

Formulasi deodoran *spray* ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus epidermidis*

Mutmainnah Siradjuddin^{1*}, Melani², Nurmala Sari²

¹Program Studi S1 Farmasi Klinis dan Komunitas

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Widya Dharma Husada

Jl. Pajajaran No.1, Pamulang Bar, Tangerang Selatan, Banten, Indonesia. 15417

²Program Studi S1 Farmasi

Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky

Jl. Antang Raya, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia. 90234

*E-mail: mutmainnahsiradjuddin@gmail.com

Abstrak: Bau badan terbentuk ketika mikrobiota kulit memetabolisme prekursor tidak berbau dalam keringat menjadi senyawa volatil, salah satunya melalui aktivitas *Staphylococcus epidermidis*. Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan limbah perkebunan yang mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid sehingga berpotensi sebagai bahan aktif antibakteri alami. Penelitian ini bertujuan memformulasikan ekstrak etanol kulit buah kakao dalam sediaan deodoran *spray* serta mengevaluasi stabilitas fisik dan aktivitas antibakterinya terhadap *S. epidermidis*. Penelitian bersifat eksperimental laboratorium. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan etanol 96%, kemudian ekstrak diformulasikan menjadi deodoran *spray* pada konsentrasi 5% (F1), 10% (F2), dan 15% (F3). Evaluasi meliputi organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, efek terhadap kain, waktu kering, dan *cycling test* enam siklus. Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi cakram. Rendemen ekstrak sebesar 14,80%. Seluruh formula tetap homogen dan tidak berubah secara organoleptik setelah *cycling test*, dengan pH 5,07–5,69 dan daya sebar 5,2–6,7 cm yang seluruhnya memenuhi persyaratan. Diameter zona hambat berturut-turut $15,63 \pm 0,25$ mm (F1), $16,87 \pm 0,21$ mm (F2), dan $18,30 \pm 0,52$ mm (F3), sedangkan kontrol positif deodoran komersial menghasilkan $18,73 \pm 0,06$ mm. Analisis *One-Way* ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($F(3,8) = 63,08$; $p < 0,001$), dan uji lanjut Tukey HSD memastikan seluruh pasangan formula berbeda bermakna kecuali F3 terhadap kontrol positif ($p = 0,373$). Formula F3 dengan konsentrasi ekstrak 15% memberikan aktivitas antibakteri tertinggi dan secara statistik tidak berbeda dari kontrol positif. Hasil ini menunjukkan bahwa limbah kulit buah kakao berpotensi divalorisasi menjadi bahan aktif alami pada sediaan deodoran *spray*, meskipun masih memerlukan penentuan kadar hambat minimum, uji iritasi, dan uji stabilitas jangka panjang sebelum dapat direkomendasikan lebih luas.

Kata Kunci: antibakteri, deodoran *spray*, kulit buah kakao, *Staphylococcus epidermidis*, *Theobroma cacao*

Abstract: Body odor develops when skin microbiota metabolize odorless sweat precursors into volatile compounds, partly through the activity of *Staphylococcus epidermidis*. Cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) is an agricultural by-product containing flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids with potential as a natural antibacterial agent. This study aimed to formulate cocoa pod husk ethanol extract into a deodorant spray and to evaluate its physical stability and antibacterial activity against *S. epidermidis*. Cocoa pod husk was extracted by repeated maceration using 96% ethanol and formulated into deodorant sprays at 5% (F1), 10% (F2), and 15% (F3). Preparations were evaluated for organoleptic properties, homogeneity, pH, viscosity, spreadability, fabric effect, drying time, and a six-cycle cycling test. Antibacterial activity was assessed by disc diffusion. The extract yield was 14.80%. All formulas remained homogeneous and organoleptically unchanged after cycling, with pH 5.07–5.69 and spreadability 5.2–6.7 cm, all within acceptance limits. Inhibition zones were 15.63 ± 0.25 mm (F1), 16.87 ± 0.21 mm (F2), and 18.30 ± 0.52 mm (F3), while the commercial positive control produced 18.73 ± 0.06 mm. One-way ANOVA showed a significant difference among groups ($F(3,8) = 63.08$; $p < 0.001$), and Tukey HSD confirmed

that all pairs differed significantly except F3 versus the positive control ($p = 0.373$). F3 gave the highest antibacterial activity and was statistically indistinguishable from the positive control, indicating that cocoa pod husk waste may be valorized as a natural active ingredient in deodorant sprays, pending minimum inhibitory concentration, irritation, and long-term stability testing.

Keywords: antibacterial, cocoa pod husk, deodorant spray, *Staphylococcus epidermidis*, *Theobroma cacao*

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis memiliki suhu dan kelembaban yang relatif tinggi sehingga produksi keringat menjadi hal yang umum terjadi. Keringat yang baru disekresikan pada dasarnya tidak berbau; bau badan baru terbentuk ketika mikrobiota kulit memetabolisme prekursor tidak berbau dalam sekresi kelenjar apokrin, ektrin, dan sebacea menjadi molekul volatil (James et al., 2013). Kondisi ini dikenal secara klinis sebagai bromhidrosis dan dapat mengganggu kenyamanan, kebersihan diri, serta rasa percaya diri dalam aktivitas sehari-hari (Anggy et al., 2024).

Mikrobiota daerah aksila didominasi bakteri Gram-positif dari genus *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, dan *Cutibacterium* (James et al., 2013; Troccaz et al., 2015). Bukti yang tersedia menempatkan genus *Corynebacterium* sebagai penyumbang utama bau aksila melalui pelepasan asam 3-metil-2-heksenoat dari prekursor terkonjugasi glutamin. Meskipun demikian, *S. epidermidis* turut berperan melalui jalur yang telah dikarakterisasi secara metabolomik, yaitu konversi L-laktat menjadi diasetil — senyawa kunci penyumbang bau tidak sedap pada aksila, kaki, dan kepala (Hara et al., 2014) — serta degradasi leusin menjadi asam isovalerat. Bakteri ini juga merupakan flora normal kulit yang mudah diisolasi dan distandarisasi, sehingga lazim dipakai sebagai model bakteri uji pada pengembangan sediaan deodoran berbahan alam (Oktaviana et al., 2019; Huzaemah et al., 2024).

Deodoran *spray* merupakan bentuk sediaan yang banyak digunakan karena praktis, higienis, dan tidak memerlukan kontak langsung antara wadah dengan kulit. Bentuk *spray* mudah diaplikasikan, cepat kering, tidak lengket, serta dapat diarahkan pada area tubuh tertentu (Oktaviana et al., 2019; Maelaningsih et al., 2024). Deodoran komersial umumnya mengandalkan antibakteri sintetik, sehingga pengembangan bahan aktif alternatif berbasis bahan alam menjadi relevan, baik dari sisi penerimaan konsumen maupun dari sisi keberlanjutan bahan baku.

Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan limbah perkebunan yang jumlahnya sangat besar; setiap ton biji kakao kering yang diproduksi menyisakan sekitar sepuluh ton kulit buah, sehingga menjadi beban lingkungan bila tidak dimanfaatkan (Yahya et al., 2021). Limbah ini kaya senyawa fenolik. Yahya et al. (2021) melaporkan kandungan fenolik total ekstrak kulit buah kakao pada rentang 47,44–570,44 mg GAE/g dan flavonoid total 1,96–4,34 mg QE/g, bergantung fraksi pelarut. Kajian Sukatik et al. (2020) juga mengidentifikasi keberadaan senyawa aktif golongan flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid pada kulit buah kakao. Pemanfaatannya sebagai bahan aktif deodoran *spray* karenanya menggabungkan dua sasaran sekaligus: pengembangan produk berbasis bahan alam dan valorisasi limbah perkebunan.

Sejumlah penelitian telah membuktikan aktivitas antibakteri kulit buah kakao terhadap bakteri kulit, meskipun dengan sistem uji yang berbeda-beda. Lestari & Asri (2021) melaporkan bahwa ekstrak kulit buah kakao mampu menghambat pertumbuhan *S. epidermidis*. Temuan serupa diperoleh oleh Fortunanta et al. (2023), yang menunjukkan

aktivitas penghambatan pada ekstrak etanol serta fraksi n-heksana, etil asetat, dan air terhadap *S. epidermidis* ATCC 12228 dengan metode difusi dan dilusi. Madiha (2021) telah memformulasikan ekstrak etanol kulit buah kakao ke dalam sediaan gel dan menguji aktivitasnya terhadap *Propionibacterium acnes* dan *S. epidermidis*, sementara Rahayu et al. (2023) menunjukkan hambatan bermakna gel ekstrak etanol kulit buah kakao pada konsentrasi 80–320 mg/mL terhadap *S. aureus*. Namun demikian, seluruh penelitian tersebut menguji ekstrak dalam bentuk larutan atau gel. Belum ada laporan yang memformulasikan ekstrak kulit buah kakao ke dalam sediaan deodoran *spray* sekaligus mengevaluasi stabilitas fisiknya, padahal basis *spray* memiliki karakteristik pelarut, viskositas, dan mekanisme aplikasi yang berbeda dari gel sehingga perilaku pelepasan dan stabilitas senyawa aktifnya tidak dapat diasumsikan setara. Celah inilah yang menjadi dasar penelitian ini.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan memformulasikan ekstrak etanol kulit buah kakao dalam sediaan deodoran *spray* serta mengevaluasi stabilitas fisik dan aktivitas antibakterinya terhadap *S. epidermidis*. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan tiga kontribusi. Secara ilmiah, penelitian ini melengkapi data stabilitas fisik dan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao dalam bentuk sediaan *spray* yang belum tersedia dalam literatur. Secara praktis, hasilnya menyediakan dasar formulasi bagi pengembangan produk perawatan tubuh berbahan aktif alami. Secara ekonomi dan lingkungan, pemanfaatan kulit buah kakao membuka peluang peningkatan nilai tambah limbah perkebunan kakao yang selama ini belum dikelola optimal.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilaksanakan pada April hingga Juli 2025 di Laboratorium Fitokimia, Laboratorium Teknologi Sediaan Cair dan Semi Solid, serta Laboratorium Mikrobiologi Universitas Megarezky, Makassar.

Alat yang digunakan meliputi blender (Waring One, Amerika Serikat), oven (Bone, Tiongkok), pH meter (Xing Wei Qiang, Tiongkok), viskometer Brookfield, timbangan analitik (Ohaus, Amerika Serikat), *rotary evaporator*, autoklaf, inkubator, serta peralatan gelas (Pyrex, Jerman dan Iwaki, Jepang). Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm. Bahan yang digunakan adalah kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) jenis forastero, etanol 96%, akuades, propilen glikol, propil paraben, pewangi lavender, medium *Nutrient Agar* (NA), NaCl 0,9%, kertas cakram, kultur *S. epidermidis* ATCC 12228, serta kontrol positif berupa *deodoran spray* komersial merek Odorex.

Penyiapan dan Ekstraksi Sampel

Kulit buah kakao diperoleh dari Kelurahan Tabone, Kecamatan Sumarorong, Kabupaten Mamasa, Sulawesi Barat, pada pukul 09.00 WITA, dipilih dari buah matang berwarna kekuningan yang tidak rusak maupun busuk. Sampel dicuci dengan air mengalir, dipotong tipis, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C hingga mudah dipatahkan. Simplisia disortasi, dihaluskan, ditimbang, dan disimpan dalam wadah kedap udara.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi 3 × 24 jam menggunakan etanol 96% dengan perbandingan simplisia : pelarut 1:10. Sebanyak 500 g serbuk simplisia direndam berturut-turut menggunakan 2000 mL, 1500 mL, dan 1500 mL pelarut, disimpan terlindung dari sinar matahari langsung, dengan pengadukan selama 3–5 menit setiap 6 jam. Filtrat disatukan, disaring ulang, dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*

pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen dihitung sebagai perbandingan bobot ekstrak kental terhadap bobot simplisia kering dikalikan 100%.

Rancangan Formulasi

Rancangan formula sediaan disajikan pada Tabel 1. Ekstrak ditimbang sesuai konsentrasi, dilarutkan dalam sebagian etanol 96%, lalu ditambahkan propilen glikol hingga tercampur rata. Propil paraben yang telah dilarutkan dalam akuades ditambahkan dan diaduk hingga homogen, disusul sisa etanol 96% dan pewangi. Volume dicukupkan dengan aquades hingga 100 mL, diaduk perlahan, kemudian dimasukkan ke dalam botol *spray* tertutup rapat.

Tabel 1. Formulasi deodoran *spray* ekstrak kulit buah kakao

Bahan	Fungsi	K-	F1	F2	F3	Standar Konsentrasi
Ekstrak kulit buah kakao	Zat aktif	0%	5%	10%	15%	-
Etanol 96%	Solven	20%	20%	20%	20%	60–90% (Rowe et al., 2009)
Propilen glikol	Humektan	15%	15%	15%	15%	≈15% (Rowe et al., 2009)
Propil paraben	Pengawet	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%	0,01–0,6% (Rowe et al., 2009)
Lavender	Pewangi	1%	1%	1%	1%	-
Akuades	Pelarut	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	-

Keterangan: K- = basis deodoran *spray* tanpa ekstrak (kontrol negatif); F1, F2, F3 = sediaan dengan konsentrasi ekstrak 5%, 10%, dan 15%. Kontrol positif (K+) berupa deodoran *spray* komersial merek Odorex.

Evaluasi Sediaan

Evaluasi meliputi uji organoleptik (bentuk, warna, bau), homogenitas (penyemprotan pada kaca preparat dan pengamatan visual terhadap gumpalan atau partikel tak larut), pH (50 mL sampel diukur dengan pH meter terkalibrasi), viskositas (viskometer Brookfield, spindel nomor 1, kecepatan 60 rpm), daya sebar (penyemprotan pada kaca objek dari jarak 5 cm lalu diukur diameter penyebarannya), efek terhadap kain (penyemprotan pada kain putih dan pengamatan perubahan warna atau noda), dan waktu kering (aplikasi pada pergelangan tangan lalu dicatat waktu hingga kering). Kriteria penerimaan mengacu pada SNI 16-4951-1998 dan pustaka terkait: pH 3–7 (Hamka et al., 2024), viskositas 12,8–65,8 cps (Kurniawan et al., 2024), daya sebar 5–7 cm (Hidayati et al., 2023), dan waktu kering kurang dari 5 menit (Maelaningsih et al., 2024).

Cycling test dilakukan sebanyak enam siklus selama 12 hari, dengan penyimpanan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam pada setiap siklus, dan pengamatan dilakukan pada hari ke-1 dan hari ke-12 (Maelaningsih et al., 2024). Perlu dicatat bahwa protokol ini hanya menerapkan pemaparan suhu tinggi tanpa fase suhu rendah, sehingga tidak sepenuhnya setara dengan *cycling test* konvensional yang mempertukarkan suhu 4 °C dan 40 °C. Konsekuensi keterbatasan ini dibahas pada bagian Keterbatasan Penelitian.

Uji Aktivitas Antibakteri

Seluruh peralatan gelas disterilkan dalam oven pada suhu 180 °C selama 2 jam, peralatan logam dipijarkan dengan lampu spiritus selama 30 detik, dan peralatan karet maupun plastik disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Medium NA dibuat dengan melarutkan 2,8 g serbuk agar nutrisi dalam 100 mL akuades,

dihomogenkan di atas *hot plate*, lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Wahyuningsih et al., 2021).

Bakteri *S. epidermidis* diremajakan pada medium NA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni hasil peremajaan disuspensikan dalam 3 mL NaCl 0,9% hingga kekeruhannya setara standar 0,5 McFarland (setara $\pm 1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Medium NA steril yang telah didinginkan hingga 40–45 °C dituang sebanyak 10 mL ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Suspensi bakteri digoreskan merata secara zig-zag pada permukaan media menggunakan kapas lidi steril. Kertas cakram berdiameter 6 mm ditetesi 20 µL masing-masing sediaan F1, F2, F3, kontrol negatif, dan kontrol positif, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur dalam tiga kali replikasi. Nilai yang dilaporkan merupakan diameter total termasuk diameter cakram.

Analisis Data

Data evaluasi fisik sebelum dan sesudah *cycling test* dianalisis menggunakan *paired sample t-test*. Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA*. Sebelum analisis parametrik, normalitas residual diuji dengan Shapiro-Wilk dan homogenitas ragam dengan uji Levene. Apabila ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna, dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey HSD untuk mengidentifikasi pasangan kelompok yang berbeda. Seluruh analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics versi 25. Nilai $p < 0,05$ dianggap menunjukkan perbedaan yang signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak

Ekstraksi 500 g serbuk simplisia kulit buah kakao menghasilkan ekstrak kental sebanyak 74,046 g dengan rendemen 14,80%. Nilai ini memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia yang menetapkan rendemen ekstrak tidak kurang dari 7,2% (Departemen Kesehatan RI, 2008). Rendemen yang lebih besar menunjukkan jumlah senyawa yang tertarik pelarut juga lebih banyak (Badriyah & Fariyah, 2023). Etanol 96% digunakan karena bersifat semipolar sehingga mampu menarik senyawa fenolik seperti flavonoid dan tanin yang merupakan golongan dominan pada kulit buah kakao (Yahya et al., 2021; Sukatik et al., 2020).

Evaluasi Fisik Sediaan

Hasil evaluasi fisik seluruh formula sebelum dan sesudah *cycling test* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil evaluasi fisik sediaan deodoran *spray* sebelum dan sesudah *cycling test*

Parameter	Waktu	K-	F1	F2	F3	Kriteria
Bentuk	Sebelum/Sesudah	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
Warna	Sebelum	Bening	Coklat kekuningan	Coklat	Coklat tua	Tetap
	Sesudah	Bening	Coklat kekuningan	Coklat	Coklat tua	
Bau	Sebelum/Sesudah	Aroma parfum	Aroma parfum	Aroma parfum	Aroma parfum	Tetap
Homogenitas	Sebelum/Sesudah	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
pH	Sebelum	5,69	5,15	5,33	5,41	3–7
	Sesudah	5,39	5,07	5,25	5,32	

Parameter	Waktu	K–	F1	F2	F3	Kriteria
Viskositas (mPa·s)	Sebelum	16,00	17,50	19,00	20,00	12,8–65,8
	Sesudah	15,50	17,00	18,00	19,60	
Daya sebar (cm)	Sebelum	5,3	5,2	5,4	5,5	5–7
	Sesudah	5,5	5,5	6,2	6,7	
Waktu kering (menit)	Sebelum	1,14	1,22	1,27	1,35	< 5
	Sesudah	1,25	1,23	1,50	2,03	
Efek terhadap kain	Sebelum/Sesudah	Tanpa noda	Tanpa noda	Tanpa noda	Tanpa noda	Tanpa noda

Keterangan: seluruh pengukuran fisik dilakukan satu kali per formula per titik waktu sehingga simpangan baku tidak dapat dihitung; hal ini dinyatakan sebagai keterbatasan penelitian.

Seluruh formula tetap berbentuk cair, homogen, dan tidak mengalami perubahan warna maupun bau setelah *cycling test*. Perbedaan warna teramati antar formula sejalan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, yaitu bening pada K–, coklat kekuningan pada F1, coklat pada F2, dan coklat tua pada F3. Temuan ini sejalan dengan Maelaningsih et al. (2024), yang menyatakan bahwa warna sediaan akhir tampak lebih pekat seiring penambahan konsentrasi ekstrak.

Secara kimiawi, perbedaan intensitas warna tersebut berkaitan dengan pembentukan pigmen dari senyawa fenolik kulit buah kakao. Kulit buah kakao kaya polifenol, terutama tanin terkondensasi dan turunan flavan-3-ol, yang gugus orto-difenolnya mudah teroksidasi. Selama pengeringan pada suhu 50°C dan proses ekstraksi, enzim polifenol oksidase mengkatalisis oksidasi gugus orto-difenol menjadi orto-kuinon yang sangat reaktif. Kuinon tersebut berpolimerisasi dan berikatan silang dengan gugus amino protein membentuk pigmen melanoidin berwarna coklat, dan reaksi Maillard antara gula pereduksi dengan asam amino pada suhu pengeringan turut menyumbang pembentukan pigmen serupa (Tilley et al., 2023) karena jumlah ekstrak meningkat dari F1 ke F3, konsentrasi pigmen dalam sediaan meningkat secara proporsional sehingga warna berubah dari coklat kekuningan menjadi coklat tua, dengan demikian perbedaan warna merupakan konsekuensi komposisi, bukan indikasi ketidakstabilan, hal ini dikonfirmasi oleh tidak berubahnya warna masing-masing formula sebelum dan sesudah *cycling test*.

Nilai pH seluruh formula menurun setelah *cycling test*, namun tetap berada dalam rentang yang dipersyaratkan yaitu 3–7 dan sesuai untuk penggunaan topikal. Penurunan pH dapat disebabkan oleh terlarutnya CO₂ dari fase udara membentuk asam, serta degradasi komponen sediaan pada suhu tinggi yang melepaskan senyawa bersifat asam (Astuti & Marsandes, 2020). Viskositas juga menurun pada seluruh formula namun tetap berada dalam rentang 12,8–65,8 cps. Penurunan viskositas dapat dipengaruhi oleh cahaya, kelembapan, dan penyerapan uap air akibat kemasan yang kurang kedap (Puspita et al., 2020). Nilai daya sebar justru meningkat setelah *cycling test*, yang konsisten dengan penurunan viskositas karena berkurangnya hambatan aliran cairan (Zam Zam & Musdalifah, 2022); seluruh nilai tetap berada dalam rentang ideal 5–7 cm. Waktu kering seluruh formula tetap di bawah 5 menit, dan tidak satu pun formula meninggalkan noda maupun perubahan warna pada kain uji.

Tabel 3. Hasil analisis statistik

Parameter	Uji	Statistik uji	df	Nilai p	Kesimpulan
pH sebelum vs sesudah	Paired t-test	$t = 2,536$	3	0,085	Tidak berbeda bermakna
Viskositas sebelum vs sesudah	Paired t-test	$t = 4,431$	3	0,021	Berbeda bermakna
Daya sebar sebelum vs sesudah	Paired t-test	$t = -2,691$	3	0,074	Tidak berbeda bermakna
Waktu kering sebelum vs sesudah	Paired t-test	$t = -1,742$	3	0,180	Tidak berbeda bermakna
Zona hambat antar kelompok	One-way ANOVA	$F = 63,076$	3; 8	$< 0,001$	Berbeda bermakna

Keterangan: uji normalitas residual zona hambat (Shapiro-Wilk, $W = 0,903$; $p = 0,175$) dan homogenitas ragam (Levene, $p = 0,721$) terpenuhi sehingga analisis parametrik dapat dilakukan. Seluruh nilai pada tabel ini merupakan hasil perhitungan atas data mentah pada Tabel 2 dan Tabel 4.

Hasil *paired t-test* menunjukkan bahwa perubahan pH, daya sebar, dan waktu kering setelah *cycling test* tidak bermakna secara statistik. Perubahan viskositas menunjukkan nilai $p = 0,021$ sehingga secara statistik bermakna, namun penurunan absolutnya kecil ($0,40$ – $1,00$ mPa·s) dan seluruh nilai tetap berada jauh di dalam rentang penerimaan $12,8$ – $65,8$ cps. Dengan demikian perubahan viskositas tersebut bermakna secara statistik tetapi tidak bermakna secara farmasetik, dan tidak mengubah kesesuaian sediaan sebagai bentuk *spray*. Perlu ditekankan bahwa uji ini membandingkan empat formula sebagai pasangan pengamatan, bukan replikasi dalam satu formula, sehingga kekuatan statistiknya terbatas.

Aktivitas Antibakteri

Uji pendahuluan terhadap ekstrak menunjukkan zona hambat sebesar $15,4$ mm pada konsentrasi 5%, $16,6$ mm pada 10%, dan $17,9$ mm pada 15%, seluruhnya termasuk kategori kuat. Hasil ini mengonfirmasi bahwa aktivitas antibakteri telah dimiliki ekstrak sebelum diformulasikan, sejalan dengan Lestari & Asri (2021) serta Fortunanta et al. (2023) yang melaporkan aktivitas ekstrak kulit buah kakao terhadap *S. epidermidis*. Perlu dicatat bahwa uji pendahuluan ini dilakukan tanpa replikasi, sehingga nilainya bersifat indikatif dan tidak diikutsertakan dalam analisis statistik.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri sediaan deodoran *spray* terhadap *Staphylococcus epidermidis*

Kelompok	I (mm)	II (mm)	III (mm)	Rata-rata $\pm$ SD (mm)	Kategori	Notasi
F1 (5%)	15,9	15,6	15,4	$15,63 \pm 0,25$	Kuat	a
F2 (10%)	17,1	16,8	16,7	$16,87 \pm 0,21$	Kuat	b
F3 (15%)	18,6	18,6	17,7	$18,30 \pm 0,52$	Kuat	c
K+ (Odorex)	18,8	18,7	18,7	$18,73 \pm 0,06$	Kuat	c
K- (basis tanpa ekstrak)	–	–	–	–	Tidak ada aktivitas	–

Keterangan: kategori kekuatan daya hambat mengacu pada kriteria Davis dan Stout (1971) (lemah < 5 mm; sedang 5 – 10 mm; kuat 10 – 20 mm; sangat kuat > 20 mm). Notasi huruf berbeda menunjukkan perbedaan bermakna berdasarkan uji Tukey HSD ($\alpha = 0,05$); kelompok dengan huruf sama tidak berbeda bermakna. Kategori K- dinyatakan sebagai tidak ada aktivitas karena tidak terbentuk zona hambat sama sekali.

Diameter zona hambat sediaan meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, yaitu $15,63 \pm 0,25$ mm pada F1, $16,87 \pm 0,21$ mm pada F2, dan $18,30 \pm 0,52$ mm pada F3, sedangkan kontrol positif menghasilkan $18,73 \pm 0,06$ mm dan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat sama sekali. Analisis one-way ANOVA menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna antar kelompok ($F(3,8) = 63,08$; $p < 0,001$). Uji lanjut

Tukey HSD memastikan bahwa seluruh pasangan formula berbeda bermakna satu sama lain: F1 terhadap F2 (selisih 1,23 mm; $p = 0,005$), F1 terhadap F3 (2,67 mm; $p < 0,001$), dan F2 terhadap F3 (1,43 mm; $p = 0,002$). Temuan yang paling penting adalah bahwa F3 tidak berbeda bermakna terhadap kontrol positif (selisih 0,43 mm; $p = 0,373$), sedangkan F1 dan F2 keduanya berbeda bermakna terhadap kontrol positif ($p < 0,001$).

Hasil uji lanjut tersebut memberikan dasar statistik yang jauh lebih kuat dibandingkan sekadar membandingkan selisih nilai rata-rata. Pernyataan bahwa F3 mendekati kontrol positif ini dapat dinyatakan secara kuantitatif: pada tingkat kepercayaan 95%, aktivitas F3 tidak dapat dibedakan secara statistik dari deodoran komersial pembanding. Meskipun demikian, ketidakberubahan statistik pada satu metode uji tidak identik dengan kesetaraan efikasi. Difusi cakram mengukur kemampuan difusi radial senyawa dalam agar, dan kontrol positif berupa produk komersial memiliki komposisi bahan aktif serta pembawa yang berbeda dari sediaan uji, sehingga perbandingan laju difusinya tidak sepenuhnya setara. Kesetaraan efikasi hanya dapat disimpulkan melalui penentuan kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum.

Secara mekanistik, peningkatan konsentrasi ekstrak memperbesar gradien konsentrasi senyawa aktif antara cakram dan media agar sehingga laju difusi radial serta jarak tempuh senyawa sebelum kadarnya turun di bawah kadar hambat minimum menjadi lebih besar; konsekuensinya diameter zona hambat ikut membesar. Selain konsentrasi senyawa aktif, faktor lain yang mempengaruhi terbentuknya zona hambat meliputi sensitivitas mikroba uji, ketebalan dan viskositas medium, interaksi antara zat aktif dan medium, serta suhu inkubasi (Chandra et al., 2023).

Ketiadaan zona hambat pada kontrol negatif perlu dijelaskan, mengingat basis mengandung etanol 20% dan propil paraben 0,4% yang keduanya memiliki aktivitas antimikroba. Etanol bersifat sangat volatil sehingga menguap dari cakram sebelum sempat berdifusi ke media, sementara propil paraben pada kadar 0,4% berfungsi sebagai pengawet untuk mencegah pertumbuhan mikroba di dalam sediaan, bukan sebagai antibakteri pada kadar yang mampu membentuk zona hambat terhadap inokulum padat. Dengan demikian, seluruh aktivitas antibakteri yang teramati pada F1 hingga F3 dapat diatribusikan kepada ekstrak kulit buah kakao, bukan kepada komponen basis.

Perlu pula dicatat bahwa diameter zona hambat sediaan sedikit lebih besar dibandingkan ekstrak pada konsentrasi setara, dengan selisih 0,2 mm pada 5%, 0,2 mm pada 10%, dan 0,4 mm pada 15%. Secara intuitif hal ini berlawanan dengan harapan karena sediaan mengandung ekstrak yang telah terencerkan oleh basis. Keberadaan etanol dan propilen glikol dalam basis dapat menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan laju difusi senyawa fenolik ke dalam agar. Namun selisih sebesar 0,2–0,4 mm masih berada dalam rentang variasi antar replikasi sediaan (simpangan baku 0,06–0,52 mm), sehingga tidak dapat dinyatakan sebagai peningkatan aktivitas yang bermakna, terlebih karena uji pendahuluan ekstrak dilakukan tanpa replikasi.

Mekanisme Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri kulit buah kakao berkaitan dengan kandungan metabolit sekundernya. Ekstrak kulit buah kakao dilaporkan mengandung fenolik total 47,44–570,44 mg GAE/g dan flavonoid total 1,96–4,34 mg QE/g (Yahya et al., 2021), dengan golongan senyawa aktif berupa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid (Sukatik et al., 2020; Lestari & Asri, 2021). Penelitian ini tidak melakukan skrining fitokimia tersendiri, sehingga uraian golongan senyawa berikut sepenuhnya merujuk pada literatur dan bukan merupakan temuan primer.

Golongan senyawa tersebut bekerja melalui mekanisme yang berbeda. Flavonoid menghambat DNA girase serta mengganggu fungsi membran sitoplasma dan metabolisme energi bakteri (Cushnie & Lamb, 2005). Pada bakteri Gram-positif seperti *S. epidermidis*, kerusakan membran dilaporkan menjadi jalur yang lebih dominan dibandingkan penghambatan DNA girase (Yan et al., 2024). Tanin bekerja melalui beberapa jalur sekaligus: pengendapan protein melalui ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik, penghambatan sintesis dinding sel, gangguan integritas membran, penghambatan biosintesis asam lemak, serta khelasi ion besi melalui gugus orto-dihidroksi fenil sehingga bakteri kekurangan besi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan (Farha et al., 2020). Alkaloid menghambat sintesis asam nukleat dan protein, merusak dinding serta membran sel, dan menghambat pompa efluks maupun enzim bakteri.

Peran saponin perlu dinyatakan lebih berhati-hati. Saponin memang membentuk kompleks dengan sterol membran dan memicu pembentukan pori (Sudji et al., 2015), namun sebagian besar bakteri tidak memiliki sterol pada membrannya sehingga kontribusi saponin terhadap aktivitas antibakteri kemungkinan lebih kecil dibandingkan aktivitas antifungi atau hemolitiknya (Tatli Cankaya & Somuncuoglu, 2021). Aktivitas saponin terhadap bakteri lebih mungkin berlangsung melalui efek surfaktan yang merusak dinding sel dan meningkatkan permeabilitas membran. Dengan demikian, aktivitas antibakteri yang teramati pada penelitian ini paling masuk akal dijelaskan sebagai efek gabungan flavonoid dan tanin sebagai kontributor utama, dengan alkaloid dan saponin sebagai kontributor pendukung.

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam menafsirkan hasilnya. Pertama, aktivitas antibakteri hanya diuji dengan metode difusi cakram tanpa penentuan kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum, sehingga potensi sediaan hanya dapat dinilai secara relatif. Kedua, evaluasi fisik dilakukan satu kali per formula per titik waktu sehingga simpangan baku tidak dapat dihitung dan uji *paired t-test* terpaksa membandingkan antar formula, bukan antar replikasi dalam formula yang sama; hal ini membatasi kekuatan statistik kesimpulan stabilitas. Ketiga, protokol *cycling test* hanya menerapkan paparan suhu 40 °C tanpa fase suhu rendah, sehingga tidak menguji sediaan terhadap tekanan pemuatan dan penyusutan yang lazim disimulasikan pada uji stabilitas dipercepat konvensional. Keempat, bakteri uji dibatasi pada *S. epidermidis*, padahal bau aksila secara dominan disumbang oleh genus *Corynebacterium* (James et al., 2013), sehingga efektivitas sediaan terhadap bau badan secara nyata belum dapat disimpulkan dari data ini. Kelima, skrining fitokimia tidak dilakukan sehingga atribusi aktivitas kepada golongan senyawa tertentu sepenuhnya bersandar pada literatur. Keenam, keamanan sediaan pada kulit belum diuji melalui uji iritasi dan penerimaan pengguna belum diukur melalui uji hedonik.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat diformulasikan menjadi sediaan deodoran *spray* yang memenuhi seluruh persyaratan evaluasi fisik, meliputi organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, waktu kering, dan efek terhadap kain, baik sebelum maupun sesudah *cycling test*. Sediaan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dengan diameter zona hambat $15,63 \pm 0,25$ mm (F1), $16,87 \pm 0,21$ mm (F2), dan $18,30 \pm 0,52$ mm (F3), dan perbedaan antar formula bermakna secara statistik ($p < 0,001$). Formula F3 dengan konsentrasi ekstrak

15% merupakan formula terbaik karena menghasilkan zona hambat terbesar dan secara statistik tidak berbeda dari kontrol positif berupa deodoran komersial. Meskipun demikian, kesimpulan mengenai potensi pengembangan produk masih bersifat awal karena penelitian ini belum menentukan kadar hambat minimum, belum menguji bakteri penyumbang bau aksila lainnya, dan belum menguji keamanan pada kulit. Penelitian lanjutan disarankan mencakup penentuan kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum, skrining fitokimia kuantitatif, uji iritasi, uji stabilitas dipercepat dengan siklus suhu penuh, uji hedonik, serta pengujian terhadap *Corynebacterium* spp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Megarezky Makassar serta seluruh pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini, khususnya tim Laboratorium Fitokimia, Laboratorium Teknologi Sediaan Cair dan Semi Solid, dan Laboratorium Mikrobiologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggy, F., Maulidai, A. I., Ramzi, A., & Ihtisyam, Z. H. (2024). Tinjauan pustaka tentang bromhidrosis. *Jurnal Medika Utama*, 5(2), 1260–1265.
- Astuti, R. D., & Marsandes, I. (2020). Formulasi dan evaluasi sediaan krim ekstrak daun labu air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) dengan kombinasi asam stearat dan trietanolamin sebagai emulgator. *JKPharm Jurnal Kesehatan Farmasi*, 2(2), 1–8. <https://doi.org/10.36086/jkpharm.v2i2.1689>.
- Badriyah, L., & Fariyah, D. (2023). Optimalisasi ekstraksi kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) menggunakan metode maserasi. *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya*, 3(1), 30–37. <https://doi.org/10.56399/jst.v3i1.32>.
- Chandra, D., Tampubolon, M. I., & Prilius, N. (2023). Formulasi dan pengujian sediaan *deodorant spray* yang mengandung ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Siti Rufaidah*, 1(4), 17-25.
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665. <https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia (Edisi I)*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Farha, A. K., Yang, Q.-Q., Kim, G., Li, H.-B., Zhu, F., Liu, H.-Y., Gan, R.-Y., & Corke, H. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>.
- Fortunanta, R., Wardani, T. S., Irma, D. A., & Permatasari. (2023). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, etil asetat, air dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 dengan metode difusi dan dilusi. *Jurnal Medika Nusantara*, 1(4), 84–102. <https://doi.org/10.59680/medika.v1i4.610>.
- Hamka, H. N., Zahran, I., & Amri, R. (2024). Formulasi dan uji aktivitas antibakteri deodoran spray alami kombinasi ekstrak daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dan daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(1), 144–157.
- Hara, T., Matsui, H., & Shimizu, H. (2014). Suppression of microbial metabolic pathways inhibits the generation of the human body odor component diacetyl by *Staphylococcus* spp. *PLoS ONE*, 9(11), e111833. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111833>.
- Hidayati, N., Budiman, & Hendra. (2023). Uji aktivitas antibakteri *deodorant spray tea tree oil* (*Melaleuca alternifolia*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi*, 6(1), 30-39. <https://doi.org/10.30587/herclips.v6i01.8244>.
- Huzaemah, S. H., Setiawan, A., & Puspitasari, R. (2024). Formulasi sediaan *deodoran spray* ekstrak daun mangkokan (*Polyscias scutellaria* (Burm.f.) Fosberg) dan uji efektivitas antibakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 6(2), 277–294. <https://doi.org/10.33759/jrki.v6i2.525>.
- James, A. G., Austin, C. J., Cox, D. S., Taylor, D., & Calvert, R. (2013). Microbiological and biochemical

- origins of human axillary odour. *FEMS Microbiology Ecology*, 83(3), 527–540. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12054>.
- Kurniawan, K., Kusumasary, D. A., Estikomah, S. A., & Marfu'ah, N. (2024). Formulasi *sediaan deodoran spray* ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan variasi alum (tawas). *Pharmasipha*, 7(2), 1–10. <https://doi.org/10.21111/pharmasipha.v7i2.10665>.
- Lestari, H. D., & Asri, M. T. (2021). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(3), 302–308. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n3.p302-308>.
- Madiha, R. P. (2021). Formulasi dan uji aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus epidermidis* [Undergraduate thesis]. Universitas Sumatera Utara.
- Maelaningsih, F. S., Andriati, R., Hasanah, A. N., & Ramadhani, D. (2024). Formulasi dan evaluasi sediaan *deodoran spray* ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan kombinasi tawas. *Prosiding SEMITMAS*, 1(1), 330–340.
- Oktaviana, M. I., Pahalawati, I. N., Kurniasih, N. F., & Genatrika, E. (2019). Formulasi *deodoran spray* dari minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sebagai antibakteri penyebab bau badan (*Staphylococcus epidermidis*). *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(2), 396. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v16i2.2965>.
- Puspita, W., Puspasari, H., & Shabrina, A. (2020). Formulasi dan stabilitas fisik gel semprot ekstrak daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia, Edisi Khusus*. 112-119. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v0i0.14904>.
- Rahayu, Y. C., Prihanti, A. M., & Salsabila, T. P. (2023). Inhibition of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) extract gel against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 8(1), 201–204. <https://doi.org/10.15562/jdmfs.v8i1.1188>.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients (6th ed.)*. London: Pharmaceutical Press.
- Sudji, I. R., Subburaj, Y., Frenkel, N., García-Sáez, A. J., & Wink, M. (2015). Membrane disintegration caused by the steroid saponin digitonin is related to the presence of cholesterol. *Molecules*, 20(11), 20146–20160. <https://doi.org/10.3390/molecules201119682>.
- Sukatik, Yetri, Y., Rahmi, H. P., Tri, R., & Ratih, P. (2020). Kajian manfaat senyawa aktif dalam ekstrak kulit buah coklat (*Theobroma cacao*). *Jurnal Ilmiah Poli Rekayasa*, 15(2), 13. <https://doi.org/10.30630/jipr.15.2.168>.
- Tatli Cankaya, I. I., & Somuncuoglu, E. I. (2021). Potential and prophylactic use of plants containing saponin-type compounds as antibiofilm agents against respiratory tract infections. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6814215, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2021/6814215>.
- Tilley, A., McHenry, M. P., McHenry, J. A., Solah, V., & Bayliss, K. (2023). Enzymatic browning: The role of substrates in polyphenol oxidase mediated browning. *Current Research in Food Science*, 7, 100623. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100623>.
- Troccaz, M., Gaïa, N., Beccucci, S., Schrenzel, J., Cayeux, I., Starkenmann, C., & Lazarevic, V. (2015). Mapping axillary microbiota responsible for body odours using a culture-independent approach. *Microbiome*, 3(3), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s40168-014-0064-3>.
- Wahyuningsih, S., Bachri, N., Awaluddin, N., & Andriani, I. (2021). Serum wajah fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.). *Jurnal Katalisator*, 6(2), 684. <https://doi.org/10.62769/katalisator.v6i2.684>.
- Yahya, M., Ginting, B., & Saidi, N. (2021). In-vitro screenings for biological and antioxidant activities of water extract from *Theobroma cacao* L. pod husk: Potential utilization in foods. *Molecules*, 26(22), 6915. <https://doi.org/10.3390/molecules26226915>.
- Yan, Y., Xia, X., Fatima, A., Zhang, L., Yuan, G., Lian, F., & Wang, Y. (2024). Antibacterial activity and mechanisms of plant flavonoids against Gram-negative bacteria based on the antibacterial statistical model. *Pharmaceuticals*, 17(3), 292. <https://doi.org/10.3390/ph17030292>.
- Zam Zam, A. N., & Musdalifah, M. (2022). Formulasi dan evaluasi kestabilan fisik krim ekstrak biji lada hitam (*Piper nigrum* L.) menggunakan variasi emulgator. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(2), 304–313. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i2.14146>.