

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fermentasi

Fermentasi adalah proses pertumbuhan mikroorganisme dalam skala besar yang menghasilkan metabolit sekunder seperti antibiotik dan vitamin. Proses fermentasi juga dapat menghasilkan biomassa (sel-sel mikroba), enzim (amilase dan protease), metabolit primer mikroba (polisakarida, protein, dan asam nukleat), dan biokonversi (konversi asam aseta menjadi etanol). Kecepatan aerasi, jumlah karbon dan nutrisi lainnya yang diubah komposisi dengan mikroba dan produk yang diinginkan, toksin, perubahan pH selama proses fermentasi, dan pembentukan busa adalah semua faktor yang harus diperhatikan selama proses fermentasi (Rollando, 2019).

2.2 Kombucha

Kombucha merupakan minuman fermentasi yang biasanya dibuat melalui fermentasi mikroorganisme yang disebut kultur simbiosis bakteri dan ragi (SCOBY), gula, dan teh hitam atau hijau. Proses transformasi memakan waktu sekitar tujuh hingga lima belas hari dan menghasilkan minuman asam berkarbonasi ringan (Sornkayasit *et al.*, 2024). Kultur SCOBY (*Symbiotic culture of bacteria and yeast*) merupakan bentuk kerjasama simbiotik *yeast* dan bakteri jenis *Acetobacter xylinum* dan *yeast* yaitu jenis; *Saccharomyce scereviseae*, *Saccharomyces ludwii*, *Saccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces sp* dan beberapa jenis khamir *Torulopsis sp* dikenal dengan jamur kombu, jamur dipo atau jamur banteng (Budiandari *et al.*, 2023).



Gambar 2. 1 Fermentasi kombucha (dokumentasi pribadi)

2.2.1 Kandungan kombucha

Kombucha memiliki kandungan alkohol rendah nilai gizi yang tinggi, aman untuk dikonsumsi, berguna untuk mengobati berbagai penyakit dan halal untuk digunakan dengan kandungan 0,5–1% dan pH 3–5,5 (Rezaldi *et al.*, 2022). Kombucha memiliki rasa yang mirip dengan sari apel bersoda dan asam. Selama fermentasi kombucha, rasanya berubah dari asam menjadi asam seperti cuka karena gulanya berubah menjadi asam organik dan beberapa senyawa lain seperti vitamin B, asam asetat, asam laktat, asam glukoronat, asam fenolat, etanol, dan enzim yang dihasilkan oleh bakteri dan khamir (Rosyada *et al.*, 2023).

2.2.2 Khasiat kombucha

Senyawa yang dihasilkan dari fermentasi kombucha di antaranya adalah asam organik (asam asetat), tannin, saponin, dan flavonoid yang memiliki efek antibakteri cukup baik (Safitri & Irdawati, 2020).

2.3 Nanas

Nanas merupakan anggota keluarga *Bromeliaceae*, dikenal sebagai "ratu buah". Nanas berasal dari lembah sungai Parana di Paraguay, di Brasil (Amerika Selatan). Orang India diduga meleakukan seleksi berbagai jenis nanas untuk menghasilkan jenis *Ananas comosus* yang enak dimakan dan sekarang dibudidayakan secara global. Ada beberapa jenis nanas diantaranya: *Smooth Cayenne*, *Queen*, *Spanish*, dan *Abacaxi*. Lokasi yang cukup mendapat sinar matahari sampai ketinggian 500 meter dari permukaan laut adalah tempat terbaik untuk menanam nanas. Daunnya berbentuk taji dengan tepi berduri, tetapi ada juga yang tidak berduri, di dalam daunnya terdapat banyak serat yang dapat digunakan untuk membuat kain atau tali. Dagingnya berwarna kuning muda dan bentuknya bulat panjang (Ardi *et al.*, 2019).

2.3.1 Jenis-jenis nanas

Ada beberapa jenis nanas yang beredar di Indonesia, diantaranya:

1. *Cayenne*



Gambar 2. 2 Buah nanas *cayenne* (dokumentasi pribadi)

Cayenne berwarna hijau kekuningan dengan mata buah sedikit datar, ukurannya besar, berbentuk silindris, tidak berduri, dan rasanya sedikit masam (Riska *et al.*, 2023).

2. *Queen*



Gambar 2. 3 Buah nanas *queen* Bogor (dokumentasi pribadi)

Queen berwarna kuning kemerahan dengan mata buah yang menonjol, berdaun pendek dan berduri tajam, berbentuk lonjong atau silindris dan rasanya manis (Riska *et al.*, 2023). Varietas nanas yang banyak ditanam di Indonesia adalah nanas Bogor, Palembang, dan Blitar (Kediri) (Gultom *et al.*, 2020).

3. Honi



Gambar 2. 4 Buah nanas honi (dokumentasi pribadi)

Nanas Honi merupakan hasil dari nanas Sunpride. Daging buah nanas honi berwarna kuning, rasa yang sedikit asam, memiliki kadar air yang tinggi, kulit tebal dan mata buah tipis, warna kulit bersisik hijau kekuningan. Nanas honi disebut juga dengan nama nanas hijau mempunyai bunga berduri dengan batang yang lebar (Ghoni Tjiptoningsih *et al.*, 2022).

2.3.2 Klasifikasi Nanas

Klasifikasi tanaman nanas (*Ananas comosus* L.) (Ardi *et al.*, 2019):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Kelas	: Angiospermae
Sub Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Farinosae
Family	: Bromeliaceae
Genus	: <i>Ananas</i>
Spesies	: <i>Ananas comosus</i> (L.).

2.3.3 Kandungan Buah Nanas

Buah nanas yang matang mengandung gula, asam sitrat, asam malat, vitamin A dan B, dan bromelin (Indah Wiyati *et al.*, 2018). Enzim bromelin merupakan salah satu jenis enzim *protease* yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino sehingga mudah dicerna tubuh (Purwaningsih *et al.*, 2017). Bagian isolasi nanas yang memiliki aktivitas lebih tinggi terdapat pada daging buah nanas matang dibandingkan dengan

daging buah nanas mentah karena daging buah nanas yang matang mencapai pH 6,5 dengan suhu optimum 50°C dalam waktu 20 menit (Daely *et al.*, 2019).

2.3.4 Khasiat Buah Nanas

Bromelin merupakan enzim proteolitik yang dapat memecah molekul protein pada bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Husniah & Fadilla Gunata, 2020).

2.4 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang menghentikan atau membunuh bakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi dua kategori: sbakteriostatika, yang menghambat pertumbuhan bakteri, dan bakterisida, yang membunuh bakteri. Ketika kadar antibakteri meningkat melebihi Kadar Hambat Minimum (KHM), antibakteri dapat beralih dari aktivitas bakteriostatika ke aktivitas bakterisida (Rollando, 2019).

2.4.1 Mekanisme kerja antibakteri

1. Perusakan dinding sel

Perusakan struktur sel dilakukan dengan cara menghamba pada saat pembentukan atau setelah proses pembentukan dinding sel. Seperti antibiotika penisilin yang menghambat pembentukan dinding sel dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroba (Rollando, 2019).

2. Pengubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma berfungsi mempertahankan bagian-bagian tertentu dalam sel serta mengatur aktivitas difusi bahan-bahan penting, dan membentuk integritas komponen seluler, sehingga terjadi kerusakan pada membran sitoplasma akan menghambat pertumbuhan sel (Rollando, 2019).

3. Penghambatan kerja enzim

Sulfonamid yang bekerja dengan bersaing dengan PABA, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan asam amino essensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin, maka penghambatan enzim akan menyebabkan aktivitas selular tidak berjalan normal (Rollando, 2019).

4. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

Penghambatan DNA dan RNA akan mengakibatkan kerusakan pada sel. DNA dan RNA yang mempunyai peran yang sangat penting sebagai bahan baku pembentukan sel bakteri (Rollando, 2019).

5. Pengubahan molekul protein dan asam nukleat

Antibakteri dapat mengubah keadaan dengan mendenaturasi protein dan asam nukleat, menyebabkan kerusakan sel permanen. Sel tidak dapat bertahan hidup jika molekul protein dan asam nukleat tidak terpelihara dalam keadaan alamiahnya (Rollando, 2019).

Aktivitas antibakteri senyawa dapat diuji dengan menggunakan metode dilusi dan difusi.

1. Metode dilusi

Metode dilusi digunakan untuk zat antimikroba yang dapat larut sempurna untuk menguji daya antibakteri dengan menghentikan perkembangan mikroorganisme pada media cair setelah diberi zat antimikroba atau pada media padat yang dicairkan setelah dicampur dengan zat antimikroba. Pada dilusi cair, kekeruhanya diamati, dan pada dilusi padat, perkembangan mikroorganisme dihentikan dengan melihat konsentrasi terendah (Rollando, 2019).

2. Metode difusi

Metode ini digunakan untuk zat antimikroba yang larut dan tidak larut. Metode ini menguji kekuatan antibakteri dengan mengamati daerah pertumbuhan saat zat antimikroba berdifusi dalam media padat. Ada tiga metode difusi berdasarkan pendasangnya: difusi dengan sumuran, difusi dengan silinder atau cakram, dan difusi dengan parit. Dalam uji *Kirby-Bauer*, difusi *disk* dilakukan dengan meletakkan *disk* atau piringan, yang mengandung antimikroba, pada permukaan media di mana mikroba uji dimasukkan. Antimikroba akan masuk ke dalam media agar selama proses inkubasi. Kecepatan difusi melewati media tidak secepat ekstraksi senyawa antimikroba dari *disk*. Akibatnya, konsentrasi senyawa antimikroba tertinggi terletak paling dekat dengan *disk* dan berkurang secara logaritmik seiring berjalannya jarak dari *disk*. Setelah inkubasi, zona hambat terbentuk di sekeliling *disk* yang menunjukkan efektivitas senyawa antimikroba.

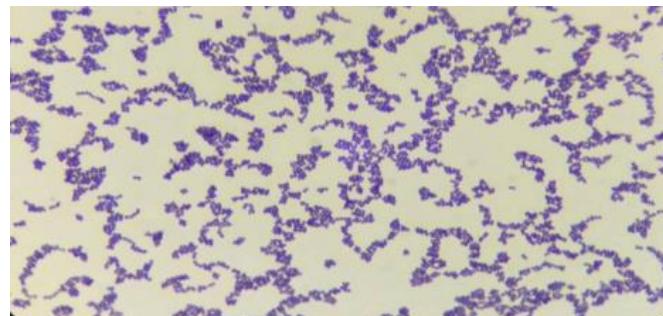
Semakin luas zona hambatnya semakin sensitif senyawa tersebut. Semakin luas zona hambat senyawa tersebut, semakin sensitif. Difusi dilakukan dengan melubangi media yang telah diinokulasi dengan perforator dan memasukkan zat uji di dalamnya. Pada metode difusi parit, zat uji diletakkan pada parit sepanjang diameter media padat, dan kemudian diinokulasi dengan bakteri di bagian kiri dan kanan parit. Teknik ini digunakan untuk sediaan uji dalam bentuk krim atau salep (Rollando, 2019).

2.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang hidup pada kulit dan selaput lendir manusia dan banyak hewan. Meskipun tidak berbahaya, bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada kulit yang rusak atau dalam keringat yang tersumbat atau kelenjar *sebaceous* (Darini & Kurniawati, 2022). Keracunan makanan, infeksi sistemik, dan infeksi kulit adalah beberapa dari banyak jenis infeksi yang dapat disebabkan oleh bakteri *S. aureus*. *Staphylococcus enterotoxin* yang merupakan salah satu jenis faktor virulensi keracunan makanan *Staphylococcus*. Kram perut, muntah-muntah dan kadang-kadang diare adalah gejala keracunan makanan *Staphylococcus* (Pingkan *et al.*, 2022).

Staphylococcus aureus tidak membentuk spora dan tidak memiliki flagel atau mortil. Bakteri ini mengandung protein dan polisakarida yang berfungsi sebagai antigen dan struktur dinding sel. Karena sifatnya yang sangat toksin, invasif, dan tahan terhadap antibiotic. *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri paling berbahaya. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C dengan waktu inkubasi yang relatif pendek (1-8 jam). Bakteri ini juga dapat tumbuh pada pH 4,5-9,3, tetapi pH idealnya adalah 7 (Pingkan *et al.*, 2022).

2.5.1 Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. 5 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Riski & Abrar, 2017)

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Monera
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Firmibacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus mengeluarkan enterotoksin pada makanan yang mengandung banyak protein. Enterotoksin ini tahan terhadap panas, tahan terhadap enzim-enzim pencernaan, dan agak tahan terhadap pengeringan. Semua jenis metabolit yang diproduksis *Staphylococcus aureus* berkontribusi pada patogenitasnya. *Staphylococcus* dapat menginfeksi setiap jaringan atau organ tubuh dengan tanda-tanda penyakit seperti peradangan setempat, nekrosis dan pembentukan abses. *Staphylococcus aureus* adalah patogen utama pada manusia karena menyebabkan keracunan makanan dan infeksi kulit. Jerawat, infeksi folikel rambut atau abses adalah beberapa contoh infeksi lokal pada kulit. Endokarditis, osteomielitis, meningitis atau infeksi paru-paru dapat terjadi jika *Staphylococcus* menyebar dan menyebabkan bakteremia (Pingkan *et al.*, 2022).

2.5.2 Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm dengan kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora, tidak bergerak dan memiliki ketebalan dinding sel 20-80 nm. Lapisan makromolekul peptidoglikan yang tebal dan membran sel yang terdiri dari protein dan lipid serta asam *teichoic* mengontrol sifat elektrostatik, porositas, elastisitas dan kekuatan tarik dinding sel (Pingkan *et al.*, 2022).

Berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau, koloni padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* dengan kapsul polisakarida atau selaput tipis yang membantu bakteri menjadi lebih cepat berkembang biak. Fakta bahwa *Staphylococcus aureus* memfermentasi mannitol dan merupakan bakteri koagulase positif membedakannya dari jenis *Staphylococcus* lainnya. Pada medium padat, koloni *Staphylococcus* berbentuk halus, bulat, meninggi, dan berkilau. Koloni berwarna antara abu-abu dan kuning keemasan. Selain itu, *Staphylococcus aureus* menghasilkan hemolisis saat berkembang biak dengan cepat (Pingkan *et al.*, 2022).

2.5.3 Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Faktor lingkungan seperti suhu, aktivitas air, pH, jumlah oksigen, dan komposisi makanan memengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup *Staphylococcus aureus*. Parameter pertumbuhan fisik *Staphylococcus aureus* berbeda-beda untuk masing-masing strain, tetapi suhu optimal untuk pertumbuhan adalah 12–44°C, dengan tingkat pertumbuhan terbaik adalah 37°C. *Staphylococcus aureus* tahan terhadap pembekuan dan bertahan dalam makanan pada suhu di bawah -20°C, tetapi kelangsungan hidupnya berkurang pada suhu -10–0°C. *Staphylococcus aureus* mudah mati dalam pasteurisasi atau memasak. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* terjadi pada pH optimal 7,4. *Staphylococcus aureus* adalah anaerob fakultatif sehingga dapat tumbuh di kondisi aerobik dan anaerobik. Namun, pertumbuhan terjadi pada tingkat yang lebih lambat dalam kondisi anaerob. *S. aureus* adalah salah satu jenis bakteri yang paling tahan terhadap antibiotik karena jenis bakteri ini tidak membentuk spora. Pada agar miring dapat bertahan berbulan-

bulan dalam suhu kamar atau lemari es. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada suhu 37°C, tetapi paling baik pada 20-25°C (Pingkan *et al.*, 2022).

2.6 *Hand sanitizer*



Gambar 2. 6 Sediaan *hand sanitizer spray*

Hand sanitizer adalah gel atau cairan antiseptik yang digunakan untuk membersihkan bakteri di tangan dengan cepat dan efisien tanpa menggunakan air (Santoso *et al.*, 2024). *Hand sanitizer* ini mengandung berbagai macam bahan aktif antiseptik, termasuk *chlorhexidine*, *benzalkonium chloride*, *benzethonium chloride*, *chloroxylenolf*, *ethanol*, *isopropanol*, *hexachloropheneh*, dan *triclosan* yang digunakan untuk membunuh bakteri di tangan. Jenis produk pembersih tangan ini juga semakin beragam dari segi komposisi, bahan aktif, dan zat pembawanya (Ladyani *et al.*, 2024). Paling umum digunakan atau dipakai oleh masyarakat adalah yang mengandung alkohol dan triklosan. Dalam produk pembersih tangan, ada beberapa campuran emolien yang membantu melindungi dan melembutkan kulit. Selain itu, karena terdiri dari emolien seperti sorbitol, gliserin, dan glisol propelin, *hand sanitizer* ini dapat mempertahankan dan menghaluskan kulit. *Hand sanitizer* yang mengandung alkohol memiliki efek antimikroba yang lebih baik daripada yang tanpa alkohol, menurut *Center for Disease Control* (CDC). *Hand sanitizer* tanpa alkohol memiliki efek residu yang lebih kecil daripada *hand sanitizer* dengan campuran alkohol dan antiseptik seperti *chlorhexidine* (Nakoe *et al.*, 2020). Ada dua jenis *hand sanitizer* yaitu *gel* dan *spray*. Kedua jenis pembersih tangan tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan, karena perbedaan kemampuan dalam membunuh kuman. *Hand sanitizer gel* dapat memberikan efek dingin pada kulit

tetapi proses pengeringannya lama, sedangkan *hand sanitizer spray* tidak menimbulkan efek lengket pada kulit dan proses pengeringannya cepat (Ladyani *et al*, 2024). Menurut FDA (*Food and Drug Administration*) bahwa *hand sanitizer* dapat membunuh kuman dalam waktu <30 detik (Nakoe *et al.*, 2020).

2.6.1 Penggunaan *hand sanitizer spray*

1. Semprotkan *hand sanitizer* pada telapak tangan.
2. Usap menyeluruh ke bagian telapak tangan, punggung tangan, dan pergelangan tangan.
3. Apabila diperlukan, bersihkan tangan dengan kain bersih atau tisu.

2.7 Monografi eksipien

1. Gliserin

Gliserin mengandung $C_3H_8O_3$, tidak <99,0% dan tidak >101,0% dihitung terhadap zat anhidrat.

Pemerian : cairan jernih, tidak berwarna, rasa manis, berbau khas (tajam atau tidak enak), higroskopik, larutan netral terhadap laksus.

Kelarutan : dapat bercampur dengan air dan etanol; tidak larut dalam kloroform, dalam eter, dalam minyak lemak dan minyak menguap (FI Edisi VI, 2020).

2. Isopropil alkohol

Isopropil alkohol adalah cairan bening, tidak berwarna, mudah bergerak, mudah menguap, mudah terbakar, rasanya agak pahit, baunya mirip dengan campuran etanol dan aseton. Isopropil alkohol (*propan-2-ol*) adalah bahan yang digunakan dalam kosmetik dan formulasi farmasi, terutama sebagai pelarut untuk formulasi topikal. Karena toksisitasnya, tidak disarankan untuk dikonsumsi secara oral. Sifat penghilang lemak isopropil alkohol dapat membuatnya tidak efektif jika digunakan berulang kali, meskipun digunakan dalam losion. Isopropil alkohol juga digunakan sebagai pelarut untuk film tablet dan granulasi tablet. Selain itu, telah terbukti bahwa isopropil alkohol meningkatkan permeabilitas kulit nimesulida

karbomer 934 secara signifikan. Fungsi sebagai pengawet antimikroba dan pelarut (Sheskey *et al.*, 2020).

3. Propilen Glikol

Propilen Glikol mengandung tidak < 99,5% C₃H₈O₂.

Pemerian : cairan kental, jernih, tidak berwarna, rasa khas, praktis tidak berbau, menyerap air pada udara lembab.

Kelarutan : dapat bercampur dengan air, dengan aseton, dan dengan kloroform; larut dalam eter dan dalam beberapa minyak esensial; tidak dapat bercampur dengan minyak lemak (FI Edisi VI, 2020).

4. Karbopol 940

Karbomer nama lain dari karbopol adalah bubuk berwarna putih, "lembut", asam, higroskopis dan memiliki sedikit bau yang unik. Karbomer digunakan dalam formulasi farmasi dan kosmetik cair atau semipadat sebagai pengubah reologi dan agen pengemulsi untuk membuat emulsi minyak dalam air untuk digunakan secara eksternal. Jenis produk ini termasuk krim, gel, losion, dan salep yang dapat digunakan sebagai obat oftalmik, rektal, topikal, dan vagina. Karbomer digunakan sebagai agen pelepasan terkendali dalam pembuatan tablet, baik secara mandiri atau bersama polimer lain seperti hipromelosa dan polivinil asetat ftalat. Dengan karbomer, viskositas yang lebih tinggi tidak menyebabkan pelepasan obat yang lebih lambat, berbeda dengan polimer linier. Karbomer juga digunakan sebagai pengikat dalam granulasi basah dengan air, pelarut organik, atau campuran sebagai cairan granulasi. Polimer karbomer juga telah dipelajari dalam persiapan sistem multipartikulat untuk pengiriman oral dan dalam pemberian oral. Fungsi sebagai bahan bioadhesif, agen pengemulsi, agen penstabil emulsi, agen pelepasan termodifikasi, agen suspense, agen penambah viskositas (Sheskey *et al.*, 2020).

5. TEA (Trietanolamina)

Trietanolamin adalah cairan kental bening dengan bau amoniak yang tidak berwarna hingga kuning pucat. Trietanolamin adalah campuran basa yang terutama terdiri dari *2,2',2'-nitrilotrietanol*, tetapi juga mengandung *2,2'-iminobistanol* (*dietanolamine*) dan sedikit *2-aminotanol* (*monoetanolamin*). Trietanolamin

banyak digunakan dalam formulasi farmasi topikal, terutama untuk membuat emulsi. Trietanolamin membentuk sabun anionik dengan pH sekitar 8 ketika dicampur secara ekuimolar dengan asam lemak seperti asam stearat atau asam oleat. Ini dapat digunakan sebagai agen pengemulsi untuk membuat emulsi minyak dalam air yang halus dan stabil. Untuk pengemulsi, konsentrasi trietanolamin 2-4% v/v dan asam lemak 2-5 kali lipat biasanya digunakan. Minyak mineral, konsentrasi trietanolamin harus 5% v/v, dengan jumlah asam lemak yang digunakan sesuai. Trietanolamin juga digunakan dalam pembentukan garam untuk larutan suntik dan sediaan analgesik topikal. Zat ini juga digunakan dalam sediaan tabir surya. Sediaan yang mengandung sabun trietanolamin cenderung menggelap saat disimpan. Namun, perubahan warna dapat dikurangi dengan menghindari paparan cahaya dan kontak dengan logam dan ion logam. Fungsi sebagai agen alkali dan agen pengemulsi (Sheskey *et al.*, 2020).

6. Aquadest

Air minum yang layak untuk diminum yang diambil langsung dari pasokan umum disebut "air". Air yang digunakan dalam industri farmasi dan disiplin ilmu terkait disebut sebagai air minum (minum), air murni, air steril untuk injeksi (*Water For Injection*), air bakteriostatik untuk injeksi, air steril untuk irigasi, atau air steril untuk dihirup. Kecuali air minum, semua sistem yang memproduksi air tersebut harus divalidasi. Komposisi kimia air minum beragam dan sifat dan konsentrasi pengotornya bergantung pada sumbernya. Air yang dikategorikan sebagai air minum untuk tujuan seperti pembilasan awal dan pembuatan API (*Active Pharmaceutical Ingredient*) harus memenuhi Peraturan Air Minum Primer Nasional Badan Perlindungan Lingkungan Amerika Serikat, atau peraturan serupa dari Uni Eropa atau Jepang. Air minum untuk sebagian besar aplikasi farmasi dimurnikan melalui distilasi, pengolahan pertukaran ion, *reverse osmosis* (RO), atau proses lain yang sesuai untuk menghasilkan "air murni". Untuk aplikasi tertentu, air dengan spesifikasi farmasi yang berbeda dari air murni, misalnya *Water For Injection* harus digunakan. Air adalah cairan yang tidak berasa, tidak berwarna, dan tidak berbau. Fungsi sebagai pelarut (Sheskey *et al.*, 2020).

2.8 Evaluasi sediaan *hand sanitizer spray*

2.8.1 Uji Organoleptik

Uji ini dilakukan dengan prinsip menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk menilai mutu produk (Firdausi *et al*, 2021). Uji organoleptik melihat bentuk atau konsistensi, warna dan aroma (FI Edisi VI, 2020).

2.8.2 Uji pH

Tujuan mengukur pH sediaan topikal Hand Sanitizer adalah untuk memastikan bahwa tingkat keasaman tetap stabil. Sediaan topikal dengan pH yang terlalu asam dapat menyebabkan iritasi pada kulit, sedangkan pH yang terlalu basa dapat menyebabkan kulit kering dan bersisik (Firmansyah *et al.*, 2021).

Pengujian menggunakan pH meter dilakukan standarisasi terlebih dahulu dengan membilas elektroda menggunakan aquades, lalu dikeringkan. Celupkan pH meter ke dalam 10 ml sediaan. Setelah pH meter dicelupkan dan nilai stabil didapatkan pembacaan pH meter (FI Edisi VI, 2020). Menurut badan standarisasi nasional nilai pH yang ditetapkan untuk *hand sanitizer* bernilai antara 4 – 10 (SNI, 2017).

2.8.3 Uji Homogenitas

Homogenitas merupakan indikator untuk menyatakan suatu zat tercampur dengan sempurna atau homogen (Santoso *et al.*, 2024). Pemeriksaan homogenitas sediaan *hand sanitizer spray* dilakukan dengan cara memasukkan sediaan kedalam gelas objek. Pemeriksaan ini untuk melihat ada atau tidaknya gumpalan atau endapan pada sediaan (FI Edisi VI, 2020).

2.8.4 Uji Viskositas

Pemeriksaan viskositas yang dilakukan untuk melihat kekentalan sediaan *hand sanitizer* (Rasyadi *et al.*, 2021). Uji viskositas menggunakan viskometer *Brookfield* dengan *spindle* no. 3 pada kecepatan 30 rpm. Hal ini dilihat viskositasnya dengan cara mencelupkan *spindle* ke dalam sediaan. Nilai viskositas spray yang baik diharapkan kurang dari 150 cP (Hayati *et al*, 2019).

2.8.5 Uji Waktu Kering

Uji kecepatan waktu mengering dilakukan untuk mengetahui berapa lama sediaan membutuhkan waktu untuk mengering. Ketika sediaan tidak lengket, basah,

atau kekurangan air, disebut kering. Pada sisi dalam lengan bagian bawah, sediaan disemprotkan. Kemudian hitung berapa lama cairan semprot mengering. Sebuah uji waktu mengering yang baik adalah kurang dari lima menit dan dikatakan bahwa waktu pengeringan yang lebih cepat terkait dengan konsentrasi zat aktif dalam sediaan (Rasyadi *et al.*, 2021).

2.8.6 Uji Stabilitas dengan metode *freeze and thaw*

Sediaan disimpan pada suhu dingin ($4\pm2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam dan dipindahkan ke dalam oven suhu $40\pm2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, proses ini dihitung 1 siklus. Pengujian ini dilakukan selama 3 siklus. Sediaan diamati untuk setiap siklusnya apakah ada perubahan bentuk dari sediaan (Rasyadi *et al.*, 2021).

2.8.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi cakram untuk mengetahui aktivitas sediaan dapat menghambat pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

1. Sterilisasi alat

Sterilisasi dilakukan menggunakan wadah berbahan kaca yang telah dilapisi alumunium foil dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Rosyada *et al.*, 2023).

2. Pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA 9,5 gram dilarutkan aquadest sebanyak 250 ml ke dalam tabung *Erlemeyer*, kemudian diletakkan diatas *hotplate*, autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media MHA dituang ke dalam cawan petri sebanyak 25 ml (Nurhayati *et al.*, 2020).

3. Peremajaan Bakteri Uji

Inokulasi satu ose biakan murni bakteri ke dalam medium pertumbuhan. Kultur bakteri diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Handayani & Hilda Putri, 2023).

4. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Sebanyak 2-3 ose koloni bakteri uji ditambahkan ke dalam 10 mL aquadest steril. Kekeruhan suspensi diukur dengan spektrofotometer pada panjang

gelombang 625 nm sampai OD (densitas optik) mencapai 0,08–0,1 (Handayani & Hilda Putri, 2023).

5. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Suspensi bakteri uji diinokulasikan secara merata ke medium MHA menggunakan *cotton bud* yang sudah disterilisasi. Pengujian aktivitas antibakteri fermentasi kombucha sari buah nanas dan sediaan *hand sanitizer spray* kombucha sari buah nanas (F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7) dengan konsentrasi berbeda diteteskan pada masing-masing kertas cakram. Kertas cakram selanjutnya diletakkan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang sudah diinokulasikan bakteri uji. Selama 18-24 jam pada suhu 37 °C, kultur bakteri diinkubasi (Handayani & Hilda Putri, 2023). Zona hambat atau zona bening yang terbentuk di ukur pada cakram kertas dengan menggunakan jangka sorong (G Laia *et al.*, 2019).

Tabel 2. 1 Klasifikasi hambatan pertumbuhan bakteri (David & Stout, 1971; G Laia *et al.*, 2019)

Diameter	Respon Hambat
zona hambat	Pertumbuhan
<5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat