

## **BAB III**

### **BAHAN DAN METODE**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini dilakukan secara eksperimental, yakni menggunakan penelitian laboratorium dengan melakukan suatu rancangan sederhana untuk mengetahui efektifitas sabun cuci tangan ekstrak daun kelor terhadap bakteri *Escherichia coli*.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

##### **3.2.1 Waktu penelitian**

Penelitian dilakukan pada rentang bulan Maret-Juni tahun 2022.

##### **3.2.2 Tempat Penelitian**

Tempat Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **Alat :**

1. spatula
2. Gelas ukur merk iwaki 100ml
3. Sendok tanduk merk pudak
4. Pipet tetes merk pyrex 10ml
5. Kertas perkamen merk lokal
6. Neraca /timbangan ohaus
7. Baskom
8. Beaker glass merk pyrex 1000ml

##### **Bahan :**

1. Ekstrak daun kelor
2. Air
3. Gliserin merk brataco 10 gram
4. EDTA merck germany 0,6 gram
5. Foam boster amphitol merck KAO 6 gram
6. Pewarna merk food coloring 0,6 gram
7. Parfum bibit apel 2 gram

8. Soda ash merck 4 gram
9. SLES 270N merck 50 gram
10. Camperlan aminon merck 13 gram

### 3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : variabel bebas dalam penelitian ini adalah formula sediaan sabun cair dengan variasi ekstrak daun kelor.
2. Variabel terikat : Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil uji mutu fisik (pH,iritasi,viskositas,iritasi,uji antibakteri) dan hasil uji stabilitas fisik pada ekstrak daun kelor.

### 3.5 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 definisi operasional

Variabel	Definisi	Cara pengukuran	Skala pengukuran
Formula sediaan sabun cair	Zat hasil dari ekstrak daun kelor di daerah cemoro kandang	Uji fisik dan uji kimia	Rasio
Hasil dari uji sabun terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	Hasil dari uji tidak terdapat bakteri	Uji percentage kill	Prosentase

### 3.6 Sampel dan populasi

#### 3.6.1 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera*) berwarna hijau segar tanpa adanya bercak kuning, bintik-bintik putih dan berlubang dari tanaman yang berumur 2 bulan dengan selang waktu panen berikutnya tiap 2 bulan (Ni Nyoman Y and Desmira P.D. 2015). sampel daun kelor yang diambil dari daerah cemoro kandang malang.

#### 3.6.2 Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek yang diteliti yang memiliki kualitas dan karakter tertentu yang ditentukan oleh peneliti (Sugiyono, 2013). Populasi dalam penelitian ini yang digunakan adalah daun kelor.

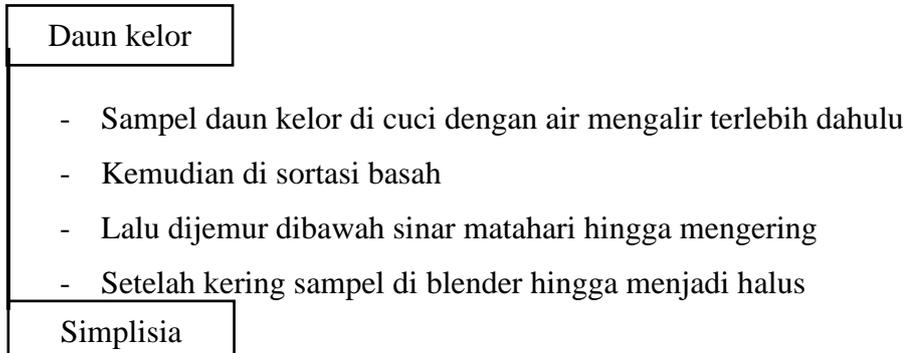
### 3.6.3 Teknik sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah simple random sampling, dimana teknik ini digunakan karena setiap unit atau anggota populasi itu bersifat homogen, sehingga anggota populasi mempunyai kesempatan yang sama untuk diambil sebagai sampel. Sampel merupakan bagian dari populasi yang diharapkan mampu mewakili populasi dalam penelitian (Khaniviyah, 2015).

## 3.7 Prosedur Penelitian

### 3.7.1 Preparasi sampel

Sampel daun kelor diperoleh dari perkebunan yang berada di daerah Cemoro Kandang, kemudian simplisia yang sudah diperoleh di cuci dengan air mengalir setelah itu dimaserasi dengan tujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Kotoran tersebut dapat berupa tanah, kerikil, rumput/gulma, tanaman lain yang mirip, bahan yang telah rusak atau busuk, serta bagian tanaman lain yang memang harus dipisahkan dan dibuang. Jemur dibawah sinar matahari hingga mengering kemudian dilakukan sortasi kering dan dihaluskan menggunakan blender.



### 3.7.2 Ekstraksi sampel

Metode ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, lalu semua semua pelarut diuapkan dan massa pada serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak (Pratiwi, 2010). Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel

sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Novitasari dan Putri, 2016).

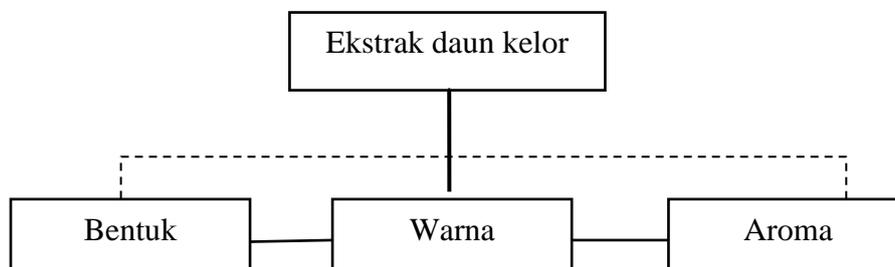
Umumnya ekstraksi metode maserasi menggunakan suhu ruang pada prosesnya, namun dengan menggunakan suhu ruang memiliki kelemahan yaitu proses ekstraksi kurang sempurna yang menyebabkan senyawa menjadi kurang terlarut dengan sempurna. Dengan demikian perlu dilakukan modifikasi suhu untuk mengetahui perlakuan suhu agar mengoptimalkan proses ekstraksi (Ningrum, 2017). Kelarutan zat aktif yang diekstrak akan bertambah besar dengan bertambah tingginya suhu. Akan tetapi, peningkatan suhu ekstraksi juga perlu diperhatikan, karena suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada bahan yang sedang diproses (Margaretta et al., 2011). Hal tersebut terbukti pada penelitian Kiswando (2011), bahwa proses pemanasan rendah dengan suhu 50°C secara kuantitatif menghasilkan rendemen ekstrak daun kelor lebih tinggi yaitu 11,41% dibandingkan tanpa proses pemanasan (9,98%).

Sampel
<ul style="list-style-type: none"><li>- Timbang sampel sebanyak 50 gram ekstrak daun kelor</li><li>- Masukkan setiap sampel yang sudah ditimbang kedalam toples</li><li>- Kemudian dimasukkan pelarut etanol 96% sebanyak 500ml kedalam toples</li><li>- Kemudian ditutup dan dibiarkan selama <math>\pm</math> 3hari</li><li>- Kemudian diaduk setiap 3 jam sekali</li><li>- Setelah 3 hari sampel di saring dengan kertas saring</li><li>- Kemudian dilakukan remaserasi selama sehari</li><li>- Lalu di saring dan dipindahkan kedalam cawan</li><li>- Lalu di waterbath selama 3 hari hingga mengental seperti madu</li></ul>
Hasil

### 3.7.3 Uji ekstrak daun kelor

#### a) Pemeriksaan organoleptic

Pemeriksaan pada Uji organoleptik meliputi uji bentuk, aroma, bau dan tekstur. Pemeriksaan ini dilakukan pada suhu kamar setiap minggu selama 6 minggu (Kementerian Kesehatan RI, 2016).



Gambar 3. 1 struktur ekstrak daun kelor

b) Pemeriksaan massa jenis

Piknometer yang sudah bersih dan kering ditimbang . Selanjutnya akuades dan sabun cair masing-masing dimasukkan ke dalam piknometer dengan menggunakan pipet tetes. Piknometer ditutup, volume cairan yang terbuang dibersihkan dengan menggunakan tisu dan dimasukkan ke dalam pendingin sampai suhunya menjadi 25°C. Kemudian piknometer didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit dan ditimbang bobot piknometer yang berisi air dan piknometer yang berisi sabun cair. Perhitungan bobot jenis dapat diketahui dengan menggunakan rumus pada persamaan:

$$\text{Perhitungan : bobot jenis (g/mL)} = \frac{c-a}{b-a}$$

a = bobot piknometer kosong

b = bobot piknometer + air

c = bobot piknometer + sabun cair

c) Uji kelarutan

Uji kelarutan dengan mencampur nanoemulsi dengan pelarut (1:1) yaitu heksan etil asetat, etanol, metanol (semuanya Merck, Darmstadt, Germany) dan air dengan nilai polaritas berturut-turut: 0, 38, 68, 73 dan 90 dalam gelas ukur 10 ml. Masing-masing campuran diaduk kemudian diamati kelarutannya setelah 6 jam (Jusnita et al., 2014).

### 3.7.4 Formulasi sabun

Tabel 3. 1 formulasi sabun

Komposisi	Formulasi			Fungsi
	F0	F1	F2	
Ekstrak daun kelor	0 g	2,5 g	5 g	Bahan aktif
Air	800 g	800 g	800 g	Sebagai pelarut
Gliserin	10 g	10 g	10 g	Melembabkan kulit
EDTA	0,6 g	0,6 g	0,6 g	Sebagai pengawet
Cocomidoprophyl betaine	6 g	6 g	6 g	Menambah busa
Pewarna	0,15 g	0,15 g	0,15 g	Memberikan warna
Sodium sulfat	25 g	25 g	25 g	Sebagai pengental
Parfum	2 g	2 g	2 g	Memberikan aroma
Soda ash	4 g	4 g	4 g	Membersihkan kotoran
SLES	50 g	50 g	50 g	Membersihkan lemak dan non lemak
Camperlan	15 g	15 g	15 g	Sebagai pengental

### 3.7.5 Pembuatan sediaan sabun

Praktikan mempersiapkan alat dan bahan yang akan di gunakan untuk pengujian, SLES sebanyak 50 gram ditambah dengan sodium sulfat 15 gram kemudian diaduk searah jarum jam sampai rata dan kelihatan putih. Setelah kelihatan putih ditambahkan air sedikit demi sedikit sampai ukuran 500 ml ,Kemudian ditambahkan camperlan dan air sebanyak 300 ml kemudian tambahkan sodium sulfat sebanyak 10 gram dan diaduk hingga rata, lalu ditambahkan soda ash sebanyak 4 gram dan ditambahkan foam booster lalu diaduk Kembali hingga merata kemudian ditambahkan gliserin lalu diaduk Kembali. Kemudian ditambahkan EDTA sebanyak 0,6 gram diaduk sampai rata dan didiamkan sebentar,kemudian ditambahkan ekstrak daun kelor dan diaduk sampai rata,lalu ditambahkan Pewarna secukupnya dan diaduk sampai rata. Ditambahkan Parfum secukupnya dan diaduk sampai rata. Diamkan beberapa jam dan siap dikemas dalam botol,kemudian beri label pada botol tersebut.

### Sampel

1. Praktikan mempersiapkan alat dan bahan yang akan di gunakan untuk pengujian
2. SLES sebanyak 50 gram ditambah dengan sodium sulfat 15 gram kemudian diaduk searah jarum jam sampai rata dan kelihatan putih.
3. Setelah kelihatan putih ditambahkan air sedikit demi sedikit sampai ukuran 500 ml ,
4. Kemudian ditambahkan camperlan dan air sebanyak 300 ml kemudian tambahkan sodium sulfat sebanyak 10 gram dan diaduk hingga rata.
5. lalu ditambahkan soda ash sebanyak 4 gram dan ditambahkan foam booster lalu diaduk Kembali hingga merata
6. kemudian ditambahkan gliserin lalu diaduk Kembali.
7. Kemudian ditambahkan EDTA sebanyak 0,6 gram diaduk sampai rata dan didiamkan sebentar,
8. kemudian ditambahkan ekstrak daun kelor dan diaduk sampai rata,lalu ditambahkan Pewarna secukupnya dan diaduk sampai rata. Ditambahkan Parfum secukupnya dan diaduk sampai rata.
9. Diamkan beberapa jam dan siap dikemas dalam botol,kemudian beri label pada botol tersebut

### Hasil

#### 3.7.6 Evaluasi sabun cair cuci tangan

1. Uji organoleptic  
Uji Organoleptik dilakukan untuk mengamati bentuk, warna dan bau sediaan sabun cair ekstrak daun kelor
2. persiapan contoh uji
  - a) Contoh sebelum diambil untuk pengujian harus dikocok terlebih dahulu secara merata
  - b) Tepatkan contoh uji pada wadah yang bersih ,kering dan tidak menyerap
  - c) Simpan contoh uji ditempat yang bersih dan kering
  - d) Tutup rapat dan beri table identifikasi
3. PH

- a) Air suling yang digunakan bersuhu ruang
- b) Larutan standar buffer pH 4
- c) Larutan standar buffer pH 7
- d) Larutan standar buffer pH 10

### 3.1 Peralatan

- a. Ph meter
- b. Pengaduk magnetic
- c. Labu ukur 1000 ml
- d. Beaker glass
- e. Neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg
- f. Thermometer dengan ketelitian 0,1°C

### 3.2 Persiapan larutan contoh uji

- a. Timbang ( $1 \pm 0,001$ )g contoh dan pindahkan kedalam labu ukur 1.000 ml
- b. Isi Sebagian labu dengan air suling bebas  $CO_2$  dan aduk hingga contoh uji terlarut
- c. Tambahkan air suling bebas  $CO_2$  hingga tanda tera , tutup labu ukur dan homogenkan
- d. Tuangkan kedalam beaker glass
- e. Diamkan larutan untuk mencapai kesetimbangan pada suhu ruang ( $25 \pm 2.0$ )°c

### 3.3 Cara kerja

- a. Kalibrasi ph meter dengan larutan standar buffer
- b. Bilas dengan air suling bebas  $CO_2$  dan keringkan elektroda dengan tisu
- c. Celupkan elektroda kedalam larutan conth uji sambil diaduk
- d. Catat hasil pembacaan ph pada tampilan ph meter

### 4. Uji bobot jenis

- a. Bobot jenis ditetapkan dengan menggunakan alat Piknometer.
- b. Kemudian Piknometer dibersihkan dan dikeringkan terlebih dahulu.
- c. Pada suhu kamar, piknometer yang kosong ditimbang.
- d. Kemudian piknometer tersebut diisi dengan air sampai penuh dan kembali ditimbang.
- e. Kemudian Air dikeluarkan dari piknometer dan dikeringkan.
- f. Kemudian sampel diisikan kedalam piknometer sampai penuh dan ditimbang.
- g. Kemudian dihitung dan ditetapkan bobot jenis sampel.

### 5. Penentuan bahan yang larut dalam etanol

### 5.1 Pereaksi

- a. Etanol 95 %
- b. Etanol 99,5 %

### 5.2 Peralatan

- a. Erlemenyer 300ml
- b. Kondensor
- c. Neraca analitik dengan ketelitian 1mg
- d. Penangas air
- e. Penyaring gelas
- f. Beaker glass 200 ml
- g. Labu ukur 250 ml
- h. Pipet volume 100ml
- i. Oven ( $105 \pm 2$ )°c

### 5.3 Cara kerja

- a. Timbang ( $5 \pm 0.001$ )g sampel dan masukan kedalam erlemenyer 300ml
- b. Kemudian tambahkan 100ml etanol (99,5%) hibungkan dengan pendingin tegak, kemudian panaskan selama 30 menit diatas penganas air sambil sesekali diaduk
- c. Searing larutan hangat dengan menggunakan penyaring gelas dan bilas sisa larutan yang menempel di erlemenyer dengan 50 ml etanol (95%)
- d. Dinginkan filtrat dengan suhu ruang
- e. Pindahkan filtrat kedalam labu ukur 250 ml dan tambahkan etanol (95%) sampai tanda batas
- f. Ambil pipet volumetri 100ml dan pindahkan kedalam gelas piala 200ml yang telah diketahui bobot kosongnya
- g. Panaskan diatas penganas air untuk menghilangkan etanolnya
- h. Keringkan didalam oven ( $105 \pm 2$ )° c selama 1 jam
- i. Dinginkan dalam desikator sampai bobot seimbang lalu ditimbang
- j. Hitung kadar bahan yang larut dalam etanol menggunakan persamaan:

$$c_{et} = \frac{A}{s \times \left(\frac{100}{250}\right)} \times 100 = \frac{250 \times A}{s}$$

Keterangan :

$c_{et}$  : adalah bahan yang larut dalam etanol % fraksi massa

A : adalah sisa bahan setelah pengeringan g

S : adalah bobot contoh

$\left(\frac{100}{250}\right)$  : adalah  $\frac{\text{volume filtrat yang didapat}}{\text{volume akhir contoh}}$

## 6. Penentuan bahan yang tidak larut dalam petroleum eter

### 6.1 Pereaksi

- Petroleum eter , didistilasi pada suhu (30–60 )° C
- Larutan campuran etanol dan air dalam jumlah yang sama
- Natrium sulfat anhidrat
- Larutan sodium hidrosida 0,5 mol/l
- Indicator fenoltalein 1% bobot / volume 1 g fenoltalein dilarutkan didalam etanol 100 ml

### 6.2 Peralatan

- Erlemenyer
- Neraca analitik dengan kelebihan 1 mg
- Corong pemisah
- Penganas air
- Kertas saring dengan 20  $\mu\text{m}$

### 6.3 Cara kerja

- Timbang ( $10 \pm 0.001$ ) g sampel dan masukan kedalam erlemenyer 300 ml
- Larutkan dalam 200 ml larutan campuran air – etanol
- Saring jika ada bahan yang tidak larut
- Tambahkan 5 ml larutan natrium hidrosida 0,5 mol/l tambahkan beberapa tetes larutan indikator fenoltalein untuk memastikan bahwa larutan telah basa
- Pindahkan ke corong pemisah 500 ml , ekstrak tiga kali dengan masing – masing 50 ml petroleum eter . Jika emulsi semakin banyak , tambahkan sedikit etanol untuk menghilangkannya
- Pada lapisan petroleum eter dicuci tiga kali dengan masing – masing 30 ml larutan campuran air–etanol dan dicuci 30 ml air suling
- Keringkan dengan natrium sulfat anhidrat samapai ada lapisan air
- Saring menggunakan kerta saring kering ke dalam erlemenyer 300ml yang telah diketahui bobotnya , bilas kertas saring dengan sedikit petroleum eter
- Panaskan larutan dalam penganas air untuk menguapkan petroleum eter biarkan erlemenyer didalam desikator sampai suhu ruang

- j. Alirkan udara kering kedalam erlenmeyer untuk menghilangkan sisa petroleum eter hilang
- k. Timbang sampai bobot tetap
- l. Hitung kadar bahan yang larut dalam petroleum eter menggunakan persamaan

:

$$c_{pe} = \frac{A}{S} \times 100$$

**Keterangan :**

$c_{pe}$  : adalah bahan yang larut dalam petroleum eter % fraksi massa

A : adalah jumlah yang terektraksi dalam petroleum eter

S : adalah bobot sampel

#### 6.4 Penentuan kandungan total bahan aktif

Kandungan total bahan aktif =  $c_{et} - c_{pe}$

Keterangan :

Total bahan aktif % fraksi massa

$c_{et}$  = adalah bahan yang larut dalam etanol % fraksi massa

$c_{pe}$  = adalah bahanyang larut dalam petroleum eter . % fraksi massa

#### 7. Bahan yang tidak larut dalam etanol

##### 7.1 Pereaksi

- a. Etanol netral
- b. Etanol 95% atau lebih ,dipanaskan dan netral terhadap fenolftalein dengan penambahan koh 0,1 n

##### 7.2 Peralatan

- a. Neraca analitik dengan ketelitian 1mg
- b. Oven
- c. Pompa vakum
- d. Penganas air
- e. Erlenmeyer tutup asam
- f. Kertas sering dengan porositas 20  $\mu$ m atau cawan gooch (g4)
- g. Pendingin tegak

##### 7.3 Cara kerja

- a. Larutkan 5 g sampel uji  $b_1$  dengan 200ml etanol netral kedalam erlenmeyer tutup asah dan pasang pendingin tegak ,panaskan diatas penganas air sampai sabun terlarut sepenuhnya
- b. Keringkan kertas saring dalam oven pada suhu (100–105)<sup>o</sup>c selama 30 menit
- c. Biarkan kertas saring dingin
- d. Timbang kertas saring cawan gooch
- e. Ulangi cara kerja b samapai d sampai bobot tetap
- f. Tempatkan kertas saring atau cawan gooch pada corong diatas labu erlenmeyer yang sudah dirangkai dengan pompa vakum
- g. Saat sabun terlarut seluruhnya tuang cairan ke kertas saring atau cawan gooch
- h. Lindungi larutan dari karbondioksida dan asap asam selama proses dengan menutupnya menggunakan pendingin tegak
- i. Cuci bahan yang tak larut dalam erlenmeyer pertama dan cuci dengan etanol netral
- j. Tuang cairan cucian tadi ke kertas saring atau gooch
- k. Cuci residu kertas saring atau cawan gooch dengan etanol netral sampai seluruhnya bebas sabun
- l. Simpan filtratnya untuk menguji alkali bebas
- m. Keringkan kertas saring atau cawan gooch serta residu dalam oven pada suhu (100–105)<sup>o</sup>c selama 3 jam
- n. Biarkan dingin
- o. Timbang kertas saring atau cawan gooch tersebut
- p. Bahan tak larut dalam etanol =  $\frac{b_2 - b_0}{b_1} \times 100$

**Keterangan :**

Bahan yang tidak larut dalam etanol dinyatakan dalam %. Fraksi massa

$b_0$ = adalah bobot kertas saring atau cawan gooch kosong

$b_1$ = adalah bobot sampel

$b_2$ = adalah bobot kertas saring atau cawan gooch kosong dan residu

8. Alkali bebas

8.1 pereaksi

- a. Larutan standar KOH 0,1 N alkoholis

b. Larutan standar hcl 0.1 N alkoholis

c. Indikator fenolftalein

## 8.2 peralatan

a. Erlenmeyer 250 ml

b. Penganas air

## 8.3 cara kerja

a. Panaskan filtrat dari penentuan bahan tak larut dalam alkohol

b. Saat hampir mendidih masukan 0,5 indikator fenolftalein 1%

c. Jika larutan tersebut bersifat asam (petunjuk fenolftalein tidak berwarna) titrasi larutan standar koh sampai timbul warna merah muda yang stabil

d. Jika larutan tersebut bersifat alkali (petunjuk fenolftalein berwarna merah ) titrasi larutan hcl sampai warna merah tepat hilang

e. Hitung menjadi naoh jika alkali atau menjadi asam oleat jika asam

$$\text{Alkali bebas} = \frac{40 \times v \times n}{b} \times 100$$

Keterangan:

Alkali bebas dinyatakan dalam satuan %. Fraksi masa

V = adalah volume HCl yang digunakan ml

N = adalah normalitas HCl yang digunakan

b = adalah bobot contoh uji mg

40 = adalah berat ekuivalen NaOH

## 9. asam lemak bebas

### 9.1 Pereaksi

a. Larutan standar KOH 0,1 N alkoholis

b. Larutan standar hcl 0.1 N alkoholis

c. Indikator fenolftalein

### 9.2 Peralatan

a. Erlenmeyer 250 ml

b. Penganas air

### 9.3 Cara kerja

a. Panaskan filtrat dari penentuan bahan tak larut dalam alkohol

b. Saat hampir mendidih masukan 0,5 indikator fenolftalein 1%

c. Jika larutan tersebut bersifat asam (petunjuk fenolftalein tidak berwarna) titrasi larutan standar koh sampai timbul warna merah muda yang stabil

- d. Jika larutan tersebut bersifat alkali (petunjuk fenolftalein berwarna merah ) titrasi larutan hcl sampai warna merah tepat hilang
- e. Hitung menjadi naoh jika alkali atau menjadi asam oleat jika asam

$$\text{Asam lemak bebas} = \frac{282 \times V \times N}{b} \times 100$$

Keterangan:

Asam lemak bebas dinyatakan dalam satuan %. Fraksi masa

V = adalah volume KOH yang digunakan ml

N = adalah normalitas KOH yang digunakan

b = adalah bobot contoh uji mg

282 = adalah berat ekuivalen asamasetat  $C_{18}H_{34}O_2$

### 3.7.7 Uji sabun terhadap bakteri

Metode yang digunakan adalah *percentage kill*. Pengujian Percentage kill merupakan metode dalam menentukan efektivitas antimikroba dengan teknik plate count dan analisis dari persen dan log reduksi. Setelah dilakukan persiapan kultur bakteri, tempatkan sejumlah sampel uji yang cukup untuk kegiatan pengujian kedalam cawan petri steril. Kemudian sejumlah kultur bakteri yang akan diuji, diinokulasi kedalam cawan petri sebelumnya dan kemudian segera diaduk. Setelah waktu kontak yang telah ditentukan, sejumlah kecil dari campuran bakteri dan sampel uji diambil, dan dimasukkan kedalam cawan berisi agar nutrisi dan kemudian diinkubasi dan hitung menggunakan rumus untuk menghitung reduksi log. (lucky jayadi and sandry kesuma, 2021). langkah pertama dilakukan penentuan Colony Forming Unit (CFU). Satu koloni biakan murni bakteri *Escherichia coli* diambil dengan menggunakan ose steril dari kultur bakteri, dilanjutkan disuspensikan dalam tabung yang berisi 10ml NaCL 0,9%. Lalu dibuat pengenceran dari suspensi bakteri tersebut kedalam 9 tabung yang berisi NaCl 0,9%. Dipipet 1 ml dari setiap tabung pengenceran. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35<sup>0</sup>C selama 1 x 24 Jam. Kemudian dibandingkan dengan kekeruhan yang sama dengan larutan standar MC. Farland.

Kedua, dilakukan uji percentage kill. Dipipet sebanyak 0,5ml suspense bakteri yang kekeruhannya sama dengan larutan standar MC.Farland yang menghasilkan jumlah koloni 100-200 pada penentuan CFU dicampur dengan 4,5ml sampel A. Setelah 1 menit . Dipipet 1 ml dimasukkan ke dalam tabung 1A yang telah berisi 9ml akuades

steril. Sebanyak 0,5ml suspense jamur dan 4,5 ml sampel B dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril, setelah 2 menit . Dipipet 1 ml dimasukkan ke dalam tabung 1B yang telah berisi 9ml akuades steril. Sebanyak 0,5ml suspense bakteri dan 4,5 ml sampel C dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril, setelah 5 menit. Dipipet 1 ml dimasukkan ke dalam tabung 1C yang telah berisi 9 ml akuades steril. Sebagai control, sebanyak 0,5ml suspense bakteri dicampur dengan 4,5ml aquades dimasukkan kedalam tabung reaksi steril. Kemudian tabung-tabung pengencer di vortex. Kemudian dipipet 1 ml suspense dari setiap tabung dimasukkan ke cawan petri steril dan dituangkan media MHA cair sebanyak 15ml dengan suhu 50<sup>0</sup>C. Cawan petri digoyang membentuk angka delapan diatas permukaan meja agar media dan suspense bakteri tercampur rata dan dibiarkan hingga memadat. Diinkubasi selama 1 x 24jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.

Control koloni dihitung menggunakan coloni counter yang kemudian hasilnya dibandingkan dengan 0,5 MC farland apabila kekeruhan pengenceran sama dengan MC farland maka control koloni memenuhi persyaratan untuk dijadikan sebagai control. Kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol dan dihitung rata-rata jumlah koloni.

Kemampuan sabun cair dalam membunuh pertumbuhan *Escherichia coli* dilihat dengan menghitung percentage kill.

Dengan rumus : Percentage kill =  $\frac{(C-x)}{C} \times 100\%$

Keterangan:

C : Jumlah koloni control

X : Jumlah koloni yang diteliti

Bakteri <i>Escherichia coli</i>
Diambil 1 sengkeli bakteri
Dimasukkan ke dalam 10 ml NaCl 0,9%
Dibuat pengenceran ke dalam 9 tabung yang berisi NaCl 0,9%
Diteteskan masing-masing 1 ml ke plat dan agar sabouraud
Diinkubasi selama 1 x 24jam
Dihitung masing-masing jumlah koloni
Sampel
Diambil 0,5 ml

Dicampur dengan 4,5 ml sabun ekstrak daun kelor  
 Dibiarkan selama 1 menit  
 Diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung A  
 Setelah 2 menit diambil 1 ml suspensi  
 Dimasukkan ke dalam tabung B  
 Setelah 5 menit diambil 1 ml suspensi  
 Kemudian dimasukkan ke dalam tabung C  
 Tabung pengencer divortex  
 1 ml suspensi dari tiap tabung dituang ke dalam plat  
 Dituangkan agar MHA ke dalam plat  
 Diinkubasi selama 1 x 24 jam  
 Dihitung koloni yang tumbuh

Hasil
-------

### 3.7.8 Analisa data

Data analisis yang digunakan yaitu metode analisis deskriptif. Data disajikan dalam bentuk tabel, grafik, dengan menggunakan gambar sesuai dengan hasil yang ditemukan. Analisis deskriptif ini berfungsi untuk menganalisis data hasil karakteristik sediaan sabun dengan membandingkan hasil penelitian dengan berbagai metode standar.

### 3.7.9 Data yang diperoleh disajikan menggunakan bentuk tabel sebagai berikut:

a. Hasil evaluasi pengujian sabun cair cuci tangan :

Tabel 3. 2 hasil evaluasi pengujian sabun cair cuci tangan

No	Kriteria uji	Satuan	Hasil
1	pH	% fraksi masa	
2	Bobot jenis	% fraksi masa	
3	Total bahan aktif	% fraksi masa	
4	Bahan tidak larut dalam etanol	% fraksi masa	

5	Alkali bebas (dihitung sebagai NaOH)	% fraksi masa	
6	Asam lemak bebas (dihitung sebagai Asam Oleat)	% fraksi masa	

b. hasil pengujian sabun cair cuci tangan ekstrak daun kelor sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*:

Tabel 3. 3 hasil pengujian sabun cair cuci tangan ekstrak daun kelor

No	Konsentrasi daun kelor dalam sabun	Hasil percentange kill
1	F0	
2	F1	
3	F2	