

Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Hand Gel Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Setyo Nurwaini*, Rosyidah Hafidzatun Nasihah
Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
*Email: setyo.nurwaini@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:
hand gel,
antibakteri, daun
jambu biji.

Sediaan hand gel dibutuhkan untuk mencegah penyebaran bakteri dari tangan ke dalam mulut. Daun jambu biji (*Psidium guajava*L.) diketahui memiliki aktivitas terhadap *E. coli*, *S. aureus*, dan *P.aeruginosa*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula hand gel ekstrak daun jambu biji yang memiliki sifat fisik dan aktivitas antibakteri yang paling baik. Hand gel dibuat dalam tiga formula dengan variasi kadar ekstrak daun jambu biji yaitu FI (10%), FII (15%) dan FIII (20%). Evaluasi sifat fisik hand gel meliputi uji organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar dan daya lekat. Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap *E. coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa warna sediaan adalah coklat kehijauan, bau khas, homogen, pH 4,9-5,0, viskositas 140-167 dPas, daya lekat 3,6-5,9 detik. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa hand gel memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan diameter zona hambatan FI $13,5 \pm 0,0$ mm, FII $13,5 \pm 0,1$ mm dan FIII sebesar $13,0 \pm 0,1$ mm. Peningkatan kadar ekstrak daun jambu biji 10-20% dalam hand gel tidak menunjukkan perbedaan aktivitas antibakteri yang bermakna.

1. PENDAHULUAN

Lebih dari separuh jenis penyakit dan kematian pada anak balita disebabkan oleh kuman yang masuk ke dalam mulut melalui makanan, air, dan tangan yang kotor. Banyak kuman yang berasal dari kotoran manusia dan binatang. Buruknya kebersihan perorangan dan kesehatan lingkungan termasuk langkanya persediaan air bersih, mengakibatkan 88% kematian anak di seluruh dunia karena diare, hampir 90% di antaranya anak balita (Kemenkes, 2010). Berdasarkan penelitian, tidak mencuci tangan dapat meningkatkan risiko relatif menderita diare sebesar 95%. Sedangkan mencuci tangan dengan sabun dapat menurunkan risiko menderita penyakit diare hingga tinggal 4%. Sehingga ada keterkaitan antara perilaku mencuci tangan dengan sabun dan penyakit diare (Kemenkes, 2014).

Cairan pembersih tangan dikatakan lebih efektif dibandingkan mencuci tangan dengan air mengalir karena di dalam air mengalir tidak terdapat zat anti kuman (antibakteri) serta kuman bisa saja terbawa bersama air mengalir yang menyebabkan penurunan jumlah kuman tidak efektif (Desiyanto, 2013). Penggunaan produk pembersih tangan sebagai alternatif mencuci tangan dapat menurunkan jumlah kejadian gangguan pencernaan pada anak-anak (Sandora et al., 2015). *Waterless antiseptic* (seperti larutan berbahan alkohol) masih direkomendasikan penggunaannya dalam keadaan darurat. Alkohol memiliki aktivitas antimikroba yang ditunjukkan dengan kemampuannya mendenaturasi protein. Kelemahan sediaan antiseptik basis alkohol dapat menyebabkan kulit kering (WHO, 2006). Oleh karena itu dibuat inovasi cairan pembersih tangan dari bahan alami yang lebih aman serta mengandung antiseptik tetapi tidak mengiritasi kulit. Sediaan *hand gel* sangat praktis digunakan. Cara pemakaiannya dengan ditetaskan pada telapak tangan, kemudian diratakan pada permukaan tangan tanpa pembilasan dengan air.

Di Indonesia, banyak terdapat tumbuhan yang berkhasiat untuk penyembuhan penyakit, diantaranya adalah daun jambu biji. Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Kandungan tanin dalam ekstrak etanol dari daun jambu biji memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus*, *P.aureginosa* dan aktivitas antifungi terhadap *A. niger* dan *C. albicans*. Ketiga bakteri tersebut mewakili bakteri gram negatif dan positif yang berperan dalam kontaminasi pada makanan (Mailoa et al., 2014). Hasil skrining dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) menunjukkan bahwa quercetin dan glikosidanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap gram positif *S. aureus* dan gram negatif *E. coli*, *P. aeruginosa* serta antifungi terhadap *C. albicans* (Metwally et al., 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Garode (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji memiliki aktivitas yang tinggi terhadap *Salmonella typhi*.

Bentuk sediaan gel pembersih tangan ini dipilih karena nyaman digunakan untuk sediaan topikal. Sebagai *gelling agent* digunakan CMC-Na karena banyak digunakan untuk sediaan topikal serta viskositasnya yang baik. CMC-Na dengan konsentrasi 3-6% digunakan untuk menghasilkan gel yang dapat digunakan sebagai basis pembuatan sediaan topikal serta mencegah gel cepat kering (Rowe, 2009). Berdasarkan penelitian Istiana (2016), sediaan gel dengan basis CMC-Na pada sediaan ekstrak daun cocor bebek memberikan susunan formula yang homogen serta pH CMC-Na sebesar 6 yang masuk rentang pH kulit yaitu 4,5-7,0 sehingga basis gel CMC-Na tidak mengiritasi kulit. CMC-Na sebagai *gelling agent* pada sediaan topikal seperti gel ekstrak kulit manggis (Maulina & Sugihartini, 2015), gel ekstrak daun sasaladahan (Mappa et al., 2013) dan gel anti jerawat (Kumesan et al., 2013) menunjukkan hasil evaluasi sifat fisik dan stabilitas yang baik.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri sediaan *hand gel* ekstrak etanol daun jambu biji sebagai alternatif produk pembersih tangan.

2. METODE

2.1. Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan adalah perlengkapan maserasi, timbangan, *glassware*, cawan porselin, jangka sorong, mikropipet, inkubator, oven, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), kawat/jarum Ose, pembakar Bunsen, *pH meter*, *object glass*, viskometer.

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun jambu biji, CMC-Na, propilen glikol, gliserin, akuades, etanol 70%, bluetips, yellowtips, isolat bakteri *Escherichia coli*, media kultur selektif Mc Conkey, media kultur Nutrient Agar, NaCl, plat aluminium.

2.2. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2.3. Jalannya Penelitian

a. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan jenis daun jambu biji yang digunakan di UPT Materia Medica Kota Batu Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur.

b. Pembuatan ekstrak daun jambu biji dan daun jambu biji

Sebanyak ± 500 g serbuk simplisia daun jambu biji ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian direndam dengan 1,5 liter etanol 70%. Wadah maserasi untuk melarutkan serbuk simplisia daun jambu biji ditutup dan disimpan pada suhu kamar yang terlindung dari sinar matahari langsung selama 24 jam. Hasil maserasi serbuk simplisia disaring agar cairan etanol dan ampasnya terpisah. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak cair kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental (Ekananda et al., 2016; Marinton, 2015).

c. Pembuatan *hand gel*

Ekstrak dilarutkan dalam sebagian akuades, CMC-Na dikembangkan dalam sisa akuades yang telah dipanaskan, didiamkan selama 15 menit, diaduk hingga terbentuk massa gel yang homogen. Propilen glikol dan gliserin dicampur kemudian ditambahkan pada basis gel dan yang terakhir ekstrak (Mazwadeh, 2006).

Tabel 1. Formula Sediaan *Hand Gel* Daun Jambu Biji

Bahan	Formula		
	I	II	III
Ekstrak daun jambu biji (g)	10	15	20
CMC-Na (g)	5	5	5
Gliserin (g)	10	10	10
Propilenglikol (g)	5	5	5
Akuades ad (mL)	100	100	100

d. Evaluasi sifat fisik sediaan *hand gel*

Uji organoleptik

Sediaan gel yang telah diformulasi dilakukan pengamatan secara fisik meliputi bau dan warna dari sediaan. Gel biasanya jernih dengan konsistensi setengah padat (Ansel, 1989).

Uji homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara sampel gel dioleskan pada sekeping kaca (gelas obyek) atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Ditjen POM Depkes RI, 1995).

Uji pH

Pengukuran pH menggunakan indikator pH (*pH stick*) yang dilakukan dengan cara memasukkan *pH meter* ke dalam sediaan gel (Sukatta et al., 2008). Nilai pH sediaan dilihat dengan rentang 4,5-6,5 sesuai dengan syarat pH kulit.

Uji viskositas

Uji ini dilakukan menggunakan viskometer dan pengukuran viskositasnya dimulai saat jarum rotor bergerak dan stabil. Caranya dengan mengisi tabung dengan gel lalu diatur dalam tabung kapiler hingga batas garis dengan bantuan tekanan atau pengisapan. Buka tabung kapiler agar gel mengalir bebas. Waktu yang diperlukan gel untuk mengalir dari batas atas hingga batas bawah tabung kapiler dicatat dalam detik (Ditjen POM Depkes RI, 1995).

Uji daya sebar

Sediaan hasil formulasi ditimbang sebanyak 1 g dan diletakkan di tengah cawan petri yang sebelumnya pada bagian dalam telah ditempeli kertas milimeter blok. Kaca penutup (cawan petri lainnya) ditempelkan pada cawan petri yang telah diberi sampel. Beban seberat 125 g ditambahkan, didiamkan selama 1 menit dan diukur diameter sediaan dan dicatat luas penyebarannya. Uji ini dilakukan setelah 48 jam waktu pembuatan sediaan (Garg et al., 2002).

Uji daya lekat

Uji ini dilakukan dengan mengambil gel sebanyak 0,25 gram diletakkan di atas gelas obyek dan ditempelkan pada gelas obyek yang lain lalu ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Gelas obyek dipasang pada alat tes dan dilepaskan beban seberat 50 g, 100 g dan 150 g. Waktu yang dibutuhkan hingga gelas obyek terlepas dicatat dalam detik.

e. Uji aktivitas antibakteri

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri *hand gel* dilakukan uji difusi dengan media agar Mc Conkey yang telah dicampur dengan bakteri uji yaitu *Escherichia coli*. Inkubasi dilakukan selama 24 jam. Hasil didapatkan dengan mengukur diameter zona hambat (mm) yang ditunjukkan zona bening di sekitar media terhadap bakteri *Escherichia coli* (Darsana et al., 2012). Sebagai kontrol negatif CMC-Na (basis gel) dan kontrol positifnya sediaan *hand sanitizer* yang ada di pasaran. Data yang didapatkan dalam penelitian diolah dengan analisis statistik *One Way Anova*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Organoleptis Sediaan *Hand Gel* Daun Jambu Biji

Berdasarkan hasil pengujian, *hand gel* yang dihasilkan dari formula I-III yang mengandung ekstrak daun jambu biji, menghasilkan *hand gel* yang homogen, tidak terjadi pemisahan, warna coklat muda kehijauan, tidak berbau, serta dalam penyimpanan selama 14 hari tidak ditemukan adanya pertumbuhan jamur (Tabel 2).

Tabel 2. Organoleptis Sediaan *Hand Gel* Daun Jambu Biji

Formula	Pengamatan			
	Warna	Bau	Pemisahan	Pertumbuhan jamur secara makroskopis
I	Coklat muda kehijauan	Tidak berbau	Tidak ada	Tidak ada
II	Coklat muda kehijauan	Tidak berbau	Tidak ada	Tidak ada
III	Coklat muda kehijauan	Tidak berbau	Tidak ada	Tidak ada

3.2. Sifat Fisik Sediaan *Hand Gel* Daun Jambu Biji

Tabel 3. Sifat Fisik Sediaan *Hand Gel* Daun Jambu Biji

Pengujian	FI	FII	FIII
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
pH	5,00 ± 0,01	5,01 ± 0,03	4,89 ± 0,00
Viskositas (dPas)	140 ± 0,00	153,3 ± 5,77	166,7 ± 5,77
Daya sebar (cm ²)	2,48	2,47	2,47
Daya lekat (detik)	3,6 ± 0,2	4,9 ± 0,5	5,9 ± 0,23

Susunan sediaan *hand gel* daun jambu biji terlihat homogen pada semua formula. Sediaan *hand gel* yang baik harus homogen agar zat aktif terdistribusi secara merata. Pengujian homogenitas dilakukan secara visual dengan mengamati meratanya warna, ada tidaknya butiran kasar, dan tercampurkan bahan bahan dengan baik pada semua formula *hand gel*.

Rentang persyaratan pH sediaan topikal adalah yaitu 4,5-6,5. Sediaan topikal yang terlalu asam dapat mengakibatkan kulit mengkerut dan rusak, sedangkan apabila pH sediaan terlalu basa dapat menimbulkan kulit menjadi kering dan mengelupas. Berdasarkan hasil uji pH (Tabel 3) menunjukkan bahwa *hand gel* ekstrak daun jambu biji memenuhi persyaratan pH untuk kulit, dengan rentang pH 4,89-5,01. Peningkatan kadar ekstrak dalam *hand gel* meningkatkan pH *hand gel*. Hal ini berarti ekstrak yang ditambahkan berperan meningkatkan kebasaaan sediaan.

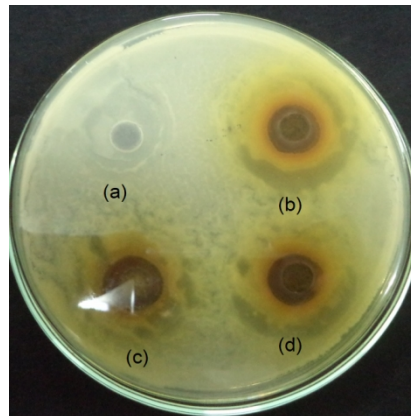
Pengukuran viskositas sediaan *hand gel*, dilakukan untuk mengetahui besarnya tahanan *hand gel* untuk mengalir. Besarnya viskositas dipengaruhi oleh zat pengental (*gelling agent*), kadar fase terdispersi, dan ukuran partikel. Hasil pengukuran viskositas

menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka viskositas sediaan semakin meningkat, walaupun jumlah *gelling agent* yang digunakan tetap. Hal ini menunjukkan, bahwa ekstrak kental daun jambu biji yang digunakan berperan meningkatkan viskositas sediaan. Hasil uji statistik dengan metode *One Way Anova* menunjukkan bahwa peningkatan kadar ekstrak berpengaruh signifikan terhadap peningkatan viskositas *hand gel*.

Pengujian daya sebar dilakukan untuk mengetahui kelunakan sediaan *hand gel* saat dioleskan di kulit. Selain untuk mengetahui kemampuan menyebar *hand gel* daun jambu biji di permukaan telapak tangan. Hasil pengujian daya sebar menunjukkan bahwa, pemberian beban 50-150 gram tidak meningkatkan penyebaran terhadap *hand gel*. Hal ini berarti saat diaplikasikan, pemberian tekanan ringan sudah menyebarkan *hand gel* di tangan. Hal ini penting untuk kenyamanan dan kemudahan penggunaan *hand gel*.

Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui kemampuan *hand gel* melekat pada kulit. Apabila sediaan melekat dalam waktu yang lama, semakin besar pula daya lekatnya. Berdasarkan hasil pengujian daya lekat, semakin tinggi kadar ekstrak daun jambu biji dalam *hand gel* akan meningkatkan waktu lekatnya. Hal ini terkait juga dengan meningkatnya viskositas sediaan *hand gel*. Hasil uji statistik dengan metode *One Way Anova* menunjukkan bahwa peningkatan kadar ekstrak daun jambu biji berpengaruh signifikan terhadap peningkatan daya lekat *hand gel*.

3.3. Aktivitas Antibakteri Sediaan *Hand Gel* Daun Jambu Biji



Gambar 1. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Sediaan *Hand Gel* Daun Jambu Biji terhadap bakteri *E. coli*. (a) kontrol positif, (b) FI, (c) FII, dan (d) FIII

Tabel 4. Aktivitas Antibakteri Sediaan *Hand Gel* Daun Jambu Biji terhadap bakteri *E. coli*

Diameter Zona Hambatan (mm)			
FI	FII	FIII	Kontrol positif
13,5 ± 0,0	13,5 ± 0,1	13,0 ± 0,1	9,2 ± 0,0

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri sediaan *hand gel* terhadap bakteri *E. coli* diketahui bahwa ketiga formula memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan diameter zona hambatan masing-masing FI 13,5 ± 0,0 mm, FII 13,5 ± 0,1 mm dan FIII sebesar 13,0 ± 0,1 mm. Berdasarkan hasil uji statistik dengan metode *One Way Anova* menunjukkan bahwa peningkatan kadar ekstrak daun jambu biji dari ketiga formula tidak berbeda bermakna terhadap peningkatan aktivitas antibakteri *hand gel*. Sedangkan jika dibandingkan dengan kontrol positif, maka ketiga formula *hand gel* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dan berbeda bermakna.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan sediaan *hand gel* daun jambu biji memiliki sifat fisik yang baik. Sediaan *hand gel* berwarna coklat kehijauan, bau khas, homogen, pH 4,9-5,0, viskositas 140-167 dPas, daya lekat 3,6-5,9 detik, dan daya sebar 2,47 cm². Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa *hand gel* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan diameter zona hambatan FI 13,5 ± 0,0 mm, FII 13,5 ± 0,1 mm dan FIII sebesar 13,0 ± 0,1 mm. Peningkatan kadar ekstrak daun jambu biji 10-20% dalam *hand gel* tidak menunjukkan perubahan aktivitas antibakteri yang bermakna.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LPPM Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah mendanai penelitian ini melalui skim PEREKOM Batch III 2016/2017.

REFERENSI

- Ansel, H.C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi 4. UI Press. Jakarta.
- Darsana, I.G.O. Besung, I.N.K.. dan Mahatmi, H. (2012). Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. 1(3). 337–351
- Desiyanto, F.A dan Djannah, S.N. (2013). Efektivitas Mencuci Tangan Menggunakan Pembersih Tangan Antiseptik (*Hand Sanitizer*) Terhadap Jumlah Angka Kuman. *KESMAS*. 7 (2). 55-112.
- Ditjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Ekananda, M.A. Dwyana, Z. Tambaru, E. dan Rante, H. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Daun Jambu Biji *Psidium guajava* L. terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. repository UNHAS.
- Garg, A. Aggarwal, D. Garg, S., and Sigla, A.K.. (2002). Spreading of Semisolid Formulation: An Update. *Pharmaceutical Technology*. September 2002: 84-105
- Garode, A. (2014). Antibacterial Activity of *Psidium Guajava* Linn (Guava) Leaves Extracts on Bacterial Pathogens. *International Journal of Bioassays*. (1). 1794–1796.
- Istiana, S. (2016). Formulasi Sediaan Gel Basis Na-CMC Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* (Lmk.) Pers.) sebagai Penyembuh Luka Bakar pada Kelinci. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. (2010). *Pusat Data dan Informasi: Penuntun Hidup Sehat*. Edisi Keempat. Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. (2014). *Perilaku Mencuci Tangan Pakai Sabun di Indonesia*. Jakarta.
- Kumesan, Y.A.N. Yamlean, P.V.Y. Supriati, H.S. (2013). Formulasi Dan Uji Aktivitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (*Crinum Asiaticum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *in Vitro*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*. 2 (2):2302–2493.
- Mailoa M.N.. Mahendradatta M. Laga A. and Djide N. (2014). Antimicrobial Activities Of Tannins Extract From Guava Leaves (*Psidium Guajava* L) On Pathogens Microbial. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 3 (1). 236–241.

- Mappa, T. Edy H. J. & K.N. (2013). Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucid* L.) dan Uji Efektivitasnya Terhadap Luka Bakar pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2 (2). 49–56.
- Marinton, S. (2015). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Maulina, L. dan Sugihartini, N. (2015). Formulasi Gel Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Variasi *Gelling Agent* Sebagai Sediaan Luka Bakar. *Pharmaciana*. Vol 5 (1): 43-52
- Mazwadeh, H.M. (2006). Anti-inflammatory activity of achillea and ruscus topical gel on carrageenan-induced paw edemains rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*. 63 (4). 277-280.
- Metwally, A.M. Omar, A.A.. Harraz, F.M. and El-Sohafy, S.M. (2010). Phytochemical investigation and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. leaves. *Pharmacognosy magazine*. 6 (23). 212–8.
- Rowe, R.C.. Sheskey, P.J.. Weller, P.J. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient. Sixth Edition*. The Pharmaceutical Press and The American Pharmaceutical Association. London
- Sandora, T.J., Taveras, E.M. Shih, M.C. Resnick, EA, Lee G.M., Ross-Degnan, D., Goldmann, D.A. (2015). Randomized, Controlled Trial Of A Multifaceted Intervention Including Alcohol-Based Hand Sanitizer And Hand-Hygiene Education To Reduce Illness Transmission In The Home. *Pediatrics*. 116(3): 587-94.
- Sukatta, U. Rugthaworn, P. Pitpiangchan, P. and Dilokkunanant, U. (2008). Development of Mangosteen Anti-Acne Gel. *Kasetsart J. (Nat. Sci)*. 42: 163-168.
- WHO, (2006). *WHO Guidelines On Hand Hygiene In Health Care (Advanced Draft)*, Global Patient Safety Challenge 2005-2006. Diakses 27 Januari 2017. http://www.who.int/patientsafety/information_centre/Last_April_versionHH_Guidelines%5B3%5D.pdf