

## PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID DAN EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI *HAND SANITIZER* DARI KULIT JERUK (*CITRUS SINENSIS L.*)

Widya Nurul Aisyah<sup>1</sup>, Sinardi<sup>2</sup>

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Fajar, Makassar, Indonesia

\*Corresponding author : Widya Nurul Aisyah

\*Email: [widenaisyah@gmail.com](mailto:widenaisyah@gmail.com)

---

### Abstrak

Kulit jeruk manis (*Citrus Sinensis L.*) merupakan limbah pertanian yang memiliki potensi besar sebagai bahan baku hand sanitizer alami yang mengandung berbagai senyawa bioaktif, terutama flavonoid, yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi kulit jeruk manis (*Citrus Sinensis L.*) terhadap karakteristik *hand sanitizer* yang dihasilkan, serta mengevaluasi kualitas produk berdasarkan parameter uji tertentu. Dua metode ekstraksi yang digunakan adalah infus dan maserasi, masing-masing dengan variasi berat kulit jeruk 10 – 50 gram. *Hand sanitizer* diformulasikan dari ekstrak yang dihasilkan, kemudian diuji melalui uji pH, densitas, kecepatan mengering, organoleptik (warna, bau dan sensasi kulit), uji iritasi kulit, uji positif flavonoid dan uji antibakteri (metode difusi cakram). Hasil uji flavonoid menunjukkan metode maserasi menghasilkan perubahan warna lebih intens menjadi merah bata pada variasi berat 40 gram dan 50 gram, sedangkan infus hanya menghasilkan warna kuning pekat. Nilai pH seluruh formulasi berada pada kisaran aman untuk kulit (4,5–6,5), densitas 0,86–0,90 g/mL, dan waktu mengering 14–22 detik. Uji iritasi menunjukkan seluruh sampel aman digunakan. Uji organoleptik memperlihatkan penerimaan panelis yang baik, terutama pada variasi berat 30–50 gram. Uji antibakteri menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi *hand sanitizer* dari kedua metode tidak membentuk zona hambat terhadap *Escherichia coli* (0 mm), sedangkan kontrol positif Ciprofloxacin 100 ppm menghasilkan zona hambat 31,55 mm. Hal ini diduga akibat karakteristik Gram negatif *E. coli*, rendahnya konsentrasi flavonoid dalam formulasi, keterbatasan difusi dalam matriks gel, serta degradasi senyawa aktif.

**Kata kunci:** *hand sanitizer*, kulit jeruk, flavonoid, ekstraksi maserasi, ekstraksi infus, *Escherichia coli*

### Abstract

Sweet orange peel (*Citrus sinensis L.*) is an agricultural by-product with promising potential as a natural raw material for hand sanitizer due to its bioactive compounds, particularly flavonoids, known for their antibacterial properties. This study investigates the influence of two extraction methods—infusion and maceration—using peel weights ranging from 10–50 g, on the characteristics and quality of hand sanitizer formulations. The products were evaluated through pH, density, drying time, organoleptic properties, skin irritation, flavonoid identification, and antibacterial activity against *Escherichia coli* using the disc diffusion method. Results showed that maceration yielded a more intense brick-red color at 40 g and 50 g, while infusion produced only a concentrated yellow extract. All formulations exhibited pH values within the safe skin range (4.5–6.5), density of 0.86–0.90 g/mL, and drying times of 14–22 seconds. No irritation was observed in skin tests, and panelist acceptance was higher in formulations containing 30–50 g peel. However, none of the hand sanitizer formulations inhibited *E. coli* growth (0 mm), in contrast to the positive control (Ciprofloxacin 100 ppm), which produced a 31.55 mm inhibition zone. The lack of activity is likely due to the Gram-negative nature of *E. coli*, low flavonoid concentrations, limited gel diffusion, and compound degradation.

**Keywords:** *hand sanitizer*, orange peel, flavonoids, maceration extraction, infusion extraction, *Escherichia coli*

## Pendahuluan

Peningkatan kesadaran masyarakat akan pentingnya kebersihan tangan telah mendorong pengembangan berbagai produk *hand sanitizer*. Larutan Antiseptik (*Hand Sanitizer*) atau disebut juga antimikroba topikal, dipakai pada kulit atau jaringan hidup lainnya untuk menghambat aktivitas atau membunuh mikroorganisme pada kulit. Antiseptik memiliki bahan kimia yang memungkinkan untuk digunakan pada kulit dan selaput mukosa. Kulit jeruk manis (*Citrus Sinensis L.*) merupakan limbah pertanian yang memiliki potensi besar sebagai bahan baku *hand sanitizer* alami. Kulit jeruk manis mengandung berbagai senyawa bioaktif, terutama flavonoid, yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan. Flavonoid seperti hesperidin, naringin, dan tangeretin yang terdapat dalam kulit jeruk memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen. Formulasi *hand sanitizer* dengan ekstrak kulit jeruk kaya flavonoid telah menunjukkan efikasi yang menjanjikan. Mahato (2020) melaporkan bahwa *hand sanitizer* yang mengandung ekstrak kulit jeruk (15% b/v) mampu menurunkan populasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* hingga 99,9% dalam waktu 15 detik. *Hand sanitizer* tersebut tetap stabil selama penyimpanan 6 bulan pada suhu ruang. Studi mendalam mengenai pengaruh metode ekstraksi terhadap kandungan flavonoid dan efektivitas antibakteri *hand sanitizer* dari kulit jeruk diperlukan untuk mengoptimalkan proses pengembangan produk *hand sanitizer* berbasis bahan alami yang efektif, aman, dan dapat diterima oleh konsumen. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam upaya pemanfaatan limbah kulit jeruk menjadi produk bernilai tambah sekaligus mendukung program kesehatan masyarakat melalui pengembangan *hand sanitizer* alami yang efektif.

## Metode

### **Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan selama 1 bulan di PT. Inti Cellulose Utama Indonesia yang berlokasi di Cikande, Kabupaten Serang, Provinsi Banten.

### **Alat dan Bahan**

Pada penelitian ini, diperlukan alat dan bahan yang akan digunakan dalam proses penelitian. Alat yang digunakan terdiri dari serangkaian alat untuk preparasi sampel, ekstraksi maserasi dan infus, pembuatan *hand sanitizer*, uji pH, uji densitas, uji kecepatan mengering, uji positif flavonoid dan uji antibakteri (metode difusi cakram). Untuk preparasi sampel, alat yang digunakan yaitu blender, saringan, sendok atau spatula dan kipas angin. Untuk ekstraksi maserasi, ekstraksi infus serta pembuatan *hand sanitizer*, alat yang digunakan yaitu wadah, gelas ukur, beaker glass, timbangan analitik, pengaduk dan botol *spray*. Untuk uji pH, alat yang digunakan yaitu pH meter. Untuk uji densitas, alat yang digunakan yaitu piknometer. Untuk uji kecepatan mengering, alat yang digunakan yaitu *stopwatch*. Untuk uji positif flavonoid, alat yang digunakan adalah labu ukur, pipet tetes dan tabung reaksi. Dan untuk uji antibakteri (metode difusi cakram), alat yang digunakan yaitu cawan petri steril, jangka sorong, inkubator, swab steril, mikropipet dan tip steril, autoklaf, burner dan erlenmeyer.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit jeruk manis yang merupakan hasil dari ekstraksi maserasi dan ekstraksi infus. Dan bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan *hand sanitizer* dan parameter uji adalah etanol 70%, gliserin, aquadest, NaOH 10%, bakteri *Escherichia Coli* ATCC 25922, media NB, media MHA, NaCl fisiologis 0,85%, ciprofloxacin 100 ppm, *blank disc* steril (5 mm), dan DMSO.

### **Prosedur Kerja**

#### 1. Preparasi Kulit Jeruk

Dipilih kulit jeruk yang segar kemudian dicuci kulit jeruk dengan bersih untuk menghilangkan kotoran dan pestisida yang mungkin menempel, Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan menggunakan kipas angin lalu dipotong kulit jeruk menjadi potongan kecil atau diblender agar lebih hancur, hal ini akan memudahkan senyawa aktif untuk keluar selama proses ekstraksi.

#### 2. Metode Ekstraksi Maserasi

Ditimbang kulit jeruk sebanyak 10 g, 20 g, 30 g, 40 g dan 50 g masing-masing ke dalam wadah plastik. Ditambahkan 100 mL etanol 70% (alkohol) ke dalam wadah yang berisi kulit jeruk dengan penimbangan yang berbeda-beda. Diaduk rata campuran ini menggunakan sendok atau spatula agar kulit jeruk tercampur dengan alkohol. Ditungkup wadah plastik dengan rapat dan didiamkan selama 1-2 hari di tempat yang sejuk dan gelap. Setelah 1-2 hari, campuran disaring menggunakan saringan untuk memisahkan ampas kulit jeruk dengan cairan ekstraknya.

### 3. Metode Ekstraksi Infus

Direbus 100 mL air matang dalam panci hingga mendidih. Ditimbang kulit jeruk sebanyak 10 g, 20 g, 30 g, 40 g dan 50 g masing-masing ke dalam wadah plastik. Dituang air panas ke atas kulit jeruk dengan penimbangan yang berbeda-beda hingga kulit jeruk terendam sepenuhnya. Didiamkan campuran ini selama 60 menit. Setelah proses infus selesai, campuran disaring menggunakan saringan halus untuk memisahkan kulit jeruk yang sudah terinfus dengan cairan ekstrak kulit jeruk. Ditambahkan 100 mL alkohol 70% ke dalam masing-masing cairan ekstrak kulit jeruk.

### 4. Penambahan Bahan Lain

Ditambahkan 10 mL gliserin. Ditambahkan aquadest 50 mL, lalu diaduk. Dimasukkan kedalam botol semprot yang sudah bersih dan kering.

### 5. Pengujian

#### a. Uji Iritasi

Sebelum digunakan secara rutin, dilakukan pengujian kecil pada kulit untuk memastikan tidak ada reaksi alergi atau iritasi. Dilakukan dengan menyemprotkan hand sanitizer ke kulit diamati reaksi kulit untuk mengetahui apakah ada efek samping dalam penggunaan jangka panjang atau tidak.

#### b. Uji Organoleptik meliputi uji organoleptik warna, bau dan sensasi kulit.

Uji organoleptik warna melibatkan pemeriksaan *hand sanitizer* secara visual dan memberikan penilaian. Penilaian menggunakan skala numerik 1-5 yang dilakukan oleh beberapa panelis. Panelis diminta memberikan

penilaian sesuai 18 dengan tingkat kesukaan masing-masing panelis terhadap warna dari *hand sanitizer* tersebut. Uji organoleptik bau melibatkan mencium langsung aroma *hand sanitizer* dan memberikan penilaian. Penilaian menggunakan skala numerik 1-5 yang dilakukan oleh beberapa panelis. Panelis diminta memberikan penilaian sesuai dengan tingkat kesukaan masing-masing panelis terhadap bau dari *hand sanitizer* tersebut. Uji organoleptik rasa (sensasi pada kulit) dilakukan dengan menyemprotkan *hand sanitizer* ke kulit dan memberikan penilaian. Penilaian menggunakan skala numerik 1-5 yang dilakukan oleh beberapa panelis. Panelis diminta memberikan penilaian sesuai dengan tingkat kesukaan masing-masing panelis terhadap sensasi dari *hand sanitizer* tersebut pada kulit. Pengujian visual dilakukan pada formulasi semprot yang tidak lengket dan mudah menyerap.

Tabel III.1 Skala Penilaian Uji Organoleptik

Skala Numerik	Keterangan
1	Sangat Tidak Suka
2	Tidak Suka
3	Netral
4	Suka
5	Sangat Suka

c. Uji Derajat Keasaman atau pH.

Uji pH dilakukan dengan pH meter. pH meter dikalibrasi dengan larutan pH khas dapur 4 dan 7 terlebih dahulu sebelum pengujian. Pengujian dilakukan pada suhu ruang. Syarat mutu standar pH pada *hand sanitizer* berdasarkan SNI 06-25881992 yaitu 4,5-8.

d. Uji Densitas.

Uji densitas dilakukan dengan metode penimbangan menggunakan alat piknometer. Ditimbang terlebih dahulu piknometer kosong yang bersih dan kering. Selanjutnya, ditimbang piknometer yang telah diisi air hingga penuh kemudian dicatat beratnya sebagai berat piknometer dan air. Lalu,

piknometer diisi *hand sanitizer* dan dicatat beratnya sebagai berat piknometer dan sampel. Satuan yang biasa digunakan untuk mengukur densitas adalah g/mL. Densitas *hand sanitizer* yang baik memiliki nilai > 0,80.

Berikut perhitungan volume piknometer dengan rumus :

$$\text{Vol. piknometer} = \frac{\text{berat piknometer dan air} - \text{berat piknometer kosong}}{\text{densitas air}}$$

Adapun perhitungan densitas menggunakan piknometer dengan rumus :

$$\text{Densitas} = \frac{\text{Berat piknometer dan sampel} - \text{berat piknometer kosong}}{\text{Vol. piknometer}}$$

e. Uji Kecepatan Mengering.

Uji kecepatan mengering ini bertujuan untuk mengetahui seberapa cepat *hand sanitizer* menguap setelah diaplikasikan pada kulit. Dilakukan dengan cara menggunakan *stopwatch* untuk mengukur waktu dari pengaplikasian ke kulit hingga tangan terasa kering.

f. Uji Positif Flavonoid

Uji positif flavonoid ini bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan flavonoid pada *hand sanitizer*, dilakukan dengan memasukkan 1 mL sampel ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL larutan NaOH 10%, dikocok kuat kemudian diamati perubahan warna yang terjadi, jika positif flavonoid maka akan terjadi perubahan warna menjadi merah bata.

g. Uji Antibakteri (Metode Difusi Cakram)

Uji antibakteri dilakukan dengan metode *Kirby – Bauer disc diffusion* mengacu pada standar *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Bakteri uji yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922 diremajakan pada media *Nutrient Broth (NB)* pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi biakan bakteri umur 24 jam disesuaikan kekeruhannya hingga setara dengan  $OD_{600} = 0,1$  menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,85%. Sebanyak 100 µl suspensi diusapkan secara merata ke seluruh permukaan *Mueller Hinton Agar (MHA)* dengan metode swab. Media MHA digunakan untuk menguji sampel antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri uji. Sampel antimikroba yang

digunakan pada pengujian ini adalah sampel *Hand Sanitizer*. Jumlah sampel yang diambil adalah sebesar 20 µl lalu diteteskan pada *blank disc* steril. Kontrol positif menggunakan Ciprofloxacin 100 ppm dan kontrol negatif menggunakan aquadest. Setelah itu, Cawan Petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang dihasilkan di sekeliling *disc* yang telah berisi sampel diukur menggunakan jangka sorong. *Blank disc* yang digunakan memiliki ukuran 5 mm.

## Hasil dan Pembahasan

### Hasil Uji Iritasi

Uji iritasi kulit dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan formulasi *hand sanitizer*. Pengujian dilakukan dengan cara menyemprotkan *hand sanitizer* pada kulit lengan bawah, kemudian diamati selama beberapa saat untuk melihat kemungkinan adanya reaksi seperti kemerahan, gatal, atau iritasi lainnya.

Tabel IV.1 Hasil Uji Iritasi

Berat Gram	Hasil	
	Maserasi	Infus
10g	-	-
20g	-	-
30g	-	-
40g	-	-
50g	-	-

Ket :

( + ) = Menimbulkan gejala iritasi

( - ) = Tidak menimbulkan gejala iritasi

Berdasarkan hasil pengamatan, setelah beberapa saat dan dipastikan ketika sudah disemprotkan selama 24 jam, kelima variasi berat tidak menunjukkan adanya gejala iritasi pada kulit responden uji. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan berat ekstrak kulit jeruk dari 10 gram hingga 50 gram dengan dua teknik ekstraksi yang berbeda dalam formulasi tetap berada dalam batas aman untuk penggunaan langsung ke kulit. Formulasi *hand sanitizer* dengan penambahan ekstrak kulit jeruk, dalam variasi berat yang digunakan, tidak hanya aman untuk kulit tetapi juga berpotensi memberikan

manfaat tambahan dari segi aktivitas antibakteri dan antioksidan. Hasil ini menjadi dasar bahwa bahan alami seperti ekstrak kulit jeruk dapat dikombinasikan dengan bahan kimia sintetis untuk menciptakan produk antiseptik yang aman, efektif, dan lebih ramah untuk kulit.

### Hasil Uji Organoleptik

#### 1. Uji Organoleptik Warna

Pengamatan visual terhadap warna menunjukkan bahwa metode maserasi menghasilkan warna yang lebih gelap seiring meningkatnya konsentrasi, dibandingkan dengan metode infus.

- a. Infus : Warna larutan cenderung kekuningan terang, bahkan hingga variasi berat 50 g, warna tidak terlalu pekat. Ini menunjukkan bahwa metode infus mengekstraksi zat warna secara ringan dan merata.
- b. Maserasi : Warna larutan tampak lebih pekat dan cenderung kecoklatan, terutama pada variasi berat 30 g, 40 g, dan 50 g. Hal ini menunjukkan bahwa metode maserasi mengekstrak lebih banyak komponen aktif dan zat warna dari bahan alam yang digunakan.

#### 2. Uji Organoleptik Bau

Uji organoleptik bau dilakukan dengan cara mencium langsung aroma *hand sanitizer*. Berdasarkan pengamatan subjektif (yang didukung oleh panelis), bau dari formulasi metode maserasi cenderung lebih kuat dan tajam dibandingkan metode infus, terutama pada konsentrasi tinggi. Pada metode infus, aroma yang dihasilkan cenderung lebih lembut dan tidak menyengat.

#### 3. Uji Organoleptik Sensasi Kulit

Pengujian sensasi kulit dilakukan dengan menyemprotkan *hand sanitizer* ke kulit dan mengamati sensasi yang ditimbulkan. Hasil menunjukkan:

- a. Semua formulasi ekstraksi (baik maserasi maupun infus) memiliki sifat tidak lengket dan mudah menyerap, sesuai dengan kriteria evaluasi.
- b. Tidak ditemukan residu berminyak setelah penggunaan.

- c. Formulasi dengan variasi berat yang tinggi pada metode maserasi menunjukkan sensasi sedikit hangat saat diaplikasikan, kemungkinan akibat kandungan senyawa aktif yang lebih tinggi.

Tabel IV.2 Hasil Uji Organoleptik Maserasi

Variasi Berat (Gram)	Warna	Bau	Sensasi Kulit
10	4.1	4.0	4.4
20	3.9	4.2	4.5
30	3.6	4.3	4.3
40	3.3	4.4	4.2
50	3.0	4.5	4.0

Tabel IV.3 Hasil Uji Organoleptik Infus

Variasi Berat (Gram)	Warna	Bau	Sensasi Kulit
10	4.2	3.8	4.5
20	4.0	3.9	4.6
30	3.9	3.7	4.4
40	3.7	3.5	4.3
50	3.5	3.2	4.2

Uji organoleptik dengan 10 panelis menunjukkan warna formulasi infus lebih disukai dibanding maserasi, terutama pada konsentrasi tinggi. Warna maserasi dinilai terlalu pekat, dengan nilai tertinggi warna pada infus 10 g (4.2) dan terendah pada maserasi 50 g (3.0). Bau formulasi maserasi mendapat nilai lebih tinggi, terutama pada variasi 30–50 g, karena aroma lebih kuat dan khas. Namun, pada 50 g, sebagian panelis merasa bau terlalu menyengat, meskipun skor tetap tinggi (4.5). Semua formulasi mendapat skor baik untuk sensasi kulit, tidak lengket dan mudah menyerap, tetapi sedikit menurun pada maserasi 50 g (4.0) karena sensasi hangat atau menyengat. Maserasi menghasilkan warna dan bau lebih pekat karena ekstraksi lebih optimal, namun bisa mengurangi kenyamanan pengguna. Infus menghasilkan warna dan bau lebih ringan, lebih diterima secara estetika, meski kandungan senyawa aktif mungkin lebih rendah. Semua formulasi memenuhi kriteria tekstur pembersih tangan yang baik. Formulasi

terbaik secara umum adalah infus 20 g, dengan kombinasi warna, bau, dan sensasi di kulit paling disukai.

### Hasil Uji pH

Menurut standar mutu SNI 06-2588-1992, nilai pH yang diperbolehkan untuk produk *hand sanitizer* adalah dalam kisaran 4,5 hingga 8,0. Nilai pH ini penting karena mempengaruhi kenyamanan saat penggunaan, efektivitas bahan aktif, serta stabilitas dari produk. Produk dengan pH yang terlalu rendah (terlalu asam) dapat menyebabkan iritasi pada kulit, sedangkan pH yang terlalu tinggi (basa) dapat merusak lapisan lipid kulit.

Tabel IV. 4 Hasil Uji pH

Variasi Berat (Gram)	pH Maserasi	pH Infus
10	5,78	6,03
20	5,55	6,02
30	5,55	5,97
40	5,50	5,76
50	5,43	5,67

Semua formulasi, baik maserasi maupun infus, memiliki nilai pH dalam rentang aman menurut SNI (4,5–8,0), sehingga tidak menyebabkan iritasi pada kulit. pH sediaan infus cenderung lebih tinggi dibanding maserasi pada setiap variasi berat, dipengaruhi oleh proses ekstraksi. Infus menggunakan suhu tinggi yang mengekstraksi senyawa netral atau basa seperti limonoid, flavonoid, dan terpenoid. Maserasi tanpa panas mengekstraksi senyawa polar seperti asam askorbat, asam sitrat, dan senyawa fenolik, menghasilkan pH lebih rendah. Peningkatan berat ekstrak menurunkan pH pada kedua metode, menunjukkan lebih banyak senyawa asam yang terekstraksi. Penurunan pH lebih signifikan pada maserasi, mendukung bahwa metode ini mengekstraksi lebih banyak senyawa asam. Nilai pH terendah (5,43 pada maserasi 50 gram) masih aman dan sesuai standar, tidak mengganggu keseimbangan mikrobiota kulit.

### Hasil Uji Densitas

Pengujian densitas dilakukan untuk mengetahui tingkat kerapatan atau massa jenis dari produk *hand sanitizer* yang dihasilkan. Densitas merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi mutu sediaan cair, karena dapat memengaruhi stabilitas, viskositas, serta kenyamanan penggunaan produk. Uji densitas dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode picnometer, di mana picnometer ditimbang dalam kondisi kosong, kemudian diisi penuh dengan air untuk mengetahui berat air, dan selanjutnya diisi dengan sampel *hand sanitizer* untuk mendapatkan nilai densitas dalam satuan gram per mililiter (g/mL).

Berdasarkan hasil pengamatan, diperoleh data densitas *hand sanitizer* yang dibuat menggunakan dua metode ekstraksi, yaitu maserasi dan infus, pada variasi berat ekstrak kulit jeruk sebanyak 10, 20, 30, 40, dan 50 gram.

Tabel IV.5 Hasil Uji Densitas

Variasi Berat (Gram)	pH Maserasi (g/mL)	pH Infus (g/mL)
10	0,9577	0,9215
20	0,9867	0,9335
30	0,9993	0,9390
40	1,0076	0,9515
50	1,0114	0,9631

Seluruh sampel memiliki densitas di atas 0,80 g/mL, memenuhi kriteria sediaan *hand sanitizer*. Densitas meningkat seiring penambahan ekstrak pada metode maserasi dan infus karena peningkatan senyawa terlarut. Metode maserasi menunjukkan peningkatan densitas lebih signifikan dibanding infus. Pada ekstrak 10 gram, maserasi mencapai 0,9577 g/mL, infus 0,9215 g/mL. Ini menunjukkan maserasi menghasilkan ekstrak lebih kaya senyawa terlarut. Densitas tertinggi maserasi 1,0114 g/mL pada 50 gram, infus 0,9631 g/mL. Maserasi menunjukkan kenaikan densitas lebih konsisten terhadap penambahan ekstrak. Secara keseluruhan, maserasi lebih unggul dalam menghasilkan densitas tinggi, namun perlu pengujian lanjut terhadap parameter lain seperti viskositas, pH, dan aktivitas antibakteri.

#### Hasil Uji Kecepatan Mengering

Uji ini bertujuan menilai seberapa cepat sediaan *hand sanitizer* menguap setelah diaplikasikan ke kulit, yang relevan untuk kenyamanan pengguna. Pengukuran dilakukan dengan *stopwatch*: waktu dicatat sejak tetesan *hand sanitizer* diletakkan pada punggung tangan hingga permukaan kulit terasa kering (tidak lengket dan tidak basah).

Tabel IV.6 Hasil Uji Kecepatan Meringing

Variasi Berat (Gram)	Maserasi (Detik)	Infus (Detik)
10	30	28
20	33	30
30	36	32
40	38	34
50	41	36

Semakin besar berat ekstrak kulit jeruk, waktu pengeringan meningkat. Hal ini disebabkan oleh peningkatan massa jenis *hand sanitizer*, sehingga penguapan lebih lambat. Pada setiap berat ekstrak, sediaan maserasi memerlukan waktu 2–5 detik lebih lama mengering dibanding infus, sejalan dengan densitas lebih tinggi pada maserasi akibat kandungan zat terlarut lebih banyak. Meski waktu pengeringan naik, nilai tertinggi (41 detik pada maserasi 50 g) masih dalam batas kenyamanan (<60 detik). Maka, formulasi dengan ekstrak kulit jeruk tetap dapat diterima secara *user-friendly* dan memberikan manfaat bioaktif.

### Hasil Uji Positif Flavonoid

Tabel IV.7 Hasil Uji Positif Flavonoid

Variasi Berat (Gram)	Ekstraksi Maserasi		Ekstraksi Infus	
	Sebelum ditetesi NaOH 10%	Setelah ditetesi NaOH 10%	Sebelum ditetesi NaOH 10%	Setelah ditetesi NaOH 10%
10	Kuning Pucat	Kuning keoranye-an	Kuning Pucat	Kuning pucat agak pekat
20	Kuning Pucat	Oranye kekuningan	Kuning Pucat	Kuning pucat agak pekat

30	Kuning Pucat	Oranye Sedang	Kuning Pucat	Kuning pucat agak pekat
40	Kuning Pucat	Merah Bata Muda	Kuning Pucat	Kuning pucat agak pekat
50	Kuning Pucat	Merah Bata Pekat	Kuning Pucat	Kuning pekat

Uji flavonoid menggunakan NaOH 10% menunjukkan perbedaan mencolok antara ekstrak maserasi dan infus kulit jeruk. Sebelum penambahan NaOH, kedua sampel menunjukkan warna kuning pucat. Setelah penambahan, ekstrak maserasi menunjukkan perubahan warna progresif dari oranye muda hingga merah bata pekat seiring peningkatan berat ekstrak, menandakan keberadaan flavonoid yang signifikan. Sebaliknya, ekstrak infus hanya menunjukkan sedikit penggelapan kuning tanpa munculnya rona oranye atau merah bata, mengindikasikan kandungan flavonoid yang rendah. Hal ini diduga karena flavonoid bersifat termolabil dan rusak akibat suhu tinggi selama infus.

Metode maserasi terbukti lebih efektif mengekstraksi flavonoid karena dilakukan pada suhu kamar dalam waktu lama, memungkinkan difusi senyawa aktif lebih optimal. Selain itu, penggunaan etanol 70% dalam maserasi lebih selektif dibandingkan air dalam infus. Ekstrak maserasi cenderung lebih pekat dan kaya senyawa aktif seperti flavonoid, yang penting untuk aktivitas antioksidan dan antimikroba dalam sediaan *hand sanitizer*. Berdasarkan hasil ini, metode maserasi direkomendasikan sebagai metode ekstraksi yang lebih unggul dan efektif untuk memperoleh senyawa bioaktif dari kulit jeruk

### Hasil Uji Antibakteri (Metode Difusi Cakram)

Tabel IV.8 Hasil Uji Antibakteri (Metode Difusi Cakram)

Kode sampel	Diameter zona hambat (mm)		Rata-rata zona hambat (mm)
	P1	P2	
50 g (Maserasi)	0	-	0
50 g (Infus)	-	0	0
K+	31,0	32,0	31,55
K-	0	0	0

Ket :

K+ = Ciprofloxacin 100 ppm

K- = Aquadest steril

Hasil pengujian menunjukkan variasi berat ekstrak kulit jeruk 50 gram pada *hand sanitizer*, baik yang dibuat dari ekstrak maserasi maupun infus, tidak membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli*, dengan diameter rata-rata 0 mm pada pengujian. Sebaliknya, kontrol positif Ciprofloxacin menghasilkan zona hambat yang besar, dengan rata-rata diameter 31,55 mm, membuktikan bahwa prosedur uji 37 dan kondisi pengujian berjalan valid. Kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat, yang berarti media, pelarut, dan perlakuan lainnya tidak memberikan efek hambatan pada pertumbuhan bakteri. Tidak terbentuknya zona hambat pada seluruh variasi berat sampel dapat dijelaskan oleh beberapa faktor. Pertama, sifat *E. coli* sebagai bakteri Gram negatif dengan membran luar lipopolisakarida yang tebal dan kompleks berperan sebagai penghalang fisik maupun kimia terhadap penetrasi senyawa antibakteri. Struktur ini membuat banyak senyawa nabati, termasuk flavonoid, sulit menembus dan mencapai target metabolik di dalam sel bakteri. Kedua, walaupun uji kualitatif flavonoid menunjukkan adanya senyawa aktif pada ekstrak maserasi, konsentrasi flavonoid dalam formulasi hand sanitizer kemungkinan tidak mencapai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yang diperlukan untuk menghambat *E. coli*. Penambahan bahan-bahan pembentuk gel dan humektan dalam formulasi juga dapat mengurangi jumlah flavonoid yang tersedia bebas, karena sebagian senyawa aktif dapat terperangkap atau berikatan dengan komponen matriks, sehingga tidak mudah berdifusi ke media agar. Dengan mempertimbangkan faktor-faktor tersebut, hasil uji ini tidak serta merta menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk tidak memiliki potensi antibakteri, tetapi lebih menunjukkan bahwa dalam kondisi pengujian ini dengan jenis bakteri uji, bentuk sediaan, konsentrasi, dan metode difusi cakram, aktivitas terhadap *E. coli* tidak dapat terdeteksi. Untuk mendapatkan gambaran yang lebih komprehensif, penelitian selanjutnya disarankan menggunakan metode pengujian lain seperti *broth microdilution* untuk menentukan nilai MIC dan MBC yang tidak terhambat oleh difusi serta menguji pada bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus* yang lebih rentan terhadap senyawa flavonoid.

## Kesimpulan

Penelitian ini mengacu pada hasil analisis parameter uji untuk hand sanitizer dengan menggunakan ekstrak kulit jeruk. Sehingga dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Metode ekstraksi mempengaruhi kandungan flavonoid yang dihasilkan dari kulit jeruk (*Citrus sinensis* L.). Metode maserasi terbukti lebih efektif dibandingkan metode infus dalam mengekstrak flavonoid, yang dibuktikan dengan uji kualitatif menggunakan NaOH 10% yang menghasilkan perubahan warna lebih intens menjadi merah bata pada konsentrasi tinggi, terutama 40 g dan 50 g. Sebaliknya, metode infus hanya menghasilkan perubahan warna kuning pekat tanpa adanya rona oranye atau merah bata yang signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa proses maserasi yang dilakukan pada suhu kamar dengan waktu ekstraksi lebih lama mampu mempertahankan stabilitas senyawa flavonoid yang bersifat termolabil, sedangkan infus dengan suhu tinggi cenderung menyebabkan degradasi sebagian senyawa aktif.
2. *Hand sanitizer* yang diformulasikan dari kedua metode menunjukkan hasil uji yang sesuai standar, baik dari segi pH, densitas, kecepatan mengering, organoleptik, maupun keamanan penggunaan (tidak menyebabkan iritasi). Namun, Hasil pengujian antibakteri dengan metode difusi cakram terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa *hand sanitizer* yang dibuat baik dari ekstrak maserasi maupun infus dengan variasi berat 50 gram tidak menghasilkan zona hambat (0 mm). Sementara itu, kontrol positif Ciprofloxacin 100 ppm menghasilkan zona hambat rata-rata 31,55 mm dan kontrol negatif (aquadest) tidak menunjukkan hambatan pertumbuhan bakteri. Dengan demikian, meskipun metode maserasi menghasilkan kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan infus, perbedaan tersebut tidak memberikan dampak terhadap efektivitas antibakteri terhadap *E. coli* pada kondisi pengujian ini.

## Daftar Referensi

- Adelina S. O., Adelina E., Hasrianty. 2017. Identifikasi Morfologi Dan Anatomi Jeruk Lokal (*Citrus sp*) Di Desa Doda Dan desa Lempe Kecamatan Lore Tengah Kabupaten Poso. E-J. Agrotekbis 5 (1) : 58 – 65. Februari 2017.
- Ani, P. N., & Abel, H. C. (2018). Nutrient, phytochemical, and antinutrient composition of *Citrus maxima* fruit juice and peel extract. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 7(1), 11–16.
- Cahyaningtyas, F. D., Ukrima, Z. A., Nora, N., & Amaria, A. (2021). Pemanfaatan Ekstrak Biji Teratai sebagai Bahan Aktif Antibakteri untuk Pembuatan Hand Sanitizer. *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 3(1), 7-13.
- Fancello, F., Petretto, G. L., dan Zara, S. (2020). Aktivitas antimikroba ekstrak jeruk dan minyak esensial: Stabilitas selama formulasi dan penyimpanan. *Kimia Pangan*, 312, 126036.
- Geraci, A., Di Stefano, V., dan Di Martino, E. (2017). Komponen minyak atsiri dari kulit jeruk dan aktivitas antimikroba. *Natural Product Research*, 31(6), 653659.
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2016). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- Herlina, S., & Lestari, I. (2020). Formulasi Hand Sanitizer Menggunakan Minyak Atsiri Kulit Jeruk. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 5(2), 14–19.
- Kumar, S., dan Pandey, A. K. (2013). Kimia dan aktivitas biologis flavonoid: Tinjauan umum. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750.
- Mahato, N., Sinha, M., Sharma, K., Koteswararao, R., dan Cho, M. H. (2020). Teknik ekstraksi dan pemurnian modern untuk memperoleh senyawa bioaktif bermutu tinggi dan produk sampingan bernilai tambah dari limbah jeruk. *Makanan*, 9(5), 604.
- Mandal, S., Deb Mandal, M., Pal, N. K., dan Saha, K. (2020). Antibacterial activity of honey against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and

- Salmonella enterica* serovar Typhi. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(12), 961-964.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361-367.
- Nurfitri, N., & Gunawan, F. (2022). Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Manis (*Citrus × aurantium L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 8(2), 87–94.
- Nurhayati, L. (2020). Penetapan kadar flavonoid total ekstrak variasi kulit jeruk dengan metode kolorimetri [Karya Tulis Ilmiah, STIKes Nasional]. STIKes Nasional Repository.
- Nuria, M.C., Faizatun, A., & Sumantri. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai bahan aktif hand sanitizer terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 19(1), 42-51.
- O'Bryan, C. A., Crandall, P. G., dan Ricke, S. C. (2015). Aktivitas antimikroba dlimonene dan cara kerjanya terhadap patogen bawaan makanan. *Jurnal Internasional Mikrobiologi Pangan*, 213, 24-32.
- Pratiwi, R. (2019). "Optimasi Formula Hand Sanitizer Berbasis Natural dengan Penambahan Ekstrak Kulit Jeruk". *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 8(2), 89-97.
- Puspitasari, A. D., & Proyogo, L. S. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 13(2), 16–23.
- Putri, R. A., & Rizka, N. (2021). Produk Gel Hand Sanitizer sebagai Antiseptik dari Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis (L.)*). *Jurnal Edukasi dan Ilmu Kimia (JEDCHEM)*, 5(2), 107–113.

- Suryani, N (2021). "Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Hand Sanitizer dari Ekstrak Kulit Jeruk". *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(2), 45-52.
- Setyawardhani, D. A., Saputri, C. M., & Ni'mah, N. (2020). Pembuatan dan Uji Organoleptik Hand Sanitizer dari Daun Mangga (*Mangifera indica*) dengan Metode Maserasi. *Equilibrium Journal of Chemical Engineering*, 4(1).
- Widyawati, L. (2020). "Ekstraksi Minyak Atsiri Kulit Jeruk dengan Metode Maserasi dan Destilasi". *Jurnal Teknologi Pangan*, 12(1), 67-75.
- Wulandari, F., Rostinawati, T., dan Milanda, T. (2017). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Farmaka*, 15(2), 268-276.
- Yoon, J. H., Shin, J. E., dan Yang, Y. H. (2021). Efek antimikroba sinergis dari ekstrak alami gabungan dalam formulasi pembersih tangan. *Bioresource Technology*, 323, 124553.