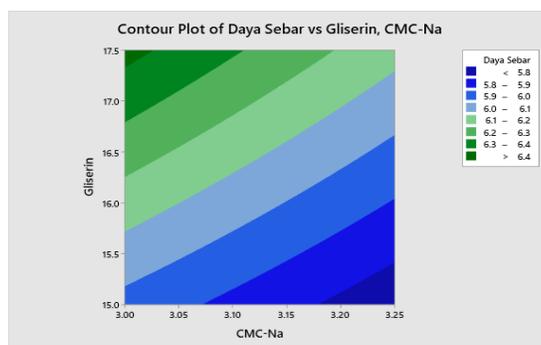
3.3.5 Uji daya sebar dan pergeseran daya sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk melihat kemampuan sediaan emulgel melekat pada kulit saat digunakan. Luas penyebaran sediaan akan mempermudah penggunaan emulgel di kulit, diharapkan absorpsi pada kulit semakin maksimal. Daya sebar sediaan emulgel yang baik memiliki diameter 5-7 cm (Ratnapuri *et al.*, 2019). Berdasarkan pengujian daya sebar yang dilakukan pada emulgel *hand sanitizer* menunjukkan bahwa formula I, a, b dan ab masuk pada rentang 5,96 – 6,43 cm. Persamaan yang diperoleh adalah :

$$Y = 1,17 + 0,67(X_1) + 0,507(X_2) - 0,107(X_1X_2) \dots\dots\dots (5)$$

Nilai Y merupakan nilai respon daya sebar, X₁ merupakan proporsi CMC- Na, X₂ merupakan proporsi gliserin, serta X₁X₂ merupakan interaksi antara CMC-Na dan gliserin. Model dari persamaan diatas memiliki signifikansi *p-value* < 0,05 yakni 0,000 dan *p-value* untuk persamaan linear sebesar 0,000, sehingga model dan persamaan diatas dapat digunakan untuk memprediksi respon daya sebar terbatas pada level faktor yang digunakan. Nilai efek CMC-Na, gliserin, dan interaksi antara CMC-Na dan gliserin berturut-turut adalah -0, 2667; 0,4333 dan -0,033.

Gliserin memiliki nilai efek positif yang artinya dapat memberikan efek peningkatan respon daya sebar. Interaksi antara CMC-Na dan gliserin memiliki nilai negatif yang menunjukkan bahwa interaksi kedua faktor dapat menurunkan respon daya sebar. Berdasarkan perhitungan ANOVA, nilai *p-value* CMC-Na dan gliserin memberikan pengaruh respon daya sebar karena memiliki nilai < 0,05. Nilai *p-value* interaksi antara CMC-Na dan gliserin tidak memberikan pengaruh yang signifikan karena nilai *p-value* > 0,05 yakni 0,347. Profil respon daya sebar terhadap konsentrasi CMC-Na dan gliserin ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Contour plot respon daya sebar

Gambar 4 menunjukkan area yang dapat menghasilkan daya sebar yang sesuai dengan persyaratan. Plot daerah ditunjukkan dengan perbedaan warna. Area akan bergeser ke warna hijau ketika ada peningkatan proporsi gliserin yang menyebabkan peningkatan nilai daya sebar. Sebaliknya warna bergeser ke biru apabila ada peningkatan proporsi CMC-Na yang menyebabkan penurunan nilai daya sebar.

Untuk respon pergeseran daya sebar, semua formula mempunyai nilai pergeseran daya sebar kurang dari 10% (berkisar antara 2,17-3,10%). Pergeseran daya sebar dipengaruhi oleh menurunnya viskositas dimana jika viskositas menurun maka daya sebar akan semakin luas. Suatu sediaan dinyatakan memiliki stabilitas yang baik jika tidak terjadi perubahan yang signifikan selama penyimpanan atau nilai pergeseran viskositas kurang dari 10%. Persamaan untuk respon pergeseran daya sebar adalah :

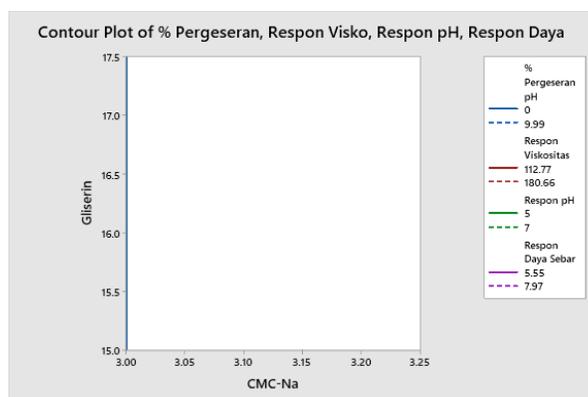
$$Y = -75,5 + 25,5 (X_1) + 5,13 (X_2) - 1,67 (X_1X_2) \dots\dots\dots (6)$$

Nilai model yang dihasilkan tidak signifikan karena nilai *p-value* >0,05 yakni sebesar 0,598. Demikian juga dengan nilai *p-value* persamaan linear juga >0,05 yakni sebesar 0,662 yang artinya model dan persamaan yang dihasilkan tidak dapat digunakan untuk memprediksi respon pergeseran daya sebar terbatas pada level faktor yang diteliti.

Berdasarkan data, nilai efek respon pergeseran CMC-Na sebesar -0,408 yang berarti dapat memberikan efek penurunan terhadap respon pergeseran daya sebar. Gliserin memiliki nilai efek positif (0,212) yang artinya dapat memberikan efek peningkatan respon pergeseran daya sebar. Interaksi antara CMC-Na dan gliserin memiliki nilai negatif (-0,522) yang menunjukkan bahwa interaksi kedua faktor dapat menurunkan respon pergeseran daya sebar. Nilai *p-value* CMC-Na, gliserin dan interaksi > 0,05 yaitu 0,432; 0,679 dan 0,321 yang berarti tidak signifikan dan tidak mempengaruhi pergeseran respon daya sebar.

3.3 Penentuan area optimum

Penentuan daerah optimum diperoleh dengan penggabungan persamaan model yang signifikan dari respon pH, persen (%) pergeseran pH, respon viskositas dan respon daya sebar. Kriteria yang digunakan dengan pH 4,5-6,5, viskositas 112,77-180,66 dPa.s, daya sebar 5,55-7,97 cm dan persen (%) pergeseran pH <10%. Batasan ini diambil berdasarkan referensi dan juga hasil pengujian terhadap sediaan gel *hand sanitizer* yang beredar di masyarakat. *Contour plot* didapat dari penggabungan respon pH, respon viskositas, respon viskositas dan persen (%) pergeseran pH yang digabungkan untuk melihat *overlay plot* seperti pada Gambar 5. Seluruh area berwarna putih, yang menunjukkan bahwa semua area menghasilkan respon yang optimum.



Gambar 5. *Overlay plot* respon pH, viskositas, daya sebar dan persen (%) pergeseran pH

Gambar 5 merupakan *overlay plot* dari CMC-Na dan gliserin. Seluruh area berwarna putih, hal ini menunjukkan bahwa semua area optimum. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa formula 1, formula a, formula b, dan formula ab merupakan formula yang optimum. Hasil pengujian formula 1, a, b dan ab memenuhi parameter sifat fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) dan stabilitas fisik (respon pH, respon viskositas, respon daya sebar dan persen (%) pergeseran pH) yang diinginkan. Meskipun demikian, formula 1 memiliki sifat kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan ketiga formula lainnya terutama pada % pergeseran pH, viskositas dan daya sebar yang lebih stabil dibandingkan formula yang lainnya. Salah satu hal yang mendukung diperolehnya respon yang optimum ini karena rentang atau batas variasi faktor masih berada dalam rentang yang sesuai dengan fungsi dari faktor tersebut, dalam hal ini CMC-Na sebagai *gelling agent* dan gliserol sebagai humektan.

4. Kesimpulan

Pada penelitian ini didapat uji antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis yang memberikan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25 dan 50 %, menunjukkan aktivitas yang kuat. Ditemukan komposisi optimum dari CMC-Na dan gliserin pada sediaan emulgel *hand sanitizer* ditandai dengan area putih pada *overlay plot*. Hasil pengujian formula 1, a, b dan ab memenuhi parameter sifat fisik dan stabilitas fisik yang baik dengan konsentrasi CMC-Na 3 - 3,25 g dan gliserin 15 - 17,5 mL. Seluruh formula yang diuji memberikan respon sifat fisik dan stabilitas fisik yang baik dan memenuhi syarat.

Daftar pustaka

- Abdel-Monem, M.O., Mohamed, E.A., Awad, E.T., Ramadan, A.-H.M., & Mahmoud, H.A. (2014). Multiplex PCR As Emerging Technique For Diagnosis of Enterotoxigenic *E. coli* Isolates From Pediatric Watery Diarrhea. *Journal of American Science*, 10(10), 157–164.
- Al-Aamri, M.S., Al-Abousi, N.M., Al-Jabri, S.S., Alam, T., & Khan, S.A. (2018). Chemical Composition and In-Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activity of The Essential Oil of *Citrus aurantifolia* L. Leaves Grown In Eastern Oman. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 13(2), 108–112. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2017.12.002>
- Ali Khan, B., Ullah, S., Khan, M.K., Alshahrani, S.M., & Braga, V.A. (2020). Formulation and Evaluation of *Ocimum basilicum*-Based Emulgel For Wound Healing Using Animal Model. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(2020), 1842–1850. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.11.011>
- Asngad, A., R, Bagas, R. A. & Nopitasari, N. (2018). Kualitas Gel Pembersih Tangan (Handsanitizer) dari Ekstrak Batang Pisang dengan Penambahan Alkohol, Triklosan dan Gliserin yang Berbeda Dosisnya. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 4(2), 61–70. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v4i2.6888>
- Brito, R.C. de, Silva, G.N. da, Farias, T.C., Ferreira, P.B., & Ferreira, S.B. (2017). Standardization of the Safety Level of the Use of DMSO in Viability Assays in Bacterial Cells. *MOL2NET*, 3, 1–6. <https://doi.org/10.3390/mol2net-03-xxxx>
- Farthing, M., Salam, M.A., Lindberg, G., Dite, P., Khalif, I., Salazar-Lindo, E., Ramakrishna, B.S., Goh, K.L., Thomson, A., Khan, A.G., Krabshuis, J., & Lemair, A. (2013). Acute Diarrhea in Adults and Children: A Global Perspective. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 47(1), 12–20. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31826df662>
- Kailaku, S.I., Hidayat, T., & Setiabudy, D.A. (2012). Pengaruh Kondisi Homogenisasi Terhadap Karakteristik Fisik dan Mutu Santan Selama Penyimpanan. *Jurnal Littri*, 18(1), 31–39.
- Nakhil, U., Kaltsum, U., Purwojati, N., & Latifah, E. (2018). Uji Stabilitas dan Penentuan Formula Optimum pada Gel Madam "Gel Ekstrak Daun Adam Hawa (*Rheo Discolor*) sebagai Gel Antiinflamasi" untuk Penelitian Lanjutan, dalam: *Prosiding APC (Annual Pharmacy Conference)*. hal. 14–24.
- Oktaviasari, L. & Zulkarnain, A.K. (2017). Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Lotion O/W Pati Kentang (*Solanum Tuberosum* L.) Serta Aktivitasnya Sebagai Tabir Surya. *Majalah Farmaseutik*, 13(1), 9–27.
- Pohan, D.J. & Djojoputro, M. (2021). Antibacterial Effectiveness of Extracts of Lime (*Citrus Aurantifolia Swingle*) and Kaffir Lime (*Citrus Hystrix Dc*) Leaves Against *Escherichia coli*.

- International Journal of Modern Pharmaceutical Research*, 5(6), 29–36.
- Ratnapuri, P.H., Haitami, F., & Fitriana, M. (2019). Stabilitas Fisik Sediaan Emulgel Ekstrak Etanol Daging Buah Limpasu (*Baccaurea lanceolata* (Miq.) Müll. Arg.). *Jurnal Pharmascience*, 6(2), 8–18. <https://doi.org/10.20527/jps.v6i2.7345>
- Rohmani, S. & Kuncoro, M.A.A. (2019). Uji Stabilitas dan Aktivitas Gel Handsanitizer Ekstrak Daun Kemangi. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(1), 16–28. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i1.27212>
- Sayuti, N.A. (2015). Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 74–82. <https://doi.org/10.22435/jki.v5i2.4401.74-82>
- Sheskey, P.J., Cook, W.G., & Cable, C.G. (2017). *Handbook of Pharmaceutical Excipients, 8th ed.* London: The Pharmaceutical Press.
- Shu, M. (2013). Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer Dengan Bahan Aktif Triklosan 0,5% dan 1%. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1), 1–14.
- Singla, V., Saini, S., Joshi, B., & Rana, A.C. (2012). Emulgel: A New Platform For Topical Drug Delivery. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(1), 485–498.
- Slamet, S., Anggun, B.D., & Pambudi, D.B. (2020). Uji Stabilitas Fisik Formula Sediaan Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 13(2), 115–122. <https://doi.org/10.48144/jiks.v13i2.260>
- Sugihartini, N. & Wiradhika, R.Y. (2017). Gel Formulation of Ethanol Extract of Mangosteen Peel (*Garcinia mangostana* L.) as A Medication for Burns in Wistar Rats. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 8(2), 110–117. <https://doi.org/10.20885/jkki.vol8.iss2.art6>
- Sumardi, D. P., 2015. Pengaruh Span 80 dan Tween 80 sebagai surfaktan terhadap Sifat Fisik dan Stabilitas Fisik Emulsi Ekstrak Etanol Biji Kluwak dengan Aplikasi Desain Faktorial. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta
- Wikantyasning, E.R. & Indianie, N. (2021). Optimisasi Tween 80 dan Span 80 Sebagai Emulgator dalam Formula Krim Tabir Surya Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* M.) dan Nanopartikel Seng Oksida Dengan Metode Simplex Lattice Design. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.61902/cerata.v12i1.198>