

Pembuatan Sabun Mandi Transparan VCO dengan Penambahan Ekstrak Biji Alpukat Sebagai Antioksidan dan Antibakteri Alami

Timothy Turangan¹, Dewa Gede Katja¹, Henry F. Aritonang¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi

Email: marlevtimmy11@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pembuatan sabun mandi transparan berbahan dasar *Virgin Coconut Oil* dengan penambahan ekstrak biji alpukat sebagai bahan aktif dalam sabun. Mutu sabun yang dihasilkan dianalisis berdasarkan SNI 3532:2021 tentang Sabun Mandi Padat. Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH dan aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi cakram kertas (Kirby-Bauer). Sabun yang dibuat dengan penambahan ekstrak biji alpukat tidak memenuhi SNI untuk parameter total lemak dan kadar klorida. Sabun tanpa penambahan ekstrak biji alpukat tidak memenuhi kriteria SNI untuk parameter total lemak, kadar klorida dan lemak tak tersabunkan. Sabun dengan penambahan ekstrak biji alpukat memiliki aktivitas penangkal radikal bebas dengan nilai IC_{50} sebesar 17,17 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong sangat kuat. Aktivitas antibakteri dari sabun dengan penambahan ekstrak biji alpukat memberikan hasil zona hambat yang tergolong sedang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: Sabun, *virgin coconut oil*, antioksidan, antibakteri, biji alpukat

ABSTRACT

A research was conducted on the manufacture of transparent bath soap made from Virgin Coconut Oil with the addition of avocado seed extract as an active ingredient. The quality of the soap produced was analyzed based on SNI 3532:2021 concerning Solid Bath Soap. Antioxidant activity was examined using the DPPH free radical scavenging method and the antibacterial activity was tested using the paper disc diffusion method (Kirby-Bauer). Soap made with the addition of avocado seed extract did not meet the conditions required by SNI for total fat and chloride content. Soap without the addition of avocado seed extract did not qualify by SNI for the parameters of total fat, chloride content and unsaponifiable fat. Soap with the addition of avocado seed extract has very strong free radical scavenging activity with an IC_{50} value of 17.17 $\mu\text{g/mL}$. The soap with the addition of avocado seed extract showed antibacterial activity resulted in moderate inhibition zone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Soap, virgin coconut oil, antioxidant, antibacteria, avocado seed

PENDAHULUAN

Sabun digunakan oleh semua golongan umur dalam masyarakat dari yang muda hingga lanjut usia untuk membersihkan kulit dari zat pengotor. Berdasarkan wujudnya, sabun mandi diklasifikasikan dengan wujud padat dan cair. Menurut Hambali dkk. (2005), sabun mandi padat diklasifikasi berdasarkan transparansi, yaitu sabun *opaque* (tidak transparan), *translucent* (tembus cahaya) dan *transparent* (transparan). Sabun transparan merupakan salah satu inovasi produk sabun di masa kini. Keunggulan sabun transparan ialah penampakkannya yang lebih jernih daripada sabun *opaque*, permukaan yang mengkilap dan menghasilkan busa yang lebih lembut di kulit (Kailaku, 2011; Momuat & Wuntu, 2017). Keunggulan tersebut menyebabkan harga sabun relatif lebih mahal jika dibandingkan dengan sabun biasa (Widyasanti & Rohani, 2017).

Pembuatan sabun dilakukan dengan mereaksikan asam lemak dan larutan basa. Salah satu sumber asam lemak yang dapat digunakan ialah minyak. Berbagai jenis minyak telah digunakan dalam

pembuatan sabun, salah satunya ialah minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil/VCO*). Kandungan asam lemak VCO yang cukup banyak dapat menghemat penggunaan berbagai minyak dalam sabun.

Di era saat ini, pengembangan inovasi sabun semakin variatif. Pengembangan ini dipicu oleh fenomena kulit akibat aktivitas radikal bebas dan pertumbuhan bakteri yang merugikan. Aktivitas radikal bebas menyebabkan kerusakan fisik terhadap sel-sel tubuh sehingga timbul penyakit degeneratif (Widayati, 2012). Radikal bebas juga memicu terjadinya ketengikan pada produk berbahan dasar minyak, seperti sabun. Untuk menangani masalah tersebut, diperlukan senyawa antioksidan yang dapat menjaga kesehatan kulit serta kualitas dari sabun. Permasalahan kulit yang lain adalah pertumbuhan bakteri yang merugikan. Hal ini dapat ditangani dengan senyawa antibakteri yang menghambat dan membunuh bakteri tersebut. Fenomena tersebut menyebabkan adanya pengembangan sabun, tidak hanya sebagai pembersih kulit, namun juga sebagai penghantar obat dalam rangka menjaga kesehatan kulit (Coiffard & Couteau, 2020).

Beberapa produk sabun saat ini memberikan solusi untuk permasalahan tersebut. antioksidan dan antibakteri sintetik dapat mengalami absorpsi ke dalam tubuh melalui kulit yang mampu mengganggu sistem endokrin dan bersifat toksik bagi sel tubuh (MacIsaac dkk., 2014; Fang dkk., 2016; Pateis dkk., 2018; Abd-Elhakim dkk., 2020). Salah satu solusi dalam menghadapi masalah tersebut dengan menggunakan senyawa antioksidan dan antibakteri alami sebagai pengganti bahan aktif sintetik dalam sabun.

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan bahan aktif ialah alpukat. Berdasarkan data produksi buah-buahan dan sayuran tahunan yang dibuat oleh BPS Provinsi Sulawesi Utara (2021), buah alpukat menjadi komoditas terbesar ketiga di Sulawesi Utara. Jumlah produksi buah alpukat pada tahun 2019 di Sulawesi Utara mencapai 4.017.000-kilogram, lalu mengalami kenaikan di tahun 2021 mencapai 8.737.700-kilogram. Pemanfaatan buah alpukat hanya berfokus terhadap daging buah sedangkan biji buah dijadikan sebagai limbah. Berdasarkan penelusuran literatur yang dilakukan, biji alpukat mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang memiliki bioaktivitas seperti antioksidan dan antibakteri yang telah diteliti (Soong & Barlow, 2004; Malanggi dkk., 2012; Dennis dkk., 2017; Ekom dkk., 2022). Keunggulan yang dimiliki biji alpukat ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan dan antibakteri alami dalam sabun. Dari uraian tersebut, peneliti bertujuan untuk membuat dan menganalisis sabun mandi padat transparan berbahan dasar VCO yang kemudian ditambahkan ekstrak biji alpukat yang diyakini berperan sebagai antioksidan terhadap sabun dan efek antibakteri terhadap kulit pengguna sabun.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah biji buah alpukat yang diperoleh dari *outlet* minuman alpukat di Kota Manado dan *virgin coconut oil (VCO)* diperoleh dari pasar local di Manado. Bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *nutrient agar* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi FMIPA Unsrat. Bahan kimia meliputi etanol, fenoltalein, *methyl orange*, kalium kromat, kalium hidroksida, larutan buffer, magnesium nitrat, natrium klorida, natrium hidroksida, petroleum eter, perak nitrat diperoleh dari E. Merck (Darmstadt) sedangkan 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) diperoleh dari Sigma-Aldrich.

Preparasi sampel biji alpukat

Biji alpukat dicuci bersih di bawah air mengalir. Kemudian kulit biji alpukat dikupas, lalu daging biji alpukat dicuci. Biji alpukat yang telah bersih dipotong-potong tipis lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60 °C selama 2-3 jam. Biji alpukat yang telah kering dihancurkan dengan menggunakan blender lalu diayak dengan ayakan berukuran 60 mesh hingga menjadi serbuk halus. Serbuk biji alpukat disimpan dalam wadah kedap udara.

Ekstraksi biji alpukat

Sebanyak 200 g serbuk biji alpukat diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL selama 24 jam. Setelah 24 jam, maserat disaring untuk mendapatkan filtrat dan residu. Residu kemudian dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 96% dengan jumlah yang sama lalu disaring. Filtrat dari maserasi pertama dan maserasi kedua digabungkan lalu dievaporasi dengan *rotary*

evaporator kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C sampai diperoleh ekstrak biji alpukat (EBA). Selanjutnya dilakukan perhitungan rendemen ekstrak yang diperoleh.

Pembuatan sabun mandi transparan

Proses pembuatan sabun dimulai dengan memanaskan VCO pada suhu 70 °C, kemudian dicampurkan dengan asam stearat yang telah dicairkan. Setelah homogen, campuran ditambahkan dengan larutan NaOH 30% sambil diaduk. Selanjutnya ditambahkan bahan-bahan pelengkap yaitu etanol, gliserin, larutan gula, asam sitrat, coco-DEA dan natrium klorida (NaCl) sesuai dengan takaran dalam Tabel 1. sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* setiap ± 5 menit. Setelah *trace* terbentuk, dilakukan penambahan EBA sesuai dengan variable yang ditentukan. Larutan diaduk sampai homogen, lalu dimasukkan dalam cetakan sabun. Sabun didiamkan dalam masa *curing* selama 1 bulan.

Pengujian mutu sabun

Prosedur uji mutu sabun untuk parameter kimia dilaksanakan berdasarkan panduan SNI 3532:2021 mengenai syarat mutu sabun padat yang meliputi kadar air, pH, total lemak, bahan tak larut dalam etanol, alkali bebas, asam lemak bebas, kadar klorida dan lemak tidak tersabunkan.

Tabel 1. Formulasi sabun mandi padat VCO dan ekstrak biji alpukat (EBA)

No.	Komposisi	Formula Sabun			
		A	B	C	D
1.	Minyak VCO	60,00	60,00	60,00	60,00
2.	Asam Stearat	22,00	22,00	22,00	22,00
3.	NaOH 30%	60,90	60,90	60,90	60,90
4.	Etanol 96%	51,00	51,00	51,00	51,00
5.	Gliserin	39,00	39,00	39,00	39,00
6.	Gula pasir	51,00	51,00	51,00	51,00
7.	Coco-DEA	4,00	4,00	4,00	4,00
8.	Asam sitrat	0,50	0,50	0,50	0,50
9.	Akuades	11,00	8,00	5,00	2,00
10.	NaCl	0,60	0,60	0,60	0,60
11.	Ekstrak biji alpukat	0,00	3,00	6,00	9,00

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,4 mM dalam etanol. Dari empat sabun yang telah dibuat, dibuat larutan stok masing-masing sabun dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut etanol. Kemudian larutan stok diencerkan dalam 5 seri konsentrasi (100, 200, 300, 400, 500 $\mu\text{g/mL}$). Sebanyak 1,5 mL dari tiap larutan seri konsentrasi formula sabun yang telah diencerkan, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM lalu divortex selama 2 menit. Setelah itu, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit lalu diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai pembanding digunakan sabun antioksidan komersial dengan seri konsentrasi yang sama. Nilai absorbansi digunakan dalam perhitungan persen inhibisi dengan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas penangkal radikal bebas} = \left(1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right) \times 100$$

Nilai IC_{50} (*inhibition concentration*) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear hasil pengukuran yaitu $y = a + bx$, dengan sumbu x adalah konsentrasi larutan uji dan sumbu y adalah

% IC. Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi efektif larutan untuk menghambat aktivitas radikal bebas hingga 50% . Digunakan sabun komersial sebagai pembanding.

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram kertas (Kirby-Bauer)

Sebanyak 2,8 g serbuk *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dalam 100 mL akuades, lalu di homogenkan sampai bahan larut sempurna. Larutan NA dan alat-alat kaca yang akan digunakan dalam pengujian antibakteri dibungkus dengan *aluminium foil*, lalu dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Jarum ose disterilisasi dengan cara dipijarkan di atas pembakar spritus. Bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing disuspensikan ke dalam tabung berisi 10 mL larutan NaCl 0,9% lalu diinkubasi pada suhu 37 °C.

Metode pengujian yang digunakan adalah metode Kirby-Bauer yakni metode difusi dengan cakram kertas. Setiap cakram kertas steril dipindahkan ke setiap konsentrasi larutan keempat sabun (sabun A, B, C, D) dengan setiap variasi konsentrasi (100, 200, 300, 400, 500 ppm), aquades dan larutan sabun komersial lalu direndam ± 1 menit. Cakram kertas yang telah direndam, dipindahkan ke medium NA yang berisi *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Cawan petri tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 1 x 24 jam. Pengamatan diameter zona hambat dilakukan setelah masa inkubasi. Zona bening atau daya hambat dari diameter formula sabun diukur dalam satuan milimeter (mm). Ukuran diameter menunjukkan kekuatan antibakteri. Penggolongan kekuatan antibakteri dari daya hambat terbagi menjadi lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (11-20 mm) dan sangat kuat (> 20 mm) sesuai penggolongan oleh Davis & Stout (1971).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi biji alpukat

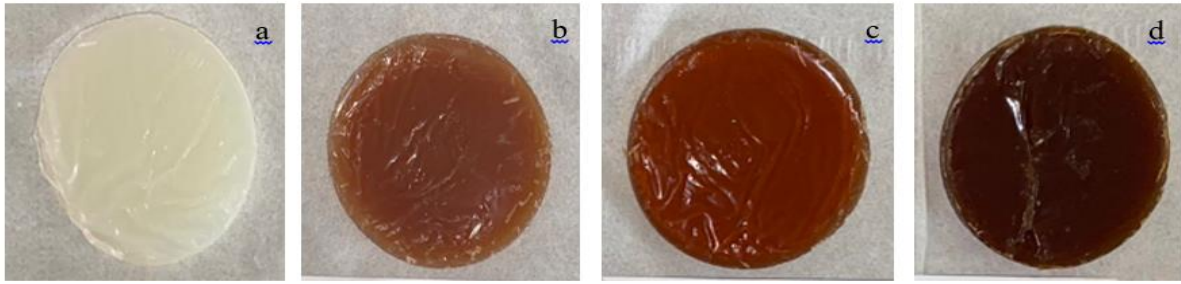
Sampel yang digunakan adalah biji alpukat. Biji alpukat dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C, untuk menginaktivasi enzim sehingga tidak terjadi reaksi *browning* pada sampel. Biji alpukat kering dihancurkan agar biji alpukat memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dengan luas permukaan yang besar (Alief & Manalu, 2020) sehingga mempermudah larutan penyari untuk menarik senyawa dari sampel dalam proses ekstraksi (Prasetyo & Yosephine, 2012). Serbuk biji alpukat di ayak dengan ayakan 60 mesh untuk menyeragamkan ukuran serbuk biji alpukat sehingga serbuk dapat larut secara merata dan lebih efektif (Azzhara dkk., 2022).

Ekstraksi biji alpukat

Maserasi memiliki salah satu keuntungan yaitu prosedur yang digunakan sangat sederhana serta tidak memerlukan proses pemanasan (Susanty & Bachmid, 2016). Selama proses maserasi, dilakukan pengadukan secara manual untuk meningkatkan perpindahan zat aktif secara maksimal. Filtrat hasil ekstraksi biji alpukat diuapkan sesuai titik didih pelarut etnaol untuk menghilangkan pelarut. Berat ekstrak yang diperoleh ialah 25,79 g dari berat serbuk biji alpukat yang dimaserasi ialah 200 g. Presentase rendemen ekstrak yang diperoleh adalah 12,90%. Perhitungan rendemen bertujuan untuk mengetahui efektivitas proses ekstraksi dan pelarut dalam menyari senyawa yang terdapat dalam jumlah serbuk biji alpukat (Azzhara dkk., 2022).

Sabun mandi transparan ekstrak biji alpukat

Gambar 1. menunjukkan wujud sabun transparan dengan variasi konsentrasi ekstrak biji alpukat. Sabun transparan terbuat dari bahan utama dan bahan pelengkap. Bahan utama meliputi VCO, asam stearat dan larutan NaOH sebagai pembuat stok sabun (*trace*). Bahan pelengkap berguna untuk meningkatkan transparansi dan kelembutan sabun. Selanjutnya ditambahkan ekstrak biji alpukat pada larutan sabun. Variasi penambahan ekstrak biji alpukat (EBA) berturut-turut ialah 3-gram, 6-gram, dan 9-gram. Penambahan ekstrak memberikan warna alami terhadap sabun namun dengan intensitas yang berbeda pada tiap variasi jumlah EBA yang ditambahkan.



Gambar 1. (a) Sabun tanpa ekstrak biji alpukat, (b) Sabun dengan konsentrasi ekstrak biji alpukat dalam sabun sebanyak 1%, (c) Sabun dengan konsentrasi ekstrak biji alpukat dalam sabun sebanyak 2%, (d) Sabun konsentrasi ekstrak biji alpukat dalam sabun sebanyak 3%.

Hasil pengujian mutu sabun berdasarkan SNI 3532:2021

Tabel 2. Kualitas Sabun Mandi Berdasarkan Mutu SNI 3532:2021

No.	Parameter Uji	Persyaratan Mutu	Sabun			
			A	B	C	D
1.	Kadar Air	Maks. 23	18,10±0,25 ^a	17,14±0,47 ^a	16,95±0,67 ^a	15,61±0,70 ^b
2.	pH	6,0-11,0	9,70±0,01 ^b	9,48±0,04 ^a	9,54±0,03 ^a	9,79±0,04 ^c
3.	Total lemak	Min. 60,0	30,45±0,08 ^a	37,90±0,20 ^b	44,88±0,18 ^b	48,02±0,32 ^b
4.	Bahan tak larut dalam etanol	Maks. 10,0	1,35±0,43 ^a	1,25±0,18 ^a	1,26±0,03 ^a	1,95±0,10 ^b
5.	Alkali bebas	Maks. 0,1	-	-	-	-
6.	Asam lemak bebas	Maks. 2,5	0,36±0,03 ^a	0,69±0,04 ^b	1,29±0,02 ^c	1,47±0,05 ^d
7.	Kadar klorida	Maks. 1,0	1,38±0,07 ^a	4,71±0,04 ^b	6,39±0,02 ^c	8,82±0,08 ^d
8.	Lemak tidak tersabunkan	Maks. 0,5	2,26±0,08 ^d	1,65±0,08 ^c	1,14±0,08 ^b	0,40±0,08 ^a

Hasil pengujian mutu sabun dilampirkan pada Tabel 2. Kadar air sabun mempengaruhi tekstur dan waktu penyimpanan dari sabun dalam jangka waktu tertentu. Kadar air yang tinggi menandakan bahwa sabun memiliki tekstur yang lunak dan mudah hancur ketika digunakan di bawah air mengalir sehingga penggunaannya tidak bertahan lama (Fanani dkk., 2020). Pada penelitian ini, kadar air dari keempat sabun (A, B, C, D) memenuhi syarat SNI 3532:2021. Kadar air yang tidak lebih dari 23 % sesuai dengan tekstur sabun yang keras dan tidak mudah larut dalam air. Perbedaan kadar air antara sabun dapat disebabkan oleh adanya perbedaan jumlah air yang ditambahkan dalam proses pembuatan sabun.

Nilai pH semua formula sabun mandi memenuhi SNI 3532:2021. Nilai pH sabun formula A, B, C dan D menunjukkan pH yang relatif basa, yang disebabkan oleh larutan NaOH merupakan basa kuat yang mampu mempengaruhi nilai pH dari sabun. Menurut Hernani dkk. (2010), pH sabun yang bersifat basa dapat membantu kulit untuk membuka pori-porinya sehingga busa sabun mengikat kotoran yang menempel pada kulit. Namun, pH yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kulit menjadi kering, sedangkan pH yang terlalu rendah dapat menyebabkan iritasi terhadap kulit (Fanani dkk., 2021).

Total asam lemak adalah jumlah seluruh asam lemak pada sabun yang telah bereaksi dengan alkali dan belum bereaksi dengan alkali. Asam lemak yang terkandung berasal dari bahan baku VCO yang digunakan. Jumlah total lemak yang dihasilkan dari setiap sabun formula A, B, C dan D tidak memenuhi persyaratan SNI 3532:2021 yaitu minimal 60%. Total lemak dalam sabun formula B, C dan

D meningkat dalam setiap penambahan EBA. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Dewi dkk. (2022), biji alpukat mengandung asam lemak sebesar 0,5% sehingga jumlah total lemak meningkat dengan adanya penambahan ekstrak.

Kelarutan sabun dalam etanol menunjukkan bahwa sabun dan etanol memiliki polaritas yang sama. Bahan pembuatan sabun seperti minyak dan lemak sedikit larut dalam etanol, sehingga perlu dilakukan pemanasan dalam melarutkan keseluruhan sabun. Bahan tak larut dalam etanol pada sabun meliputi garam alkali seperti karbonat, silikat, fosfat, sulfat dan pati (Hambali dkk., 2005). Kadar bahan tak larut dalam etanol pada sabun D sangat tinggi jika dibandingkan dengan sabun lain. Adanya bahan tak larut dalam etanol dapat disebabkan oleh bahan tambahan seperti EBA yang tidak tercampur dengan maksimal dalam sabun. Semakin banyak bagian yang tak larut dalam etanol, maka semakin sedikit stok sabun yang terdapat dalam sabun transparan (Supraptiah dkk., 2021).

Deteksi alkali bebas dan asam lemak bebas dilakukan dengan menambahkan indikator fenoltalein pada sabun yang telah dilarutkan dalam etanol. Jika larutan berwarna merah muda, maka larutan tersebut mengandung alkali bebas berlebih. Namun jika larutan tidak berwarna, maka larutan mengandung asam lemak bebas berlebih. Berdasarkan SNI 3532:2021, syarat mutu kadar alkali bebas dan asam lemak bebas adalah sebesar 2,5%. Pada penelitian ini, sabun formula A, B, C dan D tidak mengandung alkali bebas berlebih, namun memiliki asam lemak bebas yang berlebih. Kadar asam lemak bebas dari sabun meningkat seiring dengan penambahan EBA. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya asam lemak dari biji alpukat yang tertarik selama proses ekstraksi akibat gaya dipol-dipol induksian (Pangisian dkk., 2022).

Sabun padat mengandung kadar klorida karena sabun merupakan garam asam lemak yang berasal dari minyak nabati atau lemak hewani (Ningrum dkk., 2021). Berdasarkan SNI 3532:2021, syarat mutu kadar klorida dalam sabun adalah sebesar 1%. Sabun dengan penambahan ekstrak biji alpukat tidak memenuhi parameter kadar klorida.

Lemak tak tersabunkan meliputi seluruh lemak dalam sabun yang tidak mengalami reaksi dengan alkali (Ningrum dkk., 2021). Zat-zat yang tidak tersabunkan biasanya berupa sterol dan hidrokarbon (Fanani dkk., 2020). Jumlah lemak tak tersabunkan yang meningkat dapat menurunkan efektivitas sabun yang disebabkan oleh busa yang dihasilkan sedikit (Hambali dkk., 2005). Sabun formula D memenuhi kriteria kadar lemak tak tersabunkan. Kadar lemak tak tersabunkan pada sabun A, B dan C tidak memenuhi SNI.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Prinsip dari metode uji ini ialah senyawa antioksidan mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH sehingga menjadi senyawa non-radikal dan berubah warna menjadi kuning (Molyneux, 2004). Nilai absorbansi hasil pengujian digunakan untuk menghitung persentase inhibisi radikal bebas oleh sampel uji. Semakin kecil nilai absorbansi, maka persentase inhibisi senyawa juga semakin tinggi. Hasil pengujian aktivitas penangkapan radikal bebas terhadap formulasi sabun dan sabun komersial dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase inhibisi radikal bebas sabun formula (A, B, C, D) dan sabun komersial (SK)

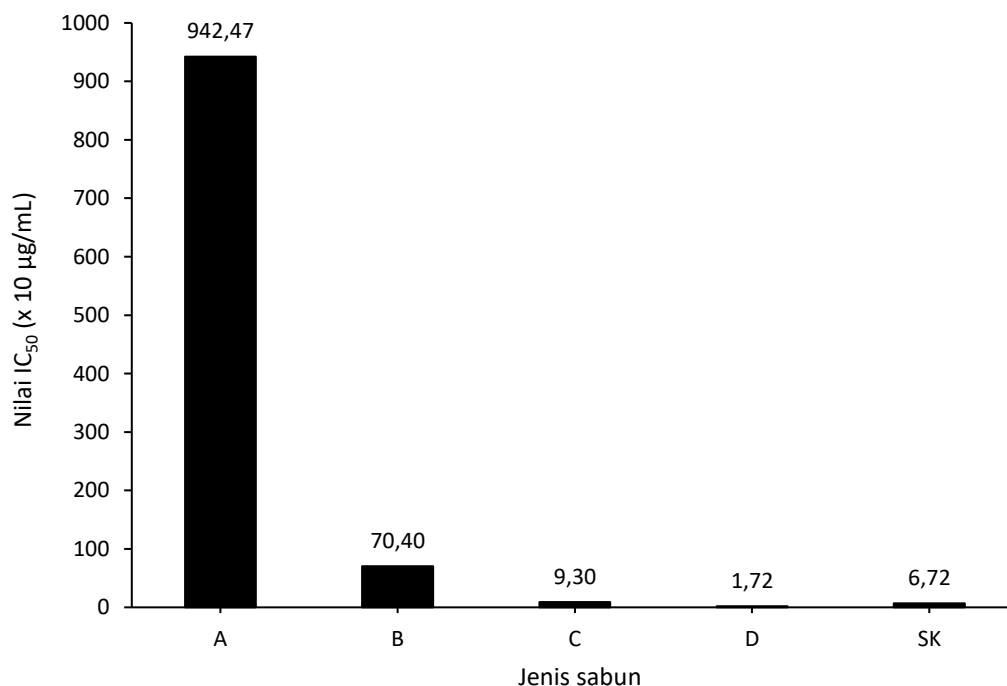
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Sabun				
	A	B	C	D	SK
100	37,00 ^w	46,91 ^r	50,35 ^m	54,51 ^s	53,01 ⁱ
200	38,85 ^v	47,88 ^q	51,04 ^l	55,59 ^f	53,94 ^h
300	40,09 ^u	48,46 ^p	51,85 ^k	56,91 ^e	57,41 ^d
400	40,74 ^t	49,04 ^o	52,43 ^j	57,56 ^d	57,87 ^c
500	41,74 ^s	49,61 ⁿ	53,20 ⁱ	58,45 ^b	61,61 ^a

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang angka menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dalam Tabel 3., terdapat perbedaan antara sabun tanpa penambahan EBA dan sabun dengan penambahan EBA. Aktivitas penangkal radikal bebas sabun formula meningkat seiring bertambahnya konsentrasi sampel yang diuji. Hasil analisis untuk sabun A menunjukkan adanya aktivitas penangkal radikal bebas di bawah 50%. Hal ini berarti bahwa sabun A memiliki aktivitas penangkal radikal bebas yang rendah. Kemampuan penangkalan radikal bebas dari sabun A dapat disebabkan oleh adanya senyawa α -tokoferol sebagai antioksidan alami dari VCO (Anwar, 2011).

Pada sabun B, sabun C dan sabun D, penambahan EBA memberikan pengaruh signifikan pada peningkatan nilai persentase inhibisi terhadap radikal bebas. Menurut Parinding dkk. (2021), biji alpukat memiliki kandungan total fenolik terikat dan bebas yang tinggi dengan aktivitas penangkal radikal bebas yang kuat. Aktivitas penangkal radikal bebas dalam sabun formula B, C dan D yang ditambahkan EBA menunjukkan aktivitas lebih rendah jika dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya (Parinding dkk., 2021; Malangngi dkk., 2012; Suhaenah dkk., 2019). Hal tersebut mungkin dapat disebabkan campuran zat yang berikatan dalam sabun, sehingga mengurangi aktivitas antioksidan yang diharapkan dari EBA.

Dari data persentase inhibisi yang diperoleh, maka dapat ditentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin efektif kinerja sampel dalam menghambat radikal bebas dan menandakan antioksidan bersifat sangat kuat. Nilai IC_{50} dari setiap formula sabun disajikan dalam Gambar 2. Berdasarkan data yang disajikan dalam gambar 2., sabun dengan penambahan EBA terbanyak menunjukkan bahwa adanya aktivitas antioksidan dalam sabun yang sangat kuat.



Gambar 2. Nilai IC_{50} sabun uji

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram kertas

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada sabun formula A, B, C dan D serta sebagai pembanding ialah sabun antiseptik komersial. Penggolongan kekuatan aktivitas antibakteri suatu sampel ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat berwarna bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Zona bening menandakan adanya aktivitas daya hambat sampel uji terhadap pertumbuhan bakteri. Data hasil rata-rata diameter zona hambat pada sabun formula terhadap bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengujian aktivitas antibakteri sabun formula (A,B,C,D) terhadap bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa*

Sampel	Diameter zona hambat per tiap konsentrasi sabun (mm)									
	<i>S.aureus</i>					<i>P.aeruginosa</i>				
	100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm
Sabun A	0,35 ^a	0,84 ^{bcde}	1,08 ^{def}	1,18 ^{ef}	1,55 ^g	0,48 ^{ab}	0,73 ^{ab}	0,33 ^a	1,65 ^{de}	1,76 ^e
Sabun B	0,80 ^{bcd}	1,25 ^{fg}	1,55 ^g	1,90 ^h	2,57 ⁱ	1,88 ^e	2,7 ^{fg}	2,38 ^f	2,93 ^g	3,87 ^h
Sabun C	3,08 ^j	3,29 ^{jk}	3,53 ^k	3,95 ^l	4,78 ^m	5,72 ⁱ	5,99 ⁱ	6,05 ⁱ	6,18 ⁱ	7,28 ^j
Sabun D	4,60 ^m	5,27 ⁿ	5,58 ⁿ	5,93 ^o	6,03 ^o	7,45 ^{jk}	7,49 ^{jk}	7,82 ^k	8,40 ^l	9,17 ^m
Kontrol (+)	0,56 ^{ab}	0,62 ^{abc}	0,79 ^{bc}	0,93 ^{cdef}	1,13 ^{def}	0,27 ^a	0,47 ^{ab}	0,85 ^{bc}	1,20 ^{cd}	1,45 ^{de}
Kontrol (-)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Pada sabun formula A, kemampuan menghambat bakteri yang dimiliki lebih tinggi daripada sabun komersial dengan konsentrasi yang sama. Pada sabun formula B, kemampuan penghambatan bakteri meningkat dengan konsentrasi 500 ppm sabun formula B memiliki diameter hambat sebesar 2,57 mm. Penambahan EBA pada sabun formula C dan D juga menunjukkan adanya peningkatan terhadap zona hambat bakteri *S.aureus* berturut-turut sebesar 4,78 mm dan 6,03 pada konsentrasi yang sama yaitu 500 ppm. Diameter hambat yang dibentuk lebih kuat jika dibandingkan dengan sabun komersial.

Berdasarkan penggolongan kekuatan antibakteri dari daya hambat oleh Davis & Stout (1971), zona hambat sabun formula A, B dan C tergolong lemah, sedangkan untuk formula D tergolong sedang. Daya hambat setiap konsentrasi pada formula A, B dan C tergolong lemah. Pada sabun formula D, daya hambat yang terbentuk masuk dalam kategori sedang untuk konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm.

Pengujian sabun formula terhadap bakteri *P.aeruginosa* juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada setiap variasi konsentrasi. Jika dibandingkan dengan pengujian terhadap *S.aureus*, zona hambat yang terbentuk pada *P.aeruginosa* lebih besar. Aktivitas antibakteri yang meningkat pada sabun dengan tambahan EBA dapat disebabkan oleh senyawa-senyawa metabolit sekunder di dalamnya berupa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid (Marlinda, 2012). Menurut Cowman (2002), senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri yang berasal dari kemampuan senyawa ini untuk bereaksi secara ekstraseluler dengan protein terlarut, yang membentuk struktur kompleks dengan membran sel. Tanin memiliki kemampuan untuk menembus membran sel suatu bakteri lalu menghambat aktivitas metabolisme bakteri (Kaczmarek, 2020). Pada sabun formula A juga terdapat aktivitas antibakteri. Adanya zona hambat ini dapat disebabkan oleh penggunaan *Virgin Coconut Oil* (VCO) dalam basis sabun. VCO mengandung asam laurat berkisar 50-70% yang memiliki sifat antibakteri. Peningkatan aktivitas zona hambat dari sabun dengan adanya penambahan EBA menunjukkan bahwa penggunaan VCO sebagai basis sabun dan penambahan EBA memberikan kombinasi yang baik sebagai antibakteri.

KESIMPULAN

Hasil penelitian, menyimpulkan bahwa sabun yang dihasilkan dengan penambahan ekstrak biji alpukat tidak memenuhi SNI 3532:2021 untuk parameter total lemak dan kadar klorida. Aktivitas antioksidan dari sabun dengan penambahan ekstrak biji alpukat memiliki nilai IC_{50} sebesar 17,17 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong sangat kuat. Aktivitas antibakteri dari sabun dengan penambahan ekstrak biji alpukat memberikan hasil zona hambat yang tergolong sedang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Elhakim, Y.M., Hashem, M.M.M., Abo-El-Sooud, K., Ali, H.A., Anwar, A., El-Metwally, A.E., Mahmoud, E.A., & Moustafa, G.G. 2020. Involvement tumor necrosis factor- α , interferon gamma- γ , and interleukins 1 β , 6 and 10 in immunosuppression due to long-term exposure to five common food preservatives in rats. *Gene*, 742(144590), 1-10.
- Alief, C.M., & Manalu, J.L. 2020. Perbandingan efektivitas dosis ekstrak biji alpukat yang diproses dengan milling terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus. *Damianus Journal of Medicine*, 19(1), 13-19.
- BPS Provinsi Sulawesi Utara. 2021. *Provinsi Sulawesi Utara Dalam Angka 2021*. Manado: Badan Pusat Statistik.
- Coiffard, L., & Couteau, C. 2020. Soap and Syndets: differences and analogies, sources confusion. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(21), 11432-11439.
- Cowman, M.M. 2002. Plant products as anti-microbial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- Davis, W.W., & Stout, T.R. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*, 22(4), 659-665.
- Dennis, Nurliza, C., & Savitri, W. 2017. Antibacterial effect of ethanol extract of the avocado seed (*Persea Americana* Mill.) as an alternative root canal irrigants against *Porphyromonas gingivalis* (in vitro). *International Journal of Applied Dental Sciences*, 3(1), 89-93.
- Dewi, L.S., Masrullita, Azhari, Dewi, R., & Hakim, L. 2022. Karakteristik minyak dari biji alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode ekstraksi dengan pelarut n-heksana. *Chemical Engineering Journal Storage*, 2(4), 27-37.
- Ekom, S.E., Tamokou, J.D.D., & Kuete, V. 2022. Methanol extract from the seeds of *Persea americana* displays antibacterial and wound healing activities in rat model. *Journal of Ethnopharmacology*, 282(1), 1-14.
- Fanani, Z., Pangan, A.T., & Apriyani, N. 2020. Uji kualitas sabun padat transparan dari minyak kelapa dan minyak kelapa sawit dengan antioksidan ekstrak likopen buah tomat. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(3), 108-118.
- Fanani, Z., Rosvita, V., Aisah, N., Pamungkas, N.D., & Fadillah, I. 2021. Formulasi sediaan sabun mandi padat dengan zat aktif ekstrak kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(2), 21-26.
- Hambali, E., Bunasor, T.K., Suryani, A., & Kusumah, G.A. 2005. Aplikasi dietanolamida dari asam laurat minyak inti sawit pada pembuatan sabun transparan. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 15(2), 46-53.
- Hernani, Bunasor, T.K., & Fitriati. 2010. Formula sabun transparan antijamur dengan bahan aktif ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga* L.Swartz). *BULLITTRO*, 21(2), 192-205.
- Kaczmarek, B. 2020. Tannic Acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials – A minireview. *Materials*, 13(14), 3224-3236.
- Kailaku, I.S. 2011. Teknologi pengolahan sabun transparan skala rumah tangga. *Jurnal Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian Indonesia*, 33(5), 14-16.
- MacIsaac, J.K., Gerona, R.R., Blanc, P.D., Apatira, L., Friesen, M.W., Coppolino, M., & Janssen, S. 2014. Health care worker exposures to the antibacterial agent triclosan. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 56(8), 834-839.
- Malanggi, L., Sangi, M.S., & Paendong, J.J.E. 2012. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 1(1), 5-10.
- Marlinda, M., Sangi, M.S., & Wuntu, A.D. 2012. Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 1(1), 24 – 28.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology*, 26(2), 211-219.
- Momuat, L.I., & Wuntu, A.D. 2017. Produksi sabun mandi transparan berbahan baku vco mengandung karotenoid tomat. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(2), 169-175.

- Ningrum, D.K., Wiyono, A.E., & Amilia, W. 2021. Evaluasi mutu sabun padat dengan penambahan variasi ekstrak etanol tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). *EnviroScienteeae*, 17(2), 48-56.
- Pangisian, J., Sangi, M.S., & Kumaunang, M. 2022. Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan serta antibakteri biji buah pangi (*Pangium edule* Reinw). *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 7(1), 11-19.
- Pateis, V.de-O., Bracht, L., Castro, L.dos-S., Salla, G.B.F., Comar, J.F., Parisotto, A.V., Peralta, R.M., & Bracht, A. 2018. The food additive bha modifies energy metabolism in the perfused rat liver. *Toxicology Letters*, 299, 191-200.
- Prasetyo, S., & Yosephine, F. 2012. Model perpindahan massa pada ekstraksi saponin biji teh dengan pelarut isopropil alkohol 50% dengan pengontakan secara dispersi menggunakan analisis dimensi. *Reaktor Chemical Engineering Journal*, 14(2), 87-94.
- Soong, Y.Y., & Barlow, P.J. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry*, 88(3), 411-417.
- Supraptiah, E., Fathiah, A., Silviyati, I., Jaksen, J., Ningsih, A.S., Lestari, T., Salsabila, H., & Lissri, I. 2021. Utilization of green betel leaves (*Piper betle* L.) extract as an additive material on paper soap production. *Atlantis Highlights in Engineering*, 9(1), 431-436.
- Widyasanti, A., & Rohani, J.M. 2017. Pembuatan sabun padat transparan berbasis minyak zaitun dengan penambahan ekstrak teh putih. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 20(1), 13-29.