

SKRIPSI

**FORMULASI HANDSANITIZER SPRAY EKSTRAK ETANOL DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

Disusun Oleh:
Lilia Tri Oktavia
NPM: 180801943



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2025**

**FORMULASI HANDSANITIZER SPRAY EKSTRAK ETANOL DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh
derajat Sarjana S-1**

Disusun oleh:
Lilia Tri Oktavia
NPM: 180801943



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2025**

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul:

**FORMULASI HANDSANITIZER SPRAY EKSTRAK ETANOL DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Lilia Tri Oktavia

NPM: 180801943

Konsentrasi Studi Teknobiologi-Industri
Program Studi Biologi

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada hari 18 Juli 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat
untuk memperoleh derajat Sarjana S-1

SUSUNAN TIM PENGUJI

Ketua Penguji,



(Drs. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc.)

Anggota Penguji,



(Dr. apt. Sendy Junedi, S.Farm., M.Sc.)

Sekretaris Penguji,



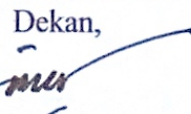
(apt. Stefani Santi W., S.Farm., M.Biotech.)

Yogyakarta, 31 Juli 2025

**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI**



Dekan,



(apt. Ines Septi Arsiningtyas, S.Farm., M.Sc., Ph.D.)

FAKULTAS
TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul:

**FORMULASI *HANDSANITIZER SPRAY* EKSTRAK ETANOL DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Lilia Tri Oktavia

NPM: 180801943

Konsentrasi Studi Teknobi-Industri

Program Studi Biologi

Dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diujikan pada 18 Juli 2025

Menyetujui,

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Pendamping,



(Drs. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc.)



(apt. Stefani Santi W., S.Farm., M.Biotech.)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Lilia Tri Oktavia
NPM : 180801943
Judul Skripsi : Formulasi Handsanitizer Spray Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata terbukti melanggar pernyataan tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar keserjanaan saya).

Yogyakarta, 14 Juli 2025

Yang menyatakan,



Lilia Tri Oktavia

NPM: 180801943

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian Tugas Akhir dan naskah skripsi ini dengan baik di Laboratorium Teknobia-Industri Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Skripsi yang berjudul “Formulasi *Handsanitizer Spray* dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*” dijadikan sebagai salah satu syarat kelulusan untuk menyelesaikan perkuliahan program studi S-1 Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Penelitian dan skripsi yang sudah selesai ini tidak terlepas dari bantuan, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih secara tulus kepada pihak-pihak yang telah berperan.

1. Tuhan Yesus Kristus yang memberikan berkat dan penyertaan dalam hidup penulis sehingga bisa menyelesaikan semua proses penelitian dan Naskah Skripsi.
2. Keluarga yaitu Papa Liu Djung Sen dan Mama Hon Tshui Djan selaku orang tua, lalu Koko Eddy Senjaya dan Cece Melly Lia sebagai Kakak dari penulis karena sudah yang memberikan doa, waktu, dukungan, izin secara emosional dan finansial kepada penulis.
3. apt. Ines Septi Arsiningtyas, Ph.D. selaku Dekan Fakultas Teknobia Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian Skripsi.
4. Dra. L. Indah Murwani Y., M.Si. selaku Kepala Program studi Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan bantuan secara tidak langsung kepada penulis selama penelitian skripsi.
5. Drs. Boy Rahardjo S., M.Sc. dan apt. Stefani Santi W., S.Farm., M.Biotech. selaku dosen pembimbing Skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu dalam membimbing, membantu, mendorong dan memberi arahan serta masukan dalam naskah skripsi penulis.
6. Dr. Nelsiani To'Bungan, S.Pd., M.Sc. selaku Kepala Laboratorium Teknobia-Industri yang telah memberi izin kepada penulis untuk peminjaman alat laboratorium dalam pelaksanaan penelitian skripsi.
7. Ibu Wati selaku laboran Laboratorium Teknobia-Industri yang telah banyak

membantu selama proses pelaksanaan penelitian skripsi.

8. Teman seperjuangan yang disayangi oleh penulis yaitu Ima, Elysia dan teman-teman lainnya entah teman dari angkatan 2018 ataupun di luar kampus yang tidak bisa disebutkan satu persatu karena telah memberi doa terbaik, semangat, bantuan, pendapat, menghibur dan hadir ketika dibutuhkan oleh penulis dalam pengerjaan penelitian skripsi atau penulisan naskah skripsi.
9. Semua pihak lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu karena telah memberi semangat, dukungan dan doa terbaik untuk penulis dalam penyelesaian penelitian naskah skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penyusunan naskah skripsi ini masih ada kekurangan didalamnya. Karena itu penulis juga berterima kasih kepada orang-orang yang mau membaca skripsi ini dan terbuka dengan saran ataupun kritik yang bersifat membangun untuk penulis. Terakhir dari penulis mengharapkan skripsi ini ada penyempurnaan di masa depan dan bisa bermanfaat bagi semua orang terutama yang membaca.

Yogyakarta, 10 Juli 2025

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL HALAMAN.....	i
PENGESAHAN	ii
PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	6
A. TINJAUAN PUSTAKA	6
1. Belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.).....	6
2. Senyawa Metabolit Sekunder Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) ..	9
3. Ekstraksi	11
4. Fitokimia Kualitatif	14
a. Alkaloid	15
b. Flavonoid.....	17
c. Tanin.....	19
d. Steroid dan Terpenoid	21
e. Saponin.....	22
5. Handsanitizer	23
6. Formulasi dan Evaluasi	25

7. <i>Staphylococcus aureus</i>	26
8. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
9. Pengujian Antibakteri	28
B. Hipotesis	29
III. METODE PENELITIAN.....	31
A. Tempat dan Waktu Penelitian	31
B. Alat dan Bahan	31
C. Rancangan Penelitian	32
D. Tahapan penelitian	34
1. Persiapan, Pemilihan dan Determinasi	34
2. Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi.....	34
3. Pengujian Fitokimia.....	35
a. Kualitatif	35
1) Alkaloid.....	35
2) Flavonoid	35
3) Tanin	35
4) Steroid dan Terpenoid	35
5) Saponin.....	36
b. Kuantitatif	36
4. Pengujian Kemurnian Bakteri	37
a. Morfologi Koloni	37
b. Pengecatan Gram	37
c. Motilitas	38
d. Katalase.....	38
e. Fermentasi Karbohidrat	38
5. Sediaan Handsanitizer	39
6. Evaluasi Sediaan Handanitizer	39
a. Organoleptik dan Hedonik.....	39
b. pH.....	40
c. Homogenitas	40
d. Pola penyemprotan	40

7. Pengujian Antibakteri pada Ekstrak dan Sediaan <i>Handsanitizer Spray</i>	41
a. Sterilisasi alat dan Bahan.....	41
b. Pembuatan <i>Nutrient Agar</i> dan <i>Nutrient Broth</i>	41
c. Penyiapan Bakteri Uji.....	42
d. Pembuatan Suspensi Bakteri	42
e. Pengujian Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh dan Sediaan <i>Handsanitizer Spray</i>	42
8. Analisis Data	43
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	44
A. Identifikasi Belimbing Wuluh.....	44
B. Ekstraksi dan Fitokimia belimbing Wuluh.....	46
1. Ekstraksi	46
2. Fitokimia.....	47
C. Permurnian Bakteri	50
D. Formulasi dan Evaluasi Sediaan	51
E. Zona Hambat Antibakteri Ekstrak dan Sediaan	54
V. SIMPULAN DAN SARAN	59
A. simpulan.....	59
B. Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Syarat Mutu Handsanitizer.....	25
Tabel 2. Rancangan Percobaan Pengujian Antibakteri terhadap Ekstrak Daun belimbing wuluh	34
Tabel 3. Tabel 2. Rancangan Percobaan Pengujian Antibakteri terhadap Sediaan Ekstrak Daun belimbing wuluh	34
Tabel 4. Formula Sediaan <i>Handsanitizer</i> Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	40
Tabel 5. Rendemen Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.).....	48
Tabel 6. Hasil Fitokimia secara kualitatif Belimbing Wuluh	49
Tabel 7. Pengukuran Absorbansi dari Deret Standar Kuersetin dengan Panjang Gelombang 415 nm.....	50
Tabel 8. Hasil Kemurnian Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>P. aeruginosa</i>	51
Tabel 9. Organoleptik sediaan <i>handsanitizer spray</i> ekstrak daun belimbing wuluh	53
Tabel 10. Rata-rata Pola Penyemprotan Sediaan	55
Tabel 11. Zona Hambat Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	57
Tabel 12. Hasil Zona Hambat Sediaan <i>Handsanitizer Spray</i> Ekstrak	58
Tabel 13. Hasil Rendemen Maserasi Daun Belimbing Wuluh	69
Tabel 14. Hasil Standar Kuersetin	71
Tabel 15. Hasil Uji Kuantitatif Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh	71
Tabel 16. Hasil Zona Hambat Ekstrak terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ..	74
Tabel 17. Gambar Hasil Zona Hambat Antibakteri Ekstrak terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	74
Tabel 18. Hasil Zona Hambat Ekstrak terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75
Tabel 19. Gambar Hasil Zona Hambat Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75
Tabel 20. Hasil Survei Organoleptik.....	77
Tabel 21. Hasil Pengukuran pH	81
Tabel 22. Pola penyemprotan dan berat	82
Tabel 23. Pola Penyemprotan dengan jarak 5, 10 dan 15 cm	82
Tabel 24. Hasil Zona hambat Sediaan handsanitizer bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	83
Tabel 25. Gambar Hasil Zona Hambat Sediaan <i>Handsanitizer</i> terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	83
Tabel 26. Hasil Zona Hambat Sediaan <i>Handsanitizer</i> terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84
Tabel 27. Gambar Hasil Zona Hambat Sediaan <i>Handsanitizer</i> terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Batang, Buah dan Daun Belimbing Wuluh.....	8
Gambar 2. Reaksi pada pengujian Dragendorff	16
Gambar 3. Reaksi Uji Mayer	16
Gambar 4. Reaksi Uji Wagner	16
Gambar 5. Struktur flavonoid	18
Gambar 6. Reaksi pengujian flavonoid antara HCl dan logam Mg	19
Gambar 7. Struktur kimia tanin.....	20
Gambar 8. reaksi uji tanin	21
Gambar 9. struktur dasar steroid	22
Gambar 10. Reaksi uji triterpenoid	22
Gambar 11. pengujian steroid	22
Gambar 12. Struktur Saponin.....	22
Gambar 13. Proses Hidrolisis uji Saponin	23
Gambar 14. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Gambar 15. Identifikasi Batang Belimbing Wuluh	45
Gambar 16. Identifikasi Daun Belimbing wuluh (kiri) daun terpisah dan (kanan) daun menyatu dengan tangkai	46
Gambar 17. Identifikasi Bunga Belimbing wuluh (kiri) Bunga Tampak Jauh (tengah) Bunga Tampak Dekat (kanan) Kuncup Bunga	46
Gambar 18. Identifikasi Buah Belimbing wuluh	47
Gambar 19. Formulasi sediaan.....	52
Gambar 20. Pengujian Homogenitas sediaan.....	54
Gambar 21. Antibakteri Ekstrak terhadap bakteri <i>S.aureus</i> (Kiri) dan <i>P.aeruginosa</i> (Kanan).....	56
Gambar 22. Antibakteri Sediaan terhadap bakteri <i>S.aureus</i> (Kiri) dan <i>P.aeruginosa</i> (Kanan).....	58
Gambar 23. Simplisia Daun Belimbing Wuluh	67
Gambar 24. Serbuk Simplisia Daun Belimbing Wuluh	68
Gambar 25. Maserasi Daun Belimbing wuluh sebelum disaring.....	68

Gambar 26. Proses Penyaringan Maserasi Daun Belimbing wuluh	68
Gambar 27. Hasil Uji Kadar Air	68
Gambar 28. Kurva Deret Standar Kuersetin dengan panjang gelombang 415 nm	71
Gambar 29. Perlakuan Zona Hambat	73
Gambar 30. <i>Handsantizer spray</i> ekstrak daun belimbing wuluh.....	76
Gambar 31. Kontrol negatif handsantizer etanol 96 %.....	76
Gambar 32. Kontrol positif <i>Handsantizer</i> Komersil.....	76
Gambar 33. Hasil Homogenitas	81
Gambar 34. Hasil Uji pH (kiri U1) dan (Kanan U2).....	81
Gambar 35. Analisa Data Oneway ANOVA Antibakteri Ekstrak terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	85
Gambar 36. Analisa Data uji Duncan Antibakteri Ekstrak terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	86
Gambar 37. Analisa Data Oneway ANOVA Antibakteri Ekstrak terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	86
Gambar 38. Analisa Data Uji Duncan Antibakteri Ekstrak terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	87
Gambar 39. Analisa Data Oneway ANOVA Antibakteri Sediaan <i>Handsantizer</i> <i>Spray</i> terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	88
Gambar 40. Analisa Data Uji Duncan Antibakteri Sediaan <i>Handsantizer Spray</i> terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	88
Gambar 41. Analisa Data Oneway ANOVA Antibakteri Sediaan <i>Handsantizer</i> <i>Spray</i> terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	89
Gambar 42. Analisa Data Uji Duncan Antibakteri Sediaan <i>Handsantizer Spray</i> terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	89

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Determinasi Identifikasi Belimbing Wuluh	66
Lampiran 2. Surat Sertifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	66
Lampiran 3. Surat Sertifikasi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67
Lampiran 4. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Belimbing Wuluh	67
Lampiran 5. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh.....	68
Lampiran 6. Hasil Metabolit Sekunder Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh.....	69
Lampiran 7. Hasil Metabolit Sekunder Kuantitatif Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh	70
Lampiran 8. Hasil Pengujian Kemurnian Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	72
Lampiran 9. Aktivitas Antibakteri Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh.....	73
Lampiran 10. Formulasi Sediaan <i>Handsantizer Spray</i>	76
Lampiran 11. Hasil Evaluasi Sediaan <i>Handsantizer Spray</i>	77
Lampiran 12. Antibakteri Zona Hambat Sediaan <i>Handsantizer</i> Daun Belimbing Wuluh.....	83
Lampiran 13. Hasil Analisis Data SPSS	85

INTISARI

Pandemi Covid-19 mendorong penerapan protokol kesehatan termasuk kebiasaan mencuci tangan dengan sabun atau menggunakan *hand sanitizer* untuk mencegah penyebaran penyakit. Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta mengevaluasi formulasi sediaan *hand sanitizer spray* dari ekstrak tersebut. Ekstrak diperoleh melalui metode maserasi dengan etanol 96%, kemudian diuji kadar flavonoid total (TFC), diuji aktivitas antibakteri pada konsentrasi 20%, 40%, dan 60%, dan diformulasikan dalam bentuk sediaan *spray* menggunakan konsentrasi terpilih 20% serta dievaluasi sifat fisik dari sediaan tersebut. Tahapan penelitian meliputi determinasi tanaman, ekstraksi, uji fitokimia, formulasi, evaluasi fisik sediaan, dan uji daya hambat antibakteri. Analisis menggunakan *onewayANOVA* dan uji Duncan. Hasil menunjukkan TFC sebesar $85,63 \pm 0,01$ mg QE/g ekstrak, zona hambat tertinggi dari ekstrak terhadap *P. aeruginosa* sebesar $1,13 \pm 0,083$ cm dan *S. aureus* sebesar $1,09 \pm 0,155$ cm. Sediaan *spray* menunjukkan zona hambat lebih besar: *P. aeruginosa* $1,67 \pm 0,292$ cm dan *S. aureus* $1,41 \pm 0,213$ cm. Evaluasi sediaan menunjukkan pH 5–6, bau aromatik, warna keruh gelap, bentuk agak kental, dan pola semprotan 11–22 cm. Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh memiliki potensi sebagai antibakteri dan dapat diformulasikan dalam sediaan *hand sanitizer spray*.

Kata kunci: Daun Belimbing Wuluh, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, Antibakteri, *Handsanitizer Spray*

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic has emphasized the importance of public health protocols including handwashing and the use of hand sanitizers. This study investigates the antibacterial potential of Averrhoa bilimbi leaf extract against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa, and evaluates formulation into hand sanitizer spray. The extract was obtained through maceration using 96% ethanol and analyzed for total flavonoid content (TFC), antibacterial activity at concentrations of 20%, 40%, and 60%, and formulated into a spray preparation using the selected concentration (20%). The research involved plant determination, extraction, phytochemical screening, formulation, physical evaluation, and antibacterial testing. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test. The TFC of the extract was 85.63 ± 0.01 mg QE/g. The highest inhibition zones of the extract were 1.13 ± 0.083 cm for P. aeruginosa and 1.09 ± 0.155 cm for S. aureus. The formulated spray exhibited larger inhibition zones: 1.67 ± 0.292 cm (P. aeruginosa) and 1.41 ± 0.213 cm (S. aureus). Physical evaluation revealed that the spray had a pH of 5–6, aromatic scent, dark turbid color, slightly viscous texture, and a spray pattern ranging from 11 to 22 cm. These findings indicate that Averrhoa bilimbi leaf extract demonstrates antibacterial activity and has the potential to be developed into a hand sanitizer spray formulation.

Keywords: Belimbing Wuluh Leaves, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Antibacterial, Handsanitizer Spray