

**FORMULASI SEDIAAN SABUN CAIR SARI AIR BUNGA
KECOMBRANG (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith), DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

OLEH:

DEMAWANI SITOANG

NIM: 1904021



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH
MEDAN
2022**

**FORMULASI SEDIAAN SABUN CAIR SARI AIR BUNGA
KECOMBRANG (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith), DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

Diajukan Untuk Melengkapi Dan Memenuhi Syarat-Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Farmasi Pada Program Studi Sarjana Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan

OLEH:

DEMAWANI SITOANG

NIM: 1904021



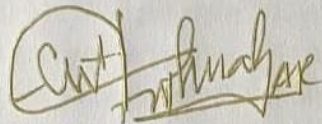
**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH
MEDAN
2022**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH**

TANDA PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Demawani Sitohang
NPM : 1904021
Program Studi : Sarjana Farmasi
Jenjang Pendidikan : Strata Satu (S-1)
Judul Skripsi : Formulasi sediaan sabun cair sari air bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith), dan uji aktifitas antibakteri.

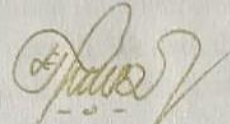
Pembimbing I



(Dr. apt. Hj. Cut Fatimah, M.Si.)

NIDN : 9990275012

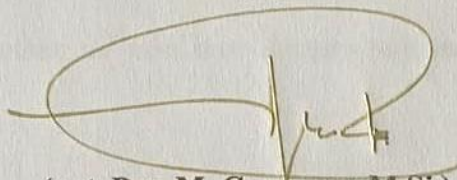
Pembimbing II



(Enny Fitriani, SE., S.Pd., M.Psi.)

NIDN : 0125088001

Penguji



(apt. Drs. M. Gunawan, M.Si.)

NIDN : 0003056711

DIUJI PADA TANGGAL : 21 Desember 2022

YUDISIUM : 21 Desember 2022

Panitia Ujian

Ketua



(Andilala, S. Kep., Ners., M.K.M)

NIDN: 0129017901

Sekretaris



(Dr. apt. Hj. Cut Fatimah, M.Si.)

NIDK. 9990275012

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Demawani Sitohang
NPM : 1904021
Program Studi : Sarjana Farmasi
Jenjang Pendidikan : Strata Satu (S-1)
Judul Skripsi : Formulasi sediaan sabun cair sari air bunga
kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.
Smith), dan uji aktivitas antibakteri

Menyatakan bahwa skripsi yang saya buat ini adalah untuk memenuhi persyaratan kekelulusan di Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan. Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, bukan duplikasi dari karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan yang lain atau yang pernah dimuat di suatu publikasi ilmiah, kecuali dalam bentuk kutipan yang telah disebutkan sumbernya dalam pustaka.

Selanjutnya apabila dikemudian hari ada pengaduan dari pihak lain, bukan menjadi tanggung jawab dosen pembimbing, penguji dan/atau pihak Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan, tetapi menjadi tanggung jawab saya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan tanpa paksaan dari siapapun.

Medan, September 2022
Yang menyatakan

Demawani Sitohang
1904021

FORMULASI SEDIAAN SABUN CAIR SARI AIR BUNGA KECOMBRANG (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith), DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Demawani Sitohang

NIM: 1904021

ABSTRAK

Kesehatan kulit harus dijaga dan dibersihkan dari kotoran yang melekat, karena kotoran merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri dan dapat menyebabkan infeksi. maka diperlukan bahan untuk membersihkan kulit sekaligus sebagai pencegahan terjadinya infeksi kulit, hal ini dapat dilakukan dengan penggunaan sabun yang mempunyai aktivitas antibakteri. Di pasaran banyak beredar sabun antiseptik mengandung antibakteri sintetis, namun sering menimbulkan efek samping, maka perlu dibuat sabun yang mengandung antibakteri alami. Bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) mengandung senyawa kimia terutama polifenol yang mempunyai aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan skrining fitokimia dari bunga kecombrang, memformulasikan sabun cair antiseptik mengandung sari air bunga kecombrang sebagai antibakteri dan melakukan uji aktivitas antibakteri.

Tahapan penelitian meliputi : skrining fitokimia bunga kecombrang, formulasi sabun cair mengandung sari air bunga kecombrang (SBK) 10%, 20%, dan, 30%, evaluasi sabun cair meliputi: stabilitas, tinggi busa, pH, iritasi dan uji kesukaan. Uji aktivitas antibakteri sabun cair terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* serta bakteri dari spesimen air cuci tangan sukarelawan,

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sari air bunga kecombrang mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid, dan glikosida, dapat diformulasikan dalam sediaan sabun cair memenuhi syarat mutu fisik. Sabun cair SBK 20% yang paling baik karena sangat disukai panelis, aktivitas antibakteri kuat dengan diameter hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ($15,70 \pm 0,57$) mm, dan *Escherichia coli* ($14,60 \pm 0,57$) mm, terhadap spesimen cuci tangan sukarelawan, SBK 20% diperoleh pengurangan bakteri 39,85 %. SBK 30%, diperoleh diameter hambatan pertumbuhan bakteri lebih besar, dan pengurangan bakteri pada spesimen cuci tangan lebih besar yaitu 80,09%, namun kurang disukai panelis dari segi warna dan bau

Kata Kunci : Bunga kecombrang, sabun cair, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, spesimen air cuci tangan sukarelawan

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat dan kasih karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai tugas akhir dalam memperoleh gelar Sarjana di Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan.

Skripsi dengan judul “Formulasi Sediaan Sabun Antiseptik Sari Bunga kecombrang dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*“ diharapkan dapat menambah pengetahuan penulis dan bagi semua orang yang membaca tulisan ini. Penulis menyadari tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sangat tidak mungkin penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu dengan penuh rasa hormat penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak H. Abdul Haris Syarif Hasibuan, SE., selaku Pembina Yayasan Indah Medan.
2. Bapak dr. Riski Ramadhan Hasibuan, SH., SE., M.K.M., selaku Ketua Yayasan Indah Medan.
3. Bapak Andilala, S. Kep., Ners., M.K.M., sebagai Ketua STIKes Indah Medan.
4. Ibu Dr. apt. Cut Fatimah, M.Si., sebagai Ketua Prodi S1 Farmasi STIKes Indah Medan dan selaku Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikirannya kepada penulis.

5. Ibu Enny Fitriani, SE., S.Pd., M.Psi, selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, kritik, dan saran kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Bapak/Ibu Dosen serta Staff pegawai di Program Studi S1 Farmasi STIKes Indah Medan yang telah mendidik dan membimbing panelis saya sampai sekarang ini.
7. Teristimewa kepada suami dan ketiga anak saya yang tiada henti – hentinya mendoakan dan memberikan semangat dan dukungan baik dari segi materi maupun doa.
8. Terima kasih juga kepada semua sahabat seangkatan tanpa menyebut satu per satu.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebut satu per satu yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini.

Penulis mendoakan semoga kebaikan yang diberikan oleh pihak yang disebutkan di atas mendapat balasan dari Tuhan Yang Maha Esa diberikan umur panjang dan kesehatan selalu. Penulis menyadari skripsi ini jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis terbuka dalam menerima kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk kita semua.

Medan, September 2022
Penulis

Demawani Sitohang

DAFTAR ISI

HALAMAN

JUDUL

LEMBAR PENGESAHAN

SURAT PERNYATAAN

ABSTRAK i

KATA PENGANTAR..... ii

DAFTAR ISI..... iv

DAFTAR TABEL ix

DAFTAR GAMBAR.....x

DAFTAR LAMPIRAN xi

BAB I. PENDAHULUAN1

1.1 Latar Belakang1

1.2 Perumusan Masalah3

1.3 Hipotesa.....3

1.4 Tujuan Penelitian4

1.5 Manfaat Penelitian4

1.6 Kerangka Pikiran5

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA6

2.1 Tanaman Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith)6

2.1.1 Sistematika tumbuhan bunga kecombrang.....7

2.1.2 Kandungan kimia bunga kecombrang8

2.1.3 Khasiat bunga kecombrang8

2.2 Bakteri9

2.2.1 Penggolongan bakteri9

2.2.2 Fase pertumbuhan bakteri13

2.2.3	Pengecatan bakteri	14
2.2.4	Media pertumbuhan bakteri	15
2.2.5	Metode inokulasi biakkan bakteri	16
2.3	Antimikroba	17
2.3.1	Target kerja antimikroba	17
2.3.2	Uji aktivitas antimikroba	19
2.3.3	Daya hambat bakteri	21
2.4	Metode Lempeng Total Cawan.....	22
2.5	<i>Staphylococcus Aureus</i>	23
2.5.1	Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.5.2	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.6	<i>Escherichia Coli</i>	25
2.6.1	Morfologi <i>Escherichia coli</i>	25
2.6.2	Sistematika <i>Escherichia coli</i>	25
2.7	Kulit	26
2.7.1	Fungsi kulit	26
2.7.2	Struktur kulit	27
2.8	Sabun	28
2.8.1	Sabun mandi cair	29
2.8.2	Bahan-bahan formulasi sabun mandi cair dan fungsinya.....	29
2.8.2.1	Minyak lemak sebagai sumber asam lemak	30
2.8.2.2	Kalium hidroksida (KOH)	32
2.8.2.3	Carboksil metil selulosa (CMC)	32
2.8.2.4	Asam stearate	32
2.8.2.5	Sodium Lauril Sulfat (SLS)	32
2.8.2.6	Butil Hidroksida Toluena (BHT)	32
2.8.3	Sifat sabun	32
2.9	Uraian Kimia Metabolit Sekunder di Dalam Tumbuhan.....	34
2.9.1	Flavonoid.....	34
2.9.2	Alkaloid	35
2.9.3	Tanin	36
2.9.4	Steroida dan triterpenoida	39
2.9.5	Glikosida	40

2.9.6	Saponin	41
-------	---------------	----

BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....42

3.1	Rancangan Penelitian	42
3.1.1	Variabel penelitian.....	42
3.1.2	Parameter penelitian	42
3.2	Jadwal dan Lokasi Penelitian.....	42
3.3	Bahan-bahan yang Digunakan	43
3.4	Alat-alat yang Digunakan	43
3.5	Persiapan Sampel	43
3.5.1	Identifikasi tumbuhan kecombrang	43
3.5.2	Pengumpulan bunga kecombrang	43
3.5.3	Pembuatan sari bunga kecombrang	43
3.6	Skrining Fitokimia	44
3.6.1	Pembuatan larutan pereaksi	44
3.6.2	Larutan pereaksi Bouchardat.....	44
3.6.3	Larutan pereaksi Dragendrof.....	44
3.6.4	Larutan pereaksi Mayer	44
3.6.5	Larutan pereaksi Molish	44
3.6.6	Larutan pereaksi asam klorida 2 N.....	45
3.6.7	Larutan pereaksi asam sulfat 2 N	45
3.6.8	Larutan pereaksi natrium hidroksida 2 N	45
3.6.9	Larutan pereaksi Lieberman-Bouchard	45
3.6.10	Larutan pereaksi besi (III) klorida 1 %	45
3.6.11	Larutan pereaksi timbal (II) asetat 0,4 M	45
3.6.12	Larutan pereaksi Fehling A.....	45
3.6.13	Larutan pereaksi Fehling B	45
3.6.14	Pemeriksaan skrining fitokimia.....	46
3.6.14.1	Pemeriksaan alkaloid.....	46
3.6.14.2	Pemeriksaan flavonoid	46
3.6.14.3	Pemeriksaan saponin.....	47
3.6.14.4	Pemeriksaan tannin	47
3.6.14.5	Pemeriksaan steroid/triterpenoid	48

3.6.14.6 Pemeriksaan glikosida.....	48
3.7 Pembuatan Sediaan Sabun Cair	49
3.8 Evaluasi Formula Sabun Cair	50
3.8.1 Pengujian stabilitas sediaan.....	50
3.8.2 Pengujian tinggi busa	51
3.8.3 Pengujian pH sediaan.....	51
3.8.4 Pengujian iritasi pada sukarelawan.....	51
3.8.5 Pengujian kesukaan (<i>hedonic test</i>)	52
3.9 Sterilisasi Alat	52
3.10 Pembuatan Media	53
3.10.1 Pembuatan media <i>Muller Hilton Agar</i> (MHA)	53
3.10.2 Pembuatan media <i>Nutrient Agar</i> (NA)	53
3.10.3 Pembuatan media <i>nutrient agar</i> miring	54
3.10.4 Pembuatan media <i>Manitol Salt Agar</i> (MSA)	54
3.10.5 Pembuatan media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)	54
3.10.6 Pembuatan suspensi standar <i>Mc. Farland</i>	55
3.10.7 Pembuatan larutan Natrium Klorida 0,9%	55
3.11 Persiapan Bakteri.....	56
3.11.1 Identifikasi bakteri	56
3.11.2 Peremajaan bakteri.....	57
3.11.3 Pembuatan inokulum	57
3.12 Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair	58
3.13 Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Spesimen Cuci Tangan Sukarelawan	58
3.13.1 Pengenceran sampel	58
3.13.2 Pengujian perhitungan angka lempeng total bakteri.....	59
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	61
4.1 Hasil Identifikasi Tumbuhan	61
4.2 Hasil Skrining Fitokimia	61
4.3 Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Sabun Cair	63
4.3.1 Pengamatan stabilitas sediaan	63
4.3.2 Pengamatan tinggi busa	64
4.3.3 Hasil uji iritasi	65

4.3.4 Hasil uji pH sediaan	66
4.3.5 Hasil Uji Kesukaan (<i>Hedonic Test</i>)	67
4.3.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair	69
4.3.7 Hasil Uji Aktivitas ALT Terhadap Spesimen Cuci Tangan	72
BAB V KESIMPULAN	76
5.1 Kesimpulan	76
5.2 Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	77

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri	22
Tabel 4.1	Formula sabun cair antibakteri sari air bunga kecombrang	49
Tabel 4.2	Hasil skrining fitokimia	61
Tabel 4.3	Hasil pengamatan stabilitas fisik sediaan sabun	63
Tabel 4.4	Hasil pengamatan tinggi busa sediaan sabun	64
Tabel 4.5	Hasil uji iritasi sediaan sabun terhadap sukarelawan	65
Tabel 4.6	Hasil pengukuran pH sediaan	66
Tabel 4.7	Hasil pengamatan organoleptis sediaan sabun	67
Tabel 4.8	Hasil uji interval nilai kesukaan sediaan sabun	68
Tabel 4.9	Diameter hambatan pertumbuhan bakteri.....	70
Tabel 4.10	Hasil perhitungan penurunan koloni bakteri.....	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.2	Kerangka piker penelitian	5
Gambar 2.1	Tumbuhan kecombrang	7
Gambar 2.2	Bunga kecombrang	7
Gambar 2.3	Bakteri bentuk coccus	10
Gambar 2.4	Bakteri bentuk basil	10
Gambar 2.5	Bakteri bentuk spiral	10
Gambar 2.6	Kurva pertumbuhan bakteri	14
Gambar 2.7	<i>Staphylococcus aureus</i>	24
Gambar 2.8	<i>Escherichia coli</i>	25
Gambar 2.6	Struktur kulit	26
Gambar 2.7	Struktur dasar flavonoid	35
Gambar 2.8	Struktur senyawa efedrina	35
Gambar 2.9	Struktur senyawa isoquinolin	36
Gambar 2.10	Contoh struktur tanin terhidrolisis	37
Gambar 2.11	Struktur katekol	38
Gambar 2.12	Struktur pirogalol.....	38
Gambar 2.13	Struktur dasar steroid	39
Gambar 2.14	Contoh struktur sterol (stigmasterol)	39
Gambar 2.15	Contoh struktur glikosida	40
Gambar 2.16	Contoh struktur saponin	41
Gambar 4.1	Histogram persen penurunan jumlah koloni bakteri basil	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil identifikasi tumbuhan bunga kecombrang	79
Lampiran 2.	Gambar tumbuhan kecombrang dan bunga	80
Lampiran 3.	Alat – alat yang digunakan	81
Lampiran 4.	Bagan alir penelitian	82
Lampiran 5.	Bagan alir uji aktivitas antibakteri.....	83
Lampiran 6.	Bagan alir uji aktivitas antibakteri (ALT) terhadap spesimen saliva	84
Lampiran 7.	Gambar hasil uji skrining fitokimia	85
Lampiran 8.	Gambar Formula <i>sabun cair</i> mengandung sari air bunga kecombrang.....	86
Lampiran 9.	Hasil uji pH	87
Lampiran 10.	Format surat pernyataan uji iritasi	88
Lampiran 11.	Contoh lembar kuisioner uji kesukaan (<i>hedonic test</i>)	89
Lampiran 12.	Contoh perhitungan rentang kesukaan	93
Lampiran 13.	Data dan perhitungan rentang kesukaan berbagai formula sediaan sabun cair SBK	94
Lampiran 14.	Data hasil pengukuran diameter hambatan pertumbuhan bakteri oleh sediaan gel <i>Hand Sanitizer</i> bunga kecombrang	98
Lampiran 15.	Gambar hasil pengukuran diameter hambatan pertumbuhan bakteri oleh sediaan sabun cair SBK	99
Lampiran 16.	Contoh perhitungan jumlah koloni bakteri hasil uji ALT pada air cuci tangan sebelum penggunaan sabun cair	101

Lampiran 17.	Contoh perhitungan statistik persen pengurangan jumlah koloni bakteri	104
Lampiran 18.	Data dan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri hasil uji ALT sabun	106

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebersihan tangan merupakan suatu keadaan bebasnya kotoran, debu dan mikroorganisme dari kulit tangan. Mikroorganisme pada kulit tangan dapat menyebabkan infeksi dapat diatasi dengan penggunaan sabun yang mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri (Sukawaty et al., 2016).

Saat ini di pasaran telah banyak beredar berbagai jenis sabun, salah satu di antaranya adalah sediaan sabun cair. Sabun cair merupakan sediaan pembersih kulit yang terbuat dari bahan dasar sabun dengan penambahan bahan lain yang diijinkan dan dapat digunakan untuk mandi tanpa menimbulkan iritasi pada kulit (SNI No. 06-4085- 1996). Sabun cair di pasaran umumnya mengandung zat kimia sintetis misalnya triklosan sebagai antibakteri. Triklosan merupakan salah satu antibakteri yang banyak digunakan karena efektif terhadap berbagai bakteri Gram positif dan Gram negatif. Namun menurut *Food and Drug Association* (FDA) triclocarban menyebabkan efek samping seperti dermatitis dan resistensi jika digunakan dalam jangka waktu yang lama, dan dapat terakumulasi dalam tubuh dapat mengakibatkan kelumpuhan, kemandulan dan lemahnya fungsi tubuh (Loho, 2007).

Oleh karena itu perlu dicari alternatif bahan alami yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri untuk diformulasikan ke dalam sabun cair antibakteri yang dapat ditoleransi dengan baik, aman, nyaman, jarang menimbulkan reaksi negatif bagi kesehatan, mudah diperoleh dan harga lebih ekonomis. Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri yaitu bunga kecombrang

(*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith), karena telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri di kulit dan penyebab keracunan makanan (Dini dkk., 2011). Di samping itu bunga kecombrang memiliki aroma yang khas disenangi masyarakat, sehingga sesuai diformulasikan ke dalam sabun cair pembersih tangan.

Tanaman kecombrang merupakan tanaman rempah-rempah yang termasuk dalam golongan *Zingiberaceae*. yang sejak lama dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat secara tradisional sebagai obat-obatan yaitu sebagai penghilang bau badan, bau mulut, dan pengobatan luka. Hal ini kemungkinan karena adanya potensi sebagai antibakteri. Bagian yang biasa digunakan dari tanaman ini adalah bunga, daun dan batang. Potensi antibakteri dari tumbuhan kecombrang tentunya karena adanya kandungan senyawa kimia. Komponen kimia pada daun, batang, bunga dan rizome bunga kecombrang terdiri dari alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, steroid, dan adanya beberapa jenis minyak esensial yang kemungkinan bersifat bioaktif, juga telah meneliti minyak atsiri yang terkandung pada bunga kecombrang mengandung senyawa utama yaitu 1,1-diasetat dodecanediol 24,38% dan siklododecan 34,45% (Jaffar et al. (2007).

Berdasarkan hal tersebut di atas, peneliti melakukan penelitian skrining fitokimia dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) segar dan sari air nya dan menformulasikan sari air bunga kecombrang ke dalam sediaan sabun cair serta melakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta terhadap bakteri dari spesimen air cuci tangan sukarelawan.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, diperoleh perumusan masalah sebagai berikut:

1. Senyawa metabolit sekunder apakah yang terkandung di dalam bunga kecombrang segar dan sari air bunga kecombrang?
2. Apakah sari air bunga kecombrang dapat diformulasikan ke dalam sediaan sabun cair?
3. Apakah sediaan sabun cair yang mengandung sari bunga kecombrang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan bakteri dari spesimen air cuci tangan sukarelawan?
4. Konsentrasi berapakah sari air bunga kecombrang di dalam sediaan sabun cair yang bermutu paling baik dan memberikan antibakteri paling kuat?

1.3 Hipotesa

Berdasarkan rumusan masalah, diperoleh hipotesis sebagai berikut :

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam bunga kecombrang segar dan sari air bunga kecombrang adalah alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, saponin dan glikosida.
2. Sari air bunga kecombrang dapat diformulasikan ke dalam sediaan sabun cair
3. Sediaan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan bakteri dari spesimen air cuci tangan sukarelawan
4. Sari air bunga kecombrang di dalam sediaan sabun cair pada konsentrasi tertentu akan menghasilkan sabun cair yang bermutu baik dan memberikan antibakteri paling kuat

1.4 Tujuan Penelitian

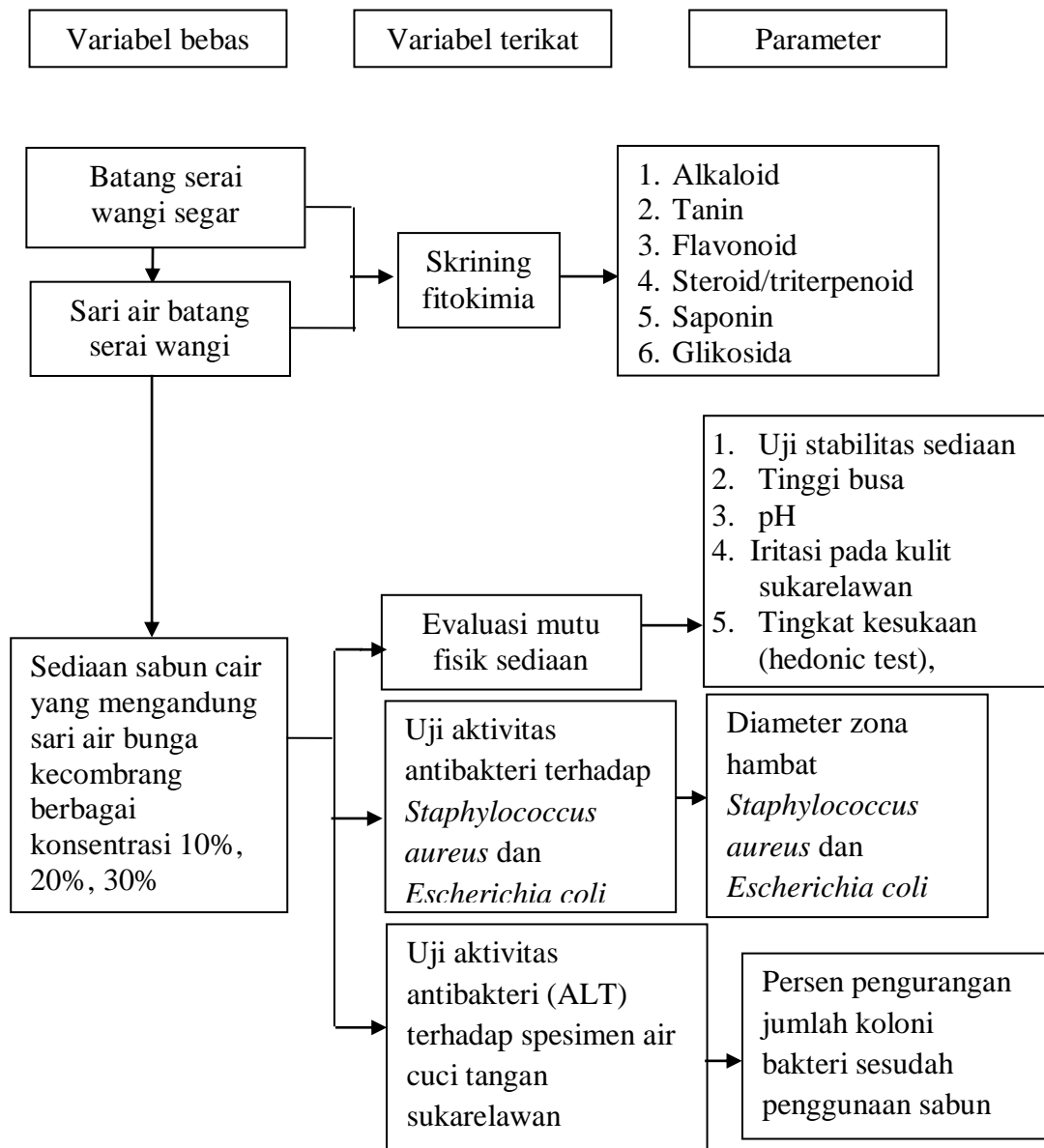
Adapun tujuan penelitian adalah :

1. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam bunga kecombrang segar dan sari air bunga kecombrang.
2. Untuk mengetahui sari air bunga kecombrang dapat diformulasikan ke dalam sediaan sabun cair
3. Untuk mengetahui sediaan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan bakteri dari spesimen air cuci tangan sukarelawan.
4. Untuk mengetahui konsentrasi sari air bunga kecombrang di dalam sediaan sabun cair yang menghasilkan sabun cair bermutu baik dan menghambat pertumbuhan bakteri paling kuat

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan diperolehnya sediaan sabun cair yang mengandung bahan alam bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) bermutu baik dan mempunyai aktivitas antibakteri yang aman, nyaman, mudah didapat dan bernilai ekonomis serta dapat meningkatkan budi daya dan penggunaan tanaman bunga kecombrang, secara tidak langsung dapat juga meningkatkan penghasilan petani yang membudidayakan tanaman kecombrang.

1.6 Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 1.1 Kerangka pikir penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.10 Tanaman Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith)

Tumbuhan kecombrang dengan nama latin (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) merupakan salah satu keluarga *Zingiberacea* asli dari Indonesia, di setiap wilayah di Indonesia memiliki berbagai nama tersendiri di antaranya yaitu “kencong” atau “kincung” di Sumatra Utara, “kecombrang” di Jawa, “honje” di Sunda, “bongkot” di Bali, “sambuang” di Sumatra Barat dan “bunga kantan” di Malaysia (Sukandar, 2011). Kecombrang merupakan tanaman tahunan dengan ketinggian 1-3 meter. Tanaman ini banyak ditemukan di daerah pegunungan atau daerah-daerah rindang dekat air dengan ketinggian 800 meter di atas permukaan air laut (Tampubolon et al., 1983 dalam Hudaya 2010).

Bunga kecombrang berwarna kemerahan seperti jenis tanaman hias pisang-pisangan atau mirip sekali dengan tanaman lengkuas / laos. Jika batang sudah tua, bentuk tanamannya mirip jahe, dengan tinggi mencapai 5 m. Batang - batang semu bulat gilig, membesar di pangkalnya; tumbuh tegak dan banyak, berdekatan-dekatan, membentuk rumpun jarang, keluar dari rimpang yang menjalar di bawah tanah. Rimpangnya tebal, berwarna krem, kemerah-jambuan ketika masih muda. Daun 15-30 helai tersusun dalam dua baris, berseling, di batang semu; helaian daun jorong lonjong, 20-90 cm × 10- 20 cm, dengan pangkal membulat atau bentuk jantung, tepi bergelombang, dan ujung meruncing pendek, gundul namun dengan bintik-bintik halus dan rapat, hijau mengkilap, sering dengan sisi bawah yang keunguan ketika muda (Sukandar, 2011).



Gambar 2.1 Tumbuhan kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.



Gambar 2.2 Bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.

2.10.1 Sistematika tumbuhan bunga kecombrang

Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara, sistematika dari tumbuhan kecombrang adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Etlingera

Spesies : *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith

2.10.2 Kandungan kimia bunga kecombrang

Kandungan kimia tumbuhan bunga kecombrang merupakan salah satu hasil dari proses metabolisme yaitu berupa metabolit sekunder adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, saponin, dan minyak atsiri yang bermanfaat bagi kelangsungan hidup tanaman tersebut, serta jika dikonsumsi mampu memberikan manfaat positif bagi kesehatan (Taiz & Zeiger, 2006).

Metabolit sekunder berasal dari proses metabolisme sekunder senyawa dari proses metabolisme primer dari pemecahan karbohidrat, protein dan lemak. Beberapa senyawa antara yang digunakan dalam proses metabolisme sekunder yaitu eritrosa-4-fosfat, fosfoenolpiruvat dan 3-fosfoglisarat Bunga kecombrang mempunyai aroma wangi, pedas dan menyengat (Hidayat dan Hutapea, 1991).

2.10.3 Khasiat bunga kecombrang

Penelitian tahun 2011 yang diterbitkan pada jurnal *BMC Research Notes* membuktikan bahwa bunga kecombrang mengandung antioksidan yang sangat tinggi. Bukan hanya bunganya, bahkan batang, rimpang, dan daun tanaman kecombrang.

Berdasarkan pengujian dari Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau pada tahun 2016, ekstrak bunga kecombrang mengandung antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri, seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Bacillus cereus*. Antibakteri tersebut dapat disebabkan oleh adanya kandungan minyak atsiri, alkaloid, polifenol, dan asam lemak pada kecombrang. Kecombrang banyak digunakan sebagai bahan campuran atau bumbu penyedap berbagai macam

masakan di Nusantara. Kuntum bunga ini sering dijadikan lalap atau direbus lalu dimakan bersama sambal di Jawa Barat. Di Malaysia dan Singapura, kecombrang menjadi unsur penting dalam masakan laksa (Octavianus, 2015).

Secara tradisional, bunga kecombrang berkhasiat sebagai obat penghilang bau badan, memperbanyak air susu ibu dan pembersih darah. Dekoktasi pada buahnya digunakan untuk mengobati sakit telinga dan dekoktasi daunnya digunakan untuk menyembuhkan luka (Chan et al., 2011).

2.11 Bakteri

Bakteri adalah nama sekelempok mikroorganisme prokariotik yang bersel satu. memiliki kromosom tunggal dan tidak memiliki dinding intisel. Bakteri berasal dari bahasa Yunani dari kata bakterion yang berarti tongkat atau batang dan tidak berklofrol. Bakteri tersusun atas dinding sel dan isi sel. Di sebelah luar dinding sel terdapat selubung atau kapsul. Di dalam sel bakteri tidak terdapat membran dalam dan organel bermembran seperti kloroplas dan mitokondria berkembang biak dengan membelah diri (Irianto, 2006). Bakteri mempunyai ukuran sangat kecil (berukuran mikroskopis). berukuran lebar 0,5–1 mikron dan panjang nya mencapai 10 mikron ($1 \text{ mikron} = 10^{-3} \text{ mm}$), paling besar sekitar 100 mikron, hingga hampir tidak terlihat dengan mata bugil, tetapi ada pula yang kurang dari 1 mikron yang terkecil kira-kira 0,1 mikron (Gembong, 2005).

2.11.1 Penggolongan bakteri

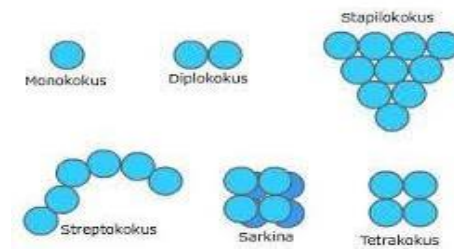
Beberapa penggolongan bakteri sebagai berikut (Dwidjoseputro, 1978).

A. Berdasarkan bentuk morfologi dan strukturnya

1. Bakteri kokus (bulat)

Bakteri kokus (bulat) adalah sel-sel bakteri yang membentuk seperti bola- bola

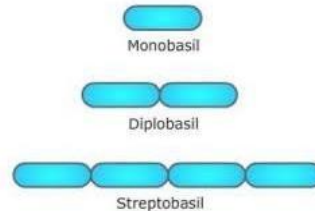
kecil golongan ini tidak sebanyak golongan basil. Sel bakteri kokus tunggal disebut monokokus, bergandengan dua-dua disebut diplokokus, mengelompok satu untaian disebut stafilokokus, bergandengan panjang serupa tali leher disebut streptokokus, mengelompok serupa kubus disebut sarsina dan yang mengelompok berempat disebut tetrakokus.



Gambar 2.3 Bakteri bentuk kokus

2. Bakteri basil

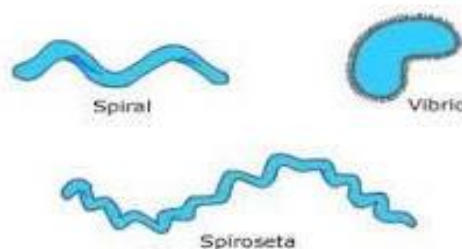
Bakteri basil adalah sel-sel bakteri yang bentuknya seperti tongkat pendek, atau batang agak silindris.



Gambar 2.4 Bakteri bentuk basil

3. Bakteri spiral

Bakteri spiral adalah bakteri yang bengkok serupa spiral. Golongan ini merupakan golongan yang paling kecil jika dibanding dengan golongan kokus maupun golongan basil (Dwidjoseputro, 1978).



Gambar 2.5 Bakteri bentuk spiral

B. Pengelompokan bakteri berdasarkan suhu

Suhu berperan penting dalam mengatur jalannya reaksi metabolisme bagi makhluk hidup tidak terkecuali pada mikroorganisme. Berdasarkan suhu optimumnya mikroorganisme secara umum dibagi atas :

1. Bakteri psikrofil

Bakteri psikrofil hidup pada daerah suhu antara 0°– 30 °C, dengan suhu optimum 15 °C. Contohnya bakteri *Gallionella*.

2. Bakteri mesofil

Bakteri mesofil hidup di daerah suhu antara 15° – 55 °C, dengan suhu optimum 25° – 40 °C. Contohnya bakteri *Mesophiles*.

3. Bakteri termofil

Bakteri termofil dapat hidup di daerah suhu tinggi antara 40° – 75 °C, dengan suhu optimum 50 ° - 65 °C contohnya bakteri *Bacillus*.

4. Bakteri hipertermofil

Bakteri hipertermofil hidup pada kisaran suhu 65 ° - 114 °C, dengan suhu optimum 88 °C.

C. Pengelompokan bakteri berdasarkan pH

Berdasarkan pH bakteri dapat dibagi atas :

1. Asidofil adalah mikroba yang tumbuh pada kisaran pH 2.0 – 5.0
2. Neurofil adalah mikroba yang tumbuh pada kisaran pH 5.5 – 8.0
3. Alkalifil adalah mikroba yang tumbuh pada kisaran pH 8.4 – 9.5

D. Pengelompokan bakteri berdasarkan tekanan hidrostatik

Bakteri berdasarkan tekanan hidrostatik dibagi menjadi dua kelompok yaitu :

1. Mikroba barotoleran

Mikroba barotoleran dapat hidup pada tekanan hidrostatik yang tinggi yaitu pada tekanan di atas 100.000 pound/inchi²

2. Mikroba Barofil

Mikroba barofil dapat hidup pada tekanan hidrostatik diatas 16.000 pound/inchi² contohnya bakteri Spirillum.

E. Pengelompokan bakteri berdasarkan cahaya matahari

Berdasarkan cahaya matahari bakteri dapat dibagi atas :

1. Autotrof yaitu mikroorganisme yang membutuhkan bantuan cahaya matahari sebagai sumber energinya. Contoh bakteri Cyanobacteria.
2. Kemotrof yaitu mikroorganisme yang tidak membutuhkan bantuan cahaya matahari sebagai sumber energinya dan memperoleh energi dari hasil oksidasi zat kimia. Contoh bakteri Thiobacillus

F. Pengelompokan bakteri berdasarkan nutrisi

Berdasarkan nutrisi bakteri dapat dikelompokkan menjadi 2 yaitu :

1. Ototrof adalah organisme yang menggunakan karbondioksida sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya.
2. Heterotrof merupakan organisme yang memperoleh karbon dari senyawa organik di lingkungannya untuk pertumbuhan (Radji, 2011).

E. Pengelompokan bakteri berdasarkan susunan dinding sel

Menurut perbedaan susunan dinding bakteri dibagi menjadi:

1. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang hanya terdiri dari satu lapis dan mengandung lipid serta lipoprotein yang menyebabkan warna dasar yang

diberikan pada pengecatan Gram akan dengan mudah luntur saat dilakukan dekolorisasi sehingga bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan Gram, maka bakteri ini akan menyerap zat warna ke dua yang diberikan pada pengecatan Gram yaitu sframini berwarna merah, maka hasil pengecatan Gram bila diamati di bawah mikroskop akan berwarna merah. Banyak spesies bakteri Gram negatif yang bersifat patogen, yang berarti berbahaya bagi organisme inang. Sifat patogen ini umumnya berkaitan dengan komponen tertentu pada dinding sel Gram negatif, terutama lapisan lipopolisakarida (dikenal juga dengan LPS atau endotoksin) Contoh: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*. (Pratiwi, 2008).

2. Bakteri Gram positif akan berwarna ungu sewaktu proses pewarnaan Gram karena bakteri ini akan lebih mempertahankan warna dasar kristal violet karena disebabkan oleh dinding selnya yang tebal serta mengandung peptidoglikan yang akan menyerap warna lebih banyak sehingga tidak luntur ketika dilakukan dekolorisasi, sehingga warna dasar berupa warna ungu tetap bertahan. Bakteri Gram positif hanya mempunyai membran plasma tunggal di kelilingi dinding sel tebal peptidoglikan, Contoh: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pneumococcus*. Prosedur pengecatan Gram ini ditemukan pada tahun 1884 oleh ilmuwan Denmark bernama Cristian Gram dan merupakan prosedur penting dalam klasifikasi bakteri (Pratiwi, 2008).

2.2.2 Fase pertumbuhan bakteri meliputi :

Fase pertumbuhan bakteri meliputi :

1. Fase penyesuaian (Lag phase)

Bakteri akan mengalami masa penyesuaian pada lingkungan baru setelah pemindahan untuk menyeimbangkan pertumbuhan.

2. Fase pertumbuhan (Log phase)

Selama fase ini, populasi meningkat 2 kali pada interval waktu yang teratur.

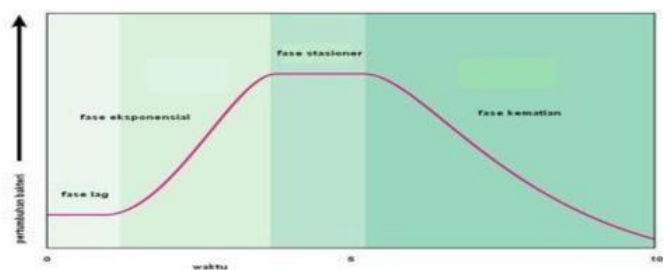
Jumlah koloni bakteri akan terus bertambah seiring lajunya aktivitas metabolisme sel.

3. Fase tetap (stationary phase)

Terjadi kompetisi antara bakteri untuk memperoleh nutrisi dari media untuk tetap hidup. Sebagian bakteri mati sedangkan yang lain tumbuh dan membelah sehingga jumlah sel bakteri yang hidup menjadi tetap.

4. Fase kematian

Sel bakteri akan mati lebih cepat dari pada terbentuknya sel baru. Laju kematian mengalami percepatan yang eksponensial (Pratiwi, 2008).



Gambar 2.6 Kurva pertumbuhan bakteri

2.2.3 Pengecetan bakteri

Cara pengecetan bakteri dapat dibedakan menjadi tiga yaitu pengecetan sederhana, diferensial dan struktural.

1. Pengecetan sederhana dapat mewarnai sel atau latar belakangnya sehingga memungkinkan untuk mengamati bentuk sel batang lurus, bengkok atau bulat dan susunannya berpasangan atau kluster. Pengecetan sederhana ini untuk membedakan antara berbagai tipe sel berbentuk batang atau bulat

2. Pengecatan diferensial menggunakan kombinasi pewarna yang berkaitan dengan perbedaan kimia antara sel. Pengecatan diferensial mewarnai seluruh sel dari bakteri tipe tertentu.
3. Pengecatan struktural atau pengecatan Gram hanya mewarnai satu bagian lain dari mikrobial.

Pengecatan Gram dibagi menjadi 2 yaitu gram positif dan Gram negatif. Pengecatan gram berdasarkan komposisi kimia dinding sel bakteri. Sel bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri gram negative memiliki peptidoglikan yang tipis dan dikelilingi lapisan luar berupa lipida. Dalam pengecatan gram digunakan empat macam reagen yaitu :

1. Cat utama yaitu kristal violet
2. Mordan yaitu senyawa yang digunakan untuk mengintensikan cat utama. Misalnya iodin.
3. Bahan peluntur yaitu solven organik berupa etil alkohol 50%
4. Cat penutup seperti safranin. Digunakan untuk mewarnai kembali sel-sel yang telah kehilangan cat utamanya setelah perlakuan dengan alkohol. Warna cat penutup harus berbeda dengan cat utama (Lestari, 2018)

2.2.4 Media pertumbuhan bakteri

Media pertumbuhan bakteri adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Media untuk menumbuhkan mikroorganisme dapat diklasifikasikan berdasarkan komposisi atau senyawa penyusunnya, konsentrasi atau bentuknya dan selektivitas atau fungsinya. (Madigan, 2005)

A. Berdasarkan komposisi/susunan kimia bahan penyusunnya, yaitu:

1. Medium organik, tersusun dari bahan-bahan organik.
2. Medium anorganik, tersusun dari bahan-bahan anorganik
3. Medium sintetik, tersusun dari senyawa yang diketahui komposisi kimianya secara tepat, berisi garam anorganik misalnya glukosa, kalium, fosfat, magnesium fosfat, asam amino, asam lemak, alkohol, karbohidrat atau senyawa organik serta vitamin-vitamin.
4. Media nonsintetik, kandungan dan isinya tidak diketahui secara terperinci menggunakan bahan yang terdapat di alam. Contoh: Ekstrak daging, pepton

B. Berdasarkan kegunaannya, dapat dibedakan menjadi :

1. Media selektif, yaitu media biakan yang mengandung paling sedikit satu bahan yang dapat menghambat perkembangbiakan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan membolehkan perkembangbiakan mikroorganisme tertentu yang ingin diisolasi.
2. Media diferensial yaitu media yang digunakan untuk menyeleksi suatu mikroorganisme dari berbagai jenis dalam suatu lempengan agar.
3. Media diperkaya yaitu media yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang diperoleh dari lingkungan alami karena jumlah mikroorganisme yang ada terdapat dalam jumlah sedikit.
4. Berdasarkan konsistensinya media dibagi atas : media padat/solid, media cair, dan media semi padat

2.2.5 Metode inokulasi biakan bakteri

Beberapa metode inokulasi biakan bakteri adalah sebagai berikut :

1. Cara gores

Ose yang telah steril dicelupkan ke dalam suspensi mikroorganisme yang diencerkan, lalu dibuat serangkai goresan sejajar yang tidak saling menutupi di atas permukaan agar yang telah padat.

2. Cara sebar

Suspensi mikroorganisme yang telah diencerkan diinokulasikan secara merata dengan menggunakan *hockey stick* pada permukaan media padat.

3. Cara tuang

Suspensi mikroorganisme diletakkan pada cawan petri steril dan dicampurkan dengan medium agar cair, lalu dibiarkan memadat (Stanier dkk., 1982).

2.3 Antimikroba

Antimikroba adalah zat atau substansi pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan. Antimikroba pada dasarnya memiliki dua mekanisme yaitu bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan bakterisid (membunuh bakteri), namun secara terperinci mekanisme agen antimikroba memiliki beberapa mekanisme, yaitu mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein sel mikroba, dan merusak asam nukleat sel mikroba. Agen antimikroba memiliki kandungan “biosida”, yaitu suatu zat kimia mempunyai efek anti mikroba (Ramadhan, 2013).

Antimikroba yang digunakan secara lokal sering disebut dengan antiseptik. yaitu bahan-bahan yang mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang khususnya berkontak dengan bagian luar tubuh tanpa mengakibatkan kerusakan besar pada jaringan (Irianto, 2006).

2.3.1 Target kerja antimikroba

Target kerja antimikroba meliputi beberapa bagian pada mikroba

1. Dinding sel

Dinding sel adalah bagian terluar dari bakteri yang berfungsi untuk mempertahankan struktur bentuk bakteri dan melindungi struktur lainnya yang terdapat di bawahnya. Salah satu antimikroba yang mengganggu aktivitas dinding sel adalah antibiotik golongan penisillin.

2. Perubahan permeabilitas sel

Sifat permeabilitas bakteri didapatkan dari struktur membran sel yang bersifat selektif terhadap zat yang ada di luar tubuh bakteri, zat tersebut mendorong masuk ke dalam tubuh bakteri karena adanya tekanan osmotik.

3. Molekul protein dan asam nukleat

Salah satu kerja antimikroba seperti fenolat mendenaturasi protein dan asam nukleat bakteri sebagai bahan dasar DNA dan RNA, dinding sel, dan struktur lainnya yang penting untuk kehidupan bakteri.

4. Enzim

Seperti halnya pada manusia, bakteri memiliki beratus-ratus macam enzim yang memiliki struktur berbeda begitupun dengan fungsinya yang berbeda. Salah satu fungsi nya yang sangat penting adalah untuk keperluan metabolisme bakteri. bila agen antimikroba yang diberikan ternyata bersifat mengacaukan atau menghambat produksi enzim tertentu maka jalur kerja yang menggunakan enzim tersebut terhambat.

5. DNA dan RNA

DNA atau RNA adalah pengatur keseluruhan dari kehidupan mikroba,

antimikroba seperti tetrasiklin langsung menghambat pembentukan DNA atau RNA yang menyebabkan kematian pada mikroba (Ramadhan, 2013).

2.3.2 Uji aktivitas antimikroba

Macam-macam metode uji aktivitas antimikroba antara lain :

1. Metode turbidimetri

Metode turbidimetri (kekeruhan), menggunakan beberapa tabung yang telah disiapkan, diisi larutan pembanding dan sediaan uji dengan variasi kadar tertentu, kemudian ditambahkan medium yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Tabung diinkubasi pada temperature 37° C. Setelah periode inkubasi selesai, kekeruhan pertumbuhan bakteri diukur menggunakan instrument yang sesuai misalnya spektrofotometri atau nephelometer (Meilisa, 2009).

2. Metode difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya atau luasnya zona hambatan yang terbentuk di sekeliling zat anti mikroba pada waktu tertentu masa inkubasi. Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

a. Cara cakram (*Disk*)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada

umumnya hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Prayoga, 2013).

b. Cara parit (*Ditch*)

Suatu media atau lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat berbentuk parit. Parit yang sudah terbentuk kemudian diisi dengan zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambat berupa area bening yang kan terbentuk di sekitar parit.

c. Cara sumuran (*Hote* atau *Cup*)

Pada suatu media atau lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat suatu lubang atau berbentuk sumur yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji, setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat berupa area jernih pada sekeliling lubang.

3. Metode Dilusi

Metode dilusi ini dilakukan dengan cara mencampurkan zat anti mikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba di dalam media. Aktivitas zat anti mikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu :

a. Pengenceran sereal dalam tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan zat antibakteri yang akan diuji aktivitas antibakterinya. Zat yang akan diuji diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Selanjutnya diamati kekeruhan di dalam tabung tersebut. Aktivitas zat ditentukan kadar hambat minimal (KHM) (Prayoga, 2013).

b. Penipisan lempeng agar

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar kemudian dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan kuman kemudian diinkubasikan pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM) (Prayoga, 2013).

2.3.3 Daya hambat bakteri

Daya hambat bakteri adalah kemampuan suatu zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Daya hambat ini dapat dilihat dari besar atau luasnya diameter zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri secara difusi agar. Diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri menunjukkan sensitifitas bakteri terhadap antibakteri. Semakin lebar diameter zona hambat yang terbentuk, maka antibakteri semakin efektif untuk membunuh atau menghambat bakteri uji tersebut (Hetu, 2008). Kekuatan daya hambat bakteri dikategorikan dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2. 3 Klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri.

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
<5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat Kuat

2. 4 Metode Lempeng Total Cawan (*Plate Count*)

Metode lempeng total (*plate count*) adalah metode yang paling umum digunakan untuk menentukan jumlah mikroba yang masih hidup berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh. Teknik ini diawali dengan pengenceran sampel dengan kelipatan 1:10. Masing-masing suspensi pengenceran ditanam dengan metode cawan tuang (*pour plate*) atau cawan sebar (*spread plate*). Bakteri akan tumbuh pada medium agar dan membentuk koloni setelah diinkubasi selama 18-24 jam. Metode ini dibantu dengan menggunakan alat yaitu *colony counter*. *Colony counter* adalah alat untuk menghitung jumlah koloni bakteri atau mikroorganisme dalam cawan petri yang dilengkapi dengan pencatat elektronik. Bakteri yang akan dihitung adalah bakteri yang masih hidup (Marasahi, 2011).

a. Metode *Pour plate* (cawan tuang)

Metode *pour plate* adalah suatu teknik untuk menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar yang masih cair dengan stok kultur bakteri sehingga sel-sel tersebut tersebar merata baik di permukaan agar atau di dalam agar (Harley & Presscot, 2002). Dalam metode ini diperlukan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri, setelah diinkubasi

akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung (30-300 koloni). Metode *pour plate* sangat mudah dilakukan karena tidak membutuhkan keterampilan khusus dan hasil biakan yang cukup baik.

b. Metode *Spread plate* (cawan sebar)

Metode *spread plate* (cawan sebar) adalah suatu teknik menumbuhkan mikroorganisme di atas media agar dengan cara menebarkan stok kultur bakteri di atas media agar yang telah memadat. Kelebihan teknik ini adalah mikroorganisme yang tumbuh dapat tersebar merata pada bagian permukaan media agar. Pada metode cawan sebar sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri yang telah diencerkan, disebar pada media penyubur steril yang telah disiapkan. Selanjutnya suspensi dalam cawan diratakan dengan *L-shaped stick* agar koloni tersebar merata pada media dalam cawan tersebut, kemudian diletakkan di dalam inkubator (suhu 37°C) dengan posisi terbalik selama 1 x 24 jam (Pradika, 2008).

2.5 *Staphylococcus aureus*

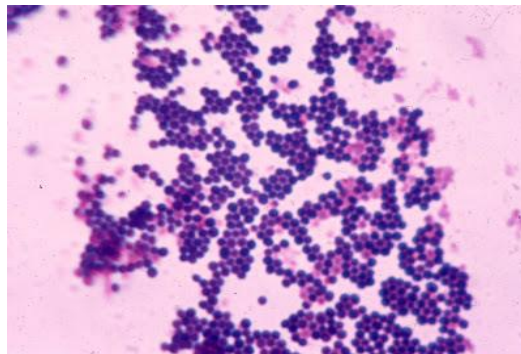
2.5.1 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif yang banyak ditemukan pada kulit manusia, selaput lendir mulut, hidung, saluran pernafasan, saluran pencernaan, selain itu juga sering ditemukan dalam air, tanah, susu, makanan, dan udara. Bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk kokus (bulat) dengan diameter 0,7-1,2 mikrometer. Koloni pada media agar berbentuk bulat tampak seperti untaian buah anggur, halus, dan berwarna kekuningan sampai kuning emas. Bakteri ini dapat tumbuh pada keadaan aerob sampai anaerob fakultatif, tetapi pertumbuhan yang terbaik pada kondisi aerob. Pertumbuhan

optimal *Staphylococcus aureus* terjadi pada suhu 35°C-40°C dan paling cepat tumbuh pada suhu 37°C, pH optimal 7,0-7,5..

Staphylococcus aureus dapat memfermentasi karbohidrat antara lain: glukosa, dekstrosa, manitol, sukrosa, dan laktosa serta dapat menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan enzim koagulase dan enzim katalase yang bersifat hemolitik, mereduksi nitrat menjadi nitrit. *Staphylococcus aureus* relatif resistan terhadap pengeringan, panas (bertahan pada suhu 50°C selama 30 menit) dan NaCl 7 %-8 %.

Kulit merupakan pertahanan yang bersifat protektif untuk mencegah kolonisasi bakteri patogen yang akan masuk ke dalam tubuh. Kulit yang terluka memberikan kesempatan besar ke pada bakteri patogen memasuki tubuh, sebagai contoh *Staphylococcus aureus* yang menginfeksi lapisan kulit yang terluka, menyebabkan luka atau borok sulit untuk sembuh karena adanya efek patogenitas *Staphylococcus aureus* pada kulit.



Gambar 2.7 *Staphylococcus aureus*

2.5.2 Sistematika *Staphylococcus aureus*

<i>Kingdom</i>	:Eubacteria
<i>Filum</i>	:Firmicutes
<i>Kelas</i>	:Bacilli
<i>Ordo</i>	:Bacillales

<i>Famili</i>	: <i>Staphylococcaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Staphylococcus</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Ayuw, 2006).

2.6 *Escherichia coli*

2.6.1 Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. Morfologi bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar 2.8. Bentuk sel dari bentuk seperti coocal hingga membentuk sepanjang ukuran filamentous. Tidak ditemukan spora. Selnya bisa tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. *Escherichia coli* membentuk koloni bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz et al.,1995).



Gambar 2.8 *Escherichia coli*

2.6.2 Sistematika *Escherichia coli*

Superdomain : *Phylogenetica*

Filum : *Proterobacteria*

Kelas : *Gamma Proteobacteria*

Ordo : *Enterobacteriales*

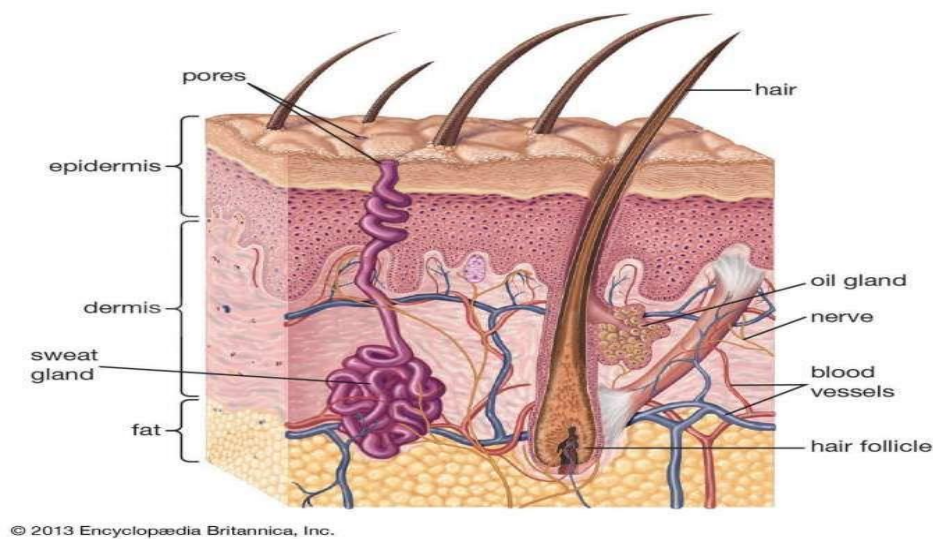
Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli* (Jawetz et al., 1995)

2.7 Kulit

Kulit (*Intragumen*) adalah lapisan jaringan yang terdapat pada bagian luar, yang menutupi dan melindungi permukaan tubuh. Pada permukaan kulit bermuara kelenjar keringat pada kelenjar minyak (Djuanda, S dan Sri Adi S. 2007).



Gambar 2.6. Struktur kulit

2.7.1 Fungsi kulit

Beberapa fungsi kulit sebagai berikut:

- Kulit sebagai pelindung, maksudnya melindungi tubuh dari bermacam-macam pengaruh luar misalnya, cuaca panas, dingin, angin, sengatan sinar matahari, debu, kimiawi, radiasi dan infeksi.
- Kulit sebagai pelindung suhu tubuh. Ketetapan suhu dapat di atur dengan cara penguapan keringat, karena penguapan menyebabkan pengurangan suhu badan tidak meninggi dari ukuran normal, demikian pula kalau dingin,

kelenjar keringat akan menciut dan tidak terangsang untuk mengeluarkan keringat sehingga suhu badan tetap normal.

- c. Kulit sebagai alat perasa (peraba), yaitu merasakan panas, dingin dan sakit melalui tekanan ujung-ujung saraf perasa kulit.
- d. Kulit sebagai alat penyerap, yaitu dapat menyerap zat-zat pada permukaan kulit, dan zat-zat ini ada yang dapat menembus kulit dengan mudah.
- e. Kulit sebagai alat pembuang, ampas-ampas badan, mengeluarkan sisa-sisa zat pembakaran yang tidak lagi diperlukan misalnya, kelenjar keringat (Djuanda, S dan Sri Adi S. 2007).

2.7.2 Struktur kulit

1. Lapisan Epidermis

Epidermis yaitu lapisan paling luar, yang terdiri dari :

- a. Stratum korneum, yaitu sel yang telah mati, selnya tipis, datar, tidak mempunyai inti sel (inti selnya sudah mati) dan mengandung zat keratin.
- b. Stratum Iusidum yaitu sel yang berbentk pipih, mempunyai batas tegas, tetapi tidak ada intinya. Lapisan ini hanya terdapat pada telapak tangan dan telapak kaki.
- c. Stratum granulosum yaitu lapisan ketiga dari epidermis yang berfungsi membentuk sel-sel pelindung kulit.
- d. Zona germinalis terletak di bawah lapisan tanduk dan terdiri atas dua lapisan epitel yang tidak tegas.
- e. Sel berduri, yaitu sel dengan fibril halus yang menyambung sel satu dengan yang lainnya didalam lapisan ini, sehinga setiap sel seakan-akan berduri.

- f. Sel basal, memproduksi sel epidermis baru, disusun dengan teratur, berderet dan rapat membentuk lapisan pertama atau lapisan dua sel pertama dari sel basal yang duduk di atas papila dermis.

2. Lapisan Dermis

Dermis merupakan lapisan kedua dari kulit. Batas dengan epidermis dilapisi oleh membran basalis dan di sebelah bawah berbatasan dengan subkutan tetapi batas ini tidak jelas hanya sebagai patokan ialah mulainya terdapat sel lemak. Dermis terdiri dari dua lapisan : lapisan atas yaitu Parspapilaris (*stratum retikularis*), dan bagian bawah yaitu Pars retikularis (*stratum rekularis*). Pars papilars dan pars retikularis terdiri dari jaringan ikat longgar tersusun oleh serabut kolagen, serabut elastis, dan serabut retikulus. Serabut ini saling berikatan dan masing-masing mempunyai tugas-tugas yang berbeda. Serabut kolagen berfungsi untuk memberi kekuatan pada alat tersebut.

3. Lapisan subkutan

Subkutan terdiri dari kumpulan-kumpulan sel-sel lemak dan diantaranya serabut-serabut jaringan ikat epidermis, sel-sel lemak ini berbentuk bulat dengan intinya terdesak kepinggir, sehingga membentuk seperti cincin. Lapisan lemak ini disebut penikulus adiposus yang tebalnya tidak sama dan jumlah antara laki-laki dan perempuan berbeda. Fungsi penikulus adipose adalah sebagai shok breaker atau pegas bila tekanan trauma mekanis yang menimpa pada kulit, isolator panas atau untuk mempertahankan suhu. Penimbunan kalori dan tambahan untuk kecantikan tubuh di bawah subkutan terdapat selaput otot dan lapisan berikutnya adalah otot (Djuanda, S dan Sri Adi S. 2007).

2.8 Sabun

Sabun adalah bahan yang digunakan untuk mencuci dan mengemulsi, terdiri dari dua komponen utama yaitu asam lemak dengan sodium atau potasium. Sabun merupakan pembersih yang dibuat dengan reaksi kimia antara kalium atau natrium dengan asam lemak dari minyak nabati atau lemak hewani. Sabun yang dibuat dengan NaOH dikenal dengan sabun keras (*hard soap*), sedangkan sabun yang dibuat dengan KOH dikenal dengan sabun lunak (*soft soap*). Sabun dibuat dengan dua cara yaitu proses saponifikasi dan proses netralisasi minyak. Proses saponifikasi minyak akan diperoleh produk sampingan yaitu gliserol, sedangkan proses netralisasi tidak diperoleh gliserol. Proses saponifikasi terjadi karena reaksi antara trigliserida dengan alkali, sedangkan proses netralisasi terjadi karena reaksi asam lemak bebas dengan alkali (Badan Standarisasi Nasional, 1996).

2.8.1 Sabun mandi cair

Sabun mandi cair adalah sediaan berbentuk cair yang digunakan untuk membersihkan kulit, dibuat dari bahan dasar sabun dengan penambahan surfaktan, penstabil busa, pengawet, pewarna, dan pewangi, yang diijinkan dan digunakan untuk mandi tanpa menimbulkan iritasi pada kulit. Sabun mandi cair dibuat melalui reaksi saponifikasi dari minyak dan lemak dengan KOH. Sabun yang berkualitas yang baik harus memiliki daya detergensi yang cukup tinggi, dapat diaplikasikan pada berbagai jenis bahan dan tetap efektif walaupun digunakan pada suhu dan tingkat kesadaran air yang berbeda-beda.

Sabun mandi cair merupakan produk yang strategis, karena saat ini masyarakat modern suka produk yang praktis dan ekonomis. Kelebihan sabun mandi cair bila dibandingkan dengan sabun mandi padat, diantaranya adalah praktis, mudah larut dalam air karena mengandung KOH, mudah berbusa dengan

menggunakan spon kain, dan sterilitasnya terjaga. Untuk mendapatkan sabun dengan derajat keasaman (pH) netral, perlu diketahui bilangan penyabunan dari minyak yang akan digunakan (Badan Standarisasi Nasional, 1996).

2.8.2 Bahan-Bahan formulasi sabun mandi cair dan fungsinya

2.8.2.1 Minyak lemak sebagai sumber asam lemak

Minyak atau lemak merupakan senyawa lipid memiliki struktur berupa ester dari gliserol. Pada proses pembuatan sabun, jenis minyak atau lemak yang digunakan adalah minyak nabati atau lemak hewan. Perbedaan antara minyak dan lemak adalah wujud keduanya dalam suhu ruang. Minyak berwujud cair pada temperatur ruang ($\pm 28^{\circ}\text{C}$), dan lemak berwujud padat. Minyak tumbuhan maupun lemak hewan merupakan senyawa trigliserida, yang umum digunakan sebagai bahan baku pembuatan sabun memiliki asam lemak dengan panjang rantai karbon antara 12 sampai 18.

Asam lemak dengan panjang rantai karbon kurang dari 12 dapat menimbulkan iritasi pada kulit, dan rantai karbon lebih dari 18 akan membuat sabun menjadi keras dan sulit terlarut dalam air. Kandungan asam lemak tak jenuh, seperti oleat, linoleat, dan linolenat terlalu banyak akan menyebabkan sabun mudah teroksidasi pada keadaan atmosferik sehingga sabun menjadi tengik. Asam lemak tak jenuh memiliki ikatan rangkap, titik lelehnya lebih rendah daripada asam lemak jenuh tak memiliki ikatan rangkap, sehingga sabun yang dihasilkan juga akan lebih lembek dan mudah meleleh pada temperatur tinggi.

Beberapa contoh minyak/lemak yang biasa dipakai dalam proses pembuatan sabun mandi cair adalah:

1. Minyak zaitun

Minyak zaitun berasal dari ekstraksi buah zaitun. Minyak zaitun dengan kualitas tinggi memiliki warna kekuningan. Sabun yang berasal dari minyak zaitun cukup keras teksturnya tapi lembut bagi kulit. Fungsinya untuk menghasilkan busa yang banyak, melembabkan dan melembutkan kulit. Untuk mendapatkan sabun yang lembut, digunakan 50% dari total minyak (Guenther, E. 1991)

2. Palm oil (minyak kelapa sawit)

Minyak sawit dapat diperoleh dari pemasakan buah sawit, berwarna jingga kemerahan karena adanya kandungan zat warna karotenoid sehingga jika akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan sabun harus dipucatkan terlebih dahulu. Sabun yang terbuat dari 100% minyak sawit bersifat keras dan sulit berbusa. Maka jika akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan sabun, minyak sawit harus dicampur dengan bahan lemak lainnya. Kandungan asam lemaknya berupa asam palmitat 42-44%, asam oleat 35-40%, asam linoleat 10%, asam linolenat 0,3%, asam arachidonat 0,3%, asam laurat 0,3%, asam miristat 0,5-1%.

3. Coconut oil (minyak kelapa)

Minyak kelapa merupakan minyak nabati yang sering digunakan dalam industri pembuatan sabun. Minyak kelapa berwarna kuning pucat dan diperoleh melalui ekstraksi daging buah yang dikeringkan (kopra). Minyak kelapa memiliki kandungan asam lemak jenuh yang tinggi, terutama asam laurat sekitar 44-52%, sehingga minyak kelapa tahan terhadap oksidasi yang menimbulkan bau tengik. Minyak kelapa juga memiliki kandungan asam lemak miristat 13-19%, asam palmitat 8-11%, asam kaprat 6-10%, asam kaprilat 5-9%, asam oleat 5-8%, asam stearat 1-3%, dan asam linoleat 2%.

4. Minyak Jarak

Minyak jarak telah lama dikenal sebagai bahan baku dalam berbagai industri khususnya industri farmasi dan kosmetik. Minyak jarak memiliki kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi yaitu asam lemak risinoleat yang kadarnya dapat mencapai 80-90%. Secara alami risinoleat adalah dalam bentuk trigliserida (gliserida) dengan tiga gugus fungsi utama yang dapat ditransformasikan menjadi berbagai senyawa lain yang lebih bermanfaat. Salah satunya adalah sabun karena trigliserida merupakan salah satu bahan baku dalam proses pembuatan sabun yaitu saponifikasi (Sitorus dkk., 2016).

2.8.2.2 Kalium hidroksida (KOH)

Fungsi dari penambahan KOH adalah membentuk saponifikasi atau proses penyabunan, KOH merupakan basa yang dapat menghidrolisis lemak sehingga dapat membentuk gliserol dan sabun, pada proses hidrolisis lemak akan terurai menjadi asam lemak dan gliserol.

2.8.2.3 *Carboksil metil selulosa* (CMC)

CMC berfungsi sebagai zat pengisi dan pengental untuk mengisi massa sabun dan menambah kekentalan pada sabun.

2.8.2.4 Asam stearat

Asam stearat berfungsi sebagai zat penetral untuk menetralkan basis sabun apabila proses penyabunan tidak sempurna.

2.8.2.5 *Sodium Lauril Sulfat* (SLS)

Sodium lauril sulfat berfungsi sebagai surfaktan untuk menghasilkan busa pada sabun

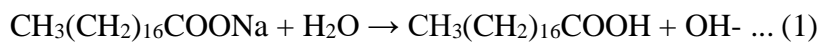
2.8.2.6 *Butil Hidroksida Toluena* (BHT)

Butil hidroksi toluen berfungsi sebagai antioksidan untuk mencegah oksidasi pembentukan ketengikan.

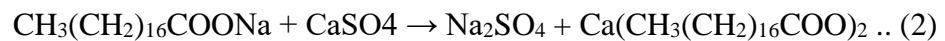
2.8.3 Sifat sabun

Sifat-sifat sabun sebagai berikut:

1. Sabun adalah garam alkali dari asam lemak suhu tinggi sehingga akan dihidrolisis parsial oleh air. Karena itu larutan sabun dalam air bersifat basa.



2. Jika larutan sabun dalam air diaduk, maka akan menghasilkan buih, peristiwa ini tidak akan terjadi pada air. Dalam hal ini sabun dapat menghasilkan busa/buih setelah garam-garam Mg atau Ca dalam air mengendap.



3. Sabun mempunyai sifat membersihkan.

Sifat ini disebabkan proses kimia koloid, sabun (garam natrium dari asam lemak) digunakan untuk mencuci kotoran yang bersifat polar maupun nonpolar karena sabun mempunyai gugus polar dan nonpolar. Molekul sabun mempunyai rantai hidrogen $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}$ yang bersifat hidrofobik (tidak suka air) sedangkan COONa^+ bersifat hidrofilik (suka air) dan larut dalam air. Nonpolar : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}$ (larut dalam minyak, hidrofilik dan juga memisahkan kotoran nonpolar) Polar : COONa^+ (larut dalam air, hidrofilik dan juga memisahkan kotoran polar).

4. Proses penghilangan kotoran

- a. Sabun di dalam air menghasilkan busa yang akan menurunkan tegangan permukaan sehingga kain menjadi bersih dan air meresap lebih cepat ke permukaan kain.

- b. Molekul sabun yang bersifat hidrofilik akan mengelilingi kotoran dan mengikat molekul kotoran. Proses ini disebut emulsifikasi karena antara molekul kotoran dan molekul sabun membentuk suatu emulsi. Bagian molekul sabun yang bersifat hidrofilik berada di dalam air pada saat pembilasan menarik molekul kotoran keluar sehingga menjadi bersih (Baki dan Kenneth, 2019).

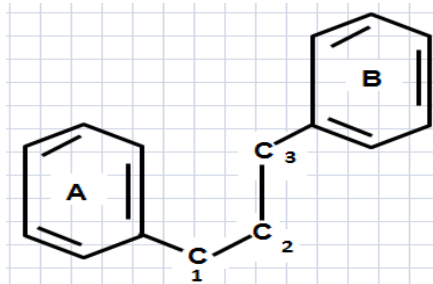
2.9 Uraian Kimia Metabolit Sekunder di Dalam Tumbuhan

2.9.1 Flavonoid

Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid merupakan salah satu dari golongan senyawa fenol alam yang terbesar, terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akarm kayu, kulit, tepung sari, buah dan biji. Umumnya flavonoid terikat pada gula sebagai glikosida. Flavonoid merupakan suatu senyawa polofenol yang mengandung 15 atom karbon dalam tiap dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆. Umumnya flavonoid terikat dalam bentuk glikosida, mudah larut dalam air. Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air, setelah ekstrak ini di kocok dengan eter minyak tanah. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon. Flavonoid diidentifikasi menggunakan serbuk magnesium dalam suasana asam yang akan menghasilkan warna merah atau kuning atau jingga (Harbone, 1987).

Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warna kuning dan sebagian besar flavonoid adalah berwarna kuning. Flavonoid sering ditemukan dalam bentuk pigmen dan co-pigmen. Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari

berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yang penting adalah sebagai antioksidan, dalam dosis kecil bekerja sebagai stimulan jantung dan pembuluh darah kapiler, diuretik dan antioksidan (Harbone, 1987).



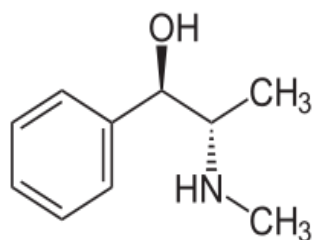
Gambar 2.7. Struktur dasar flavonoid

2.9.2 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa bersifat basa mengandung unsur nitrogen (N) umumnya terletak pada cincin heterosiklis. Senyawa alkaloid kebanyakan berbentuk padat dan berwarna putih, tetapi ada yang berupa cairan contohnya nikotin, ada juga yang berwarna kuning, seperti barberin dan serpentin. Fungsi alkaloid dalam tumbuhan masih tidak jelas, meskipun telah dinyatakan terlibat dalam pengatur tumbuh, penghalau atau penarik serangga (Hanani, 2015).

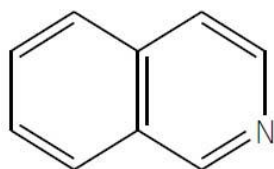
Berdasarkan letak atom nitrogen, alkaloid dibagi menjadi dua golongan :

1. Golongan non heterosiklik, disebut juga protoalkaloida, yaitu alkaloid yang mana atom N-nya berada pada rantai samping yang alifatis. contohnya : Efedrina yang terdapat pada *Ephedra distachia*.



Gambar 2. 8 Struktur senyawa efedrina

2. Golongan heterosiklik, yakni atom N-nya terdapat dalam cincin hetroksiklik, dibagi menjadi 12 golongan berdasarkan struktur cincinnya yaitu piridin, piperidin, indol, imidazole, fenantren, tropan, purin, xanthin, quinolin, isoquinolin, steroid, amina.



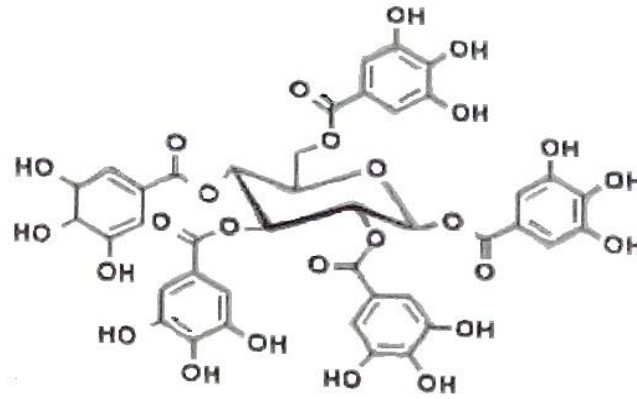
Gambar 2. 9 Struktur senyawa isoquinolin

2.9.3 Tanin

Tanin adalah senyawa alami merupakan polimer dari sejumlah molekul yang mempunyai sejumlah gugus hidroksi fenolik (polifenol) mempunyai bobot molekul 500-3000 dapat membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein dan biopolimer lain, seperti selulosa dan pektin. Bidang industri menggunakan tanin untuk mengubah. Kulit hewan yang mentah menjadi siap pakai karena kemampuan membentuk ikatan silang stabil dengan protein dan dalam bidang farmasi digunakan sebagai astringen, antioksidan, seta dapat menghambat pertumbuhan tumor (Harbone, 1987)

Tanin dibagi menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, gimnospermae, terutama pada jenis tumbuh-tumbuhan berkayu. Tanin terkondensasi secara biosintesis terbentuk dari kondensasi katekin tunggal atau galotanin yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligumer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua. Contohnya seperti galotanin dan elagitanin. Tanin dapat dideteksi dengan sinar UV pendek berupa bercak lembah yang bereaksi positif dengan

setiap pereaksi fenol baku. Uji identifikasi dengan penambahan FeCl_3 terjadi warna biru, biru kehitaman, hijau atau biru hijau dan endapan yang menunjukkan adanya tanin (Harbone, 1987).



Gambar 2.10. Contoh struktur tanin terhidrolisis (Galotanin)

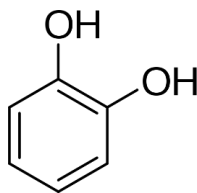
Tanin larut dalam air membentuk laurtan kaloid yang bereaksi asam dan mempunyai rasa sepat, dan merupakan substansi yang tersebar luas dalam tumbuhan, seperti daun, buah yang belum matang, batang dan kulit kayu. Tanin digunakan sebagai energi dalam proses metabolisme dalam bentuk oksidasi. Pada tumbuhan tanin dianggap memiliki fungsi utama sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan karena rasa sepat, sehingga berfungsi untuk mempertahankan tumbuhan dari serangan predator burung, hewan seperti sapi, melindungi kecambah setelah panen, serta melindungi dari jamur dan cuaca (Harbone, 1987).

Klasifikasi tanin berdasarkan warna dengan garam ferri (FeCl_3) yaitu :

1. Katekoltanin, berwarna hijau mempunyai 2 gugus fenol, misalnya :
flobatanin dan pirokatekol, memiliki sifat-sifat sebagai berikut :
 - a. Apabila dipanaskan akan menghasilkan katekol dan dididihkan dengan asam klorida akan menghasilkan flobapin yang berwarna merah.
 - b. Apabila ditambahkan larutan feri (III) klorida akan berwarna hijau.

- c. Apabila ditambahkan larutan brom akan terbentuk endapan.

Contoh : Asam kirotamat (pada kina) dan asam katekotonat (pada gambir).

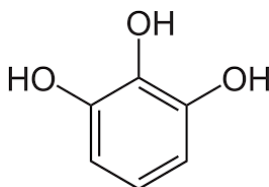


Gambar 2.11 Struktur katekol

2. Pirogalatanin (pirogolol), berwarna biru dengan larutan feri (III) klorida mempunyai 3 gugus fenol, memiliki sifat-sifat sebagai berikut:

- Apabila dipanaskan akan terurai menjadi pirogalol.
- Apabila dididihkan dengan HCl dihasilkan asam gallat dan asam ellagat.
- Apabila ditambahkan dengan larutan feri (III) klorida akan berwarna biru.
- Apabila ditambahkan brom tidak akan terbentuk endapan.

Contoh : gallotanin (pada gallae) dan ellagitanin (pada Granati cortex)



Gambar 2.12 Struktur pirogalol

Beberapa manfaat tanin :

- Sebagai antimikroba/antiseptik, disebabkan karena adanya gugus fenol, dan penghambat racun oleh persenyawaan gugus katekol atau pirogalol.
- Pengikat logam dan penyamakan kulit, hal ini dikarenakan tanin dapat menggumpalkan protein,
- Mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, karena mempunyai gugus polifenol yang berfungsi sebagai reduktor, misalnya digunakan untuk mencegah oksidasi pada lemak dan minyak goreng agar tidak rusak, juga sebagai

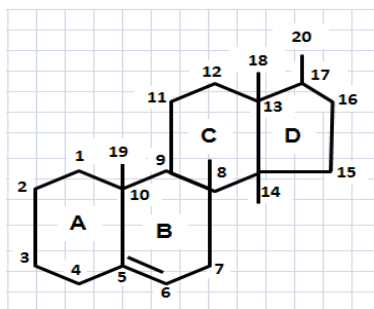
antiaging dan antikanker.

4. Sebagai adstringens, yaitu dapat menciutkan selaput lendir sehingga dapat mengecilkan pori dan menyegarkan, juga dapat mempercepat penyembuhan sariawan dan antidiare (Hanani, 2015).

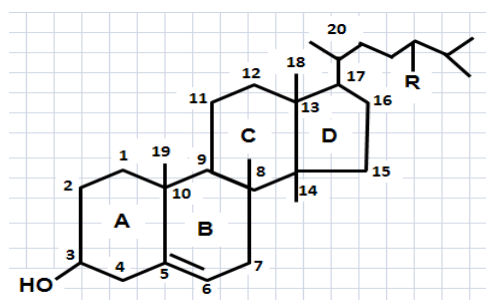
2.9.4 Steroida dan triterpenoida

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari karbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Uji yang banyak digunakan adalah reaksi lieberman-boucard (asam asetat anhidrat dengan asam sulfat pekat) yang dengan kebanyakan triterpen dan steril memberikan warna hijau biru. Triterpenoida dapat dipilih menjadi sekurang-kurangnya empat golongan senyawa triterpen, steroida, saponin dan glikosida jantung. Kedua golongan yang terakhir merupakan triterpen yang terdapat sebagai glikosida (Harbone, 1987).

Steroida adalah triterpenoida salah satu dari triterpenoid yang mempunyai struktur kerangka dasarnya adalah cincin siklopentana pehidropenantren Dahulu steroida dianggap sebagai senyawa satwa, tetapi banyak senyawa steroid di dalam jaringan tumbuhan tinggi mempunyai gugus OH pada atom C nomor 3, disebut sterol, yaitu sitosterol, tigmasterol, dan kampesterol (Harbone, 1987).



Gambar 2.13 Struktur dasar steroid

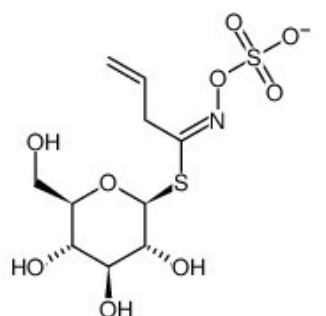


Gambar 2.14 Contoh struktur sterol (stigmasterol)

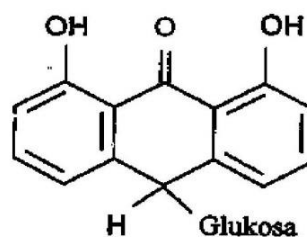
2.9.5 Glikosida

Glikosida adalah senyawa yang terdiri atas gabungan dua bagian senyawa, yaitu gula dan non gula. Bagian gula biasa disebut glikon sedangkan bagian yang non gula disebut sebagai aglikon atau genin. Keduanya digabungkan oleh suatu bentuk ikatan berupa jembatan oksigen (O-glikosida, contoh salisin dan nitrogen N-glikosida, contoh guanosin), jembatan sulfur (S-glikosida, contoh sinigrin), jembatan karbon. (C-glikosida, contohnya alonin).

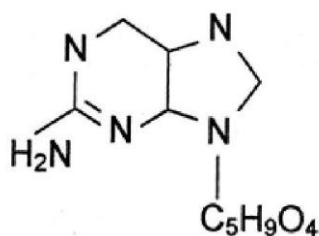
Apabila glikon dan aglikon saling terikat maka senyawa ini disebut glikosida, yaitu glukosida (glukosa), pentosida (pentose), fruktosida (fruktosa) dan lain-lain. Glikosida bila dihidrolisis menghasilkan senyawa gula dan bukan gula. Contohnya senyawa amandel dari pohon *Prunus amygdalus* menghasilkan aglikon berupa racun, yaitu asam piruvat atau hidrogen sianida (HCN). Terjadinya pembebasan HCN ini karena berupa glikosida (Tyler, *et al*, 1976).



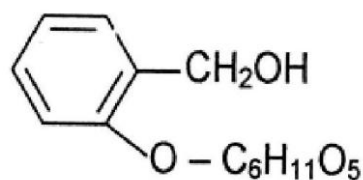
Sinigrin (S-glikosida)



Alonin (C-glikosida)



Guanosin (N-glikosida)

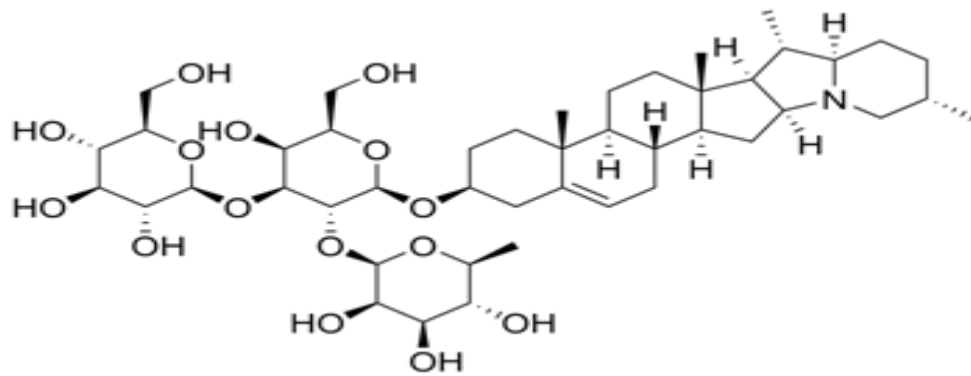


Salisin (O-glikosida)

Gambar 2.15 Contoh struktur glikosida

2.9.6 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena atau sterol tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal, telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau hidrolisis memakai enzim, saponin biasanya tidak hilang dengan penambahan asam. Kedua jenis saponin (triterpenoid dan steroid) larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bersifat aktif permukaan yang kuat dan dapat menimbulkan busa jika dikocok dengan air. Beberapa saponin bekerja sebagai anti mikroba. (Harbone, 1987)



Gambar 2.16 Contoh struktur saponin

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

3.1.1 Variabel penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan variable bebas yaitu konsentrasi sari bunga kecombrang pada sediaan sabun cair antiseptik dan variabel terikat yaitu skrining fitokimia dari bunga kecombrang segar dan sari air bunga kecombrang, evaluasi sediaan sabun cair, uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dan uji aktivitas antibakteri (angka lempeng total) terhadap spesimen air cuci tangan sukarelawan.

3.1.2 Parameter penelitian

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandungan metabolit sekunder alkaloid, tannin, flavonoid, steroid, saponin dan glikosida dengan melakukan skrining fitokimia terhadap bunga kecombrang dan sari airnya, mutu sabun cair meliputi stabilitas, tinggi busa, pH, iritasi, kesukaan (hedonic test), diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, persen pengurangan jumlah koloni terhadap spesimen air cuci tangan sukarelawan.

3.2 Jadwal dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan selama pada bulan Maret sampai dengan September 2021. di laboratorium mikrobiologi dan penelitian STIKes Indah Medan.

3.3 Bahan-bahan yang Digunakan

Bahan bahan yang digunakan dalam penelitian adalah bunga kecombrang (*Etlingera elatior*), media *Nutrient Agar* (NA), media *Mueller Hilton Agar* (MHA), *Manitol Salt Agar* (MSA), barium klorida, asam sulfat, larutan natrium klorida fisiologis steril, minyak jarak, kalium hidroksida, akuades, gliserin, butil hidroksi toluen, HPMC, kalium iodida, asam nitrat pekat, bismut (II) nitrat, raksa (II) klorida, alfa-naftol, etanol, asam klorida pekat, asam sulfat pekat, natrium hidroksida, asam asetat, kloroform, besi (III) klorida, timbal (II) asetat, safranin dan kristal violet.

3.4 Alat-alat yang Digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas laboratorium, cawan petri, mat pipet, oven listrik, inkubator, autoklaf, neraca analitik, juicer, lampu spiritus, mikro pipet, kawat ose, aluminium foil, jangka sorong, pH meter, *colony counter*.

3.5 Persiapan Sampel

3.5.1 Identifikasi tumbuhan

Identifikasi tumbuhan sampel dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara.

3.5.2 Pengumpulan bunga kecombrang

Sampel yang digunakan adalah bunga kecombrang yang diperoleh dari pasar tradisional Simpang Limun. Pengambilan sampel dilakukan secara purposive tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain.

3.5.3 Pembuatan sari bunga kecombrang

Bunga kecombrang yang digunakan adalah bunga yang masih segar yaitu dengan mengambil bagian bunga, dilakukan sortasi basah dan dicuci bersih. Bunga kecombrang sebanyak 10 gram dihaluskan menggunakan blender dengan 50 mL akuades, diperas dengan kain kassa, dan ampasnya ditambahkan kembali dengan 25 mL akuades, diulangi pekerjaan sampai tersari sempurna, diperoleh 100 mL sari air bunga kecombrang digunakan untuk skrining fitokimia.

3.6 Skrining Fitokimia

3.6.1 Pembuatan larutan pereaksi

3.6.1.1 Larutan pereaksi Bouchardat

Sebanyak 4 g kalium iodida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air secukupnya sampai kalium iodida larut sempurna. Kemudian 2 g iodida dilarutkan dalam kalium iodida, lalu dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 mL (Ditjen POM, 1979).

3.6.1.2 Larutan pereaksi Dragendrof

Sebanyak 8 g bismut (II) nitrat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 20 mL asam nitrat. Pada wadah lain sebanyak 27,2 g kalium iodida dilarutkan dalam 50 mL air suling. Kemudian kedua larutan dicampurkan dan didiamkan sampai memisah sempurna. Larutan yang jernih diambil dan diencerkan dengan air suling hingga 100 mL (Ditjen POM, 1979).

3.6.1.3 Larutan pereaksi Mayer

Sebanyak 1,36 g raksa (II) klorida dilarutkan dalam 60 mL akuades. Pada wadah lain dilarutkan 5 g kalium iodide dalam 10 mL akuades. Kedua larutan dicampur, diencerkan dengan akuades hingga 100 mL

3.6.1.4 Larutan pereaksi Molish

Sebanyak 3 g alfa-naftol ditambahkan beberapa tetes etanol kemudian dilarutkan dalam asam nitran 0,5 N hingga 100 mL (Ditjen POM, 1979).

3.6.1.5 Larutan pereaksi asam klorida 2 N

Sebanyak 17 mL asam klorida pekat diencerkan dengan air suling secukupnya sampai volume 100 mL (Ditjen POM, 1979).

3.6.1.6 Larutan pereaksi asam sulfat 2 N

Sebanyak 5,4 mL asam sulfat pekat diencerkan air suling hingga 100 mL (Ditjen POM, 1979).

3.6.1.7 Larutan pereaksi natrium hidroksida 2 N

Sebanyak 8,002 g pellet natrium hidroksida dilarutkan dalam air suling hingga 100 mL (Ditjen POM, 1979).

3.6.1.8 Larutan pereaksi Lieberman-Bouchard

Sebanyak 20 bagian asam asetat anhidrat dicampurkan dengan 1 bagian asam sulfat pekat dan 50 bagian kloroform. Larutan pereaksi harus dibuat baru (Harbone, 1987)

3.6.1.9 Larutan pereaksi besi (III) klorida 1 %

Sebanyak 1 g besi (III) klorida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air suling secukupnya hingga 100 mL (Ditjen POM, 1979).

3.6.1.10 Larutan pereaksi timbale (II) asetat 0,4 M

Sebanyak 15,17 g timbale (II) asetat dilarutkan dalam air suling bebas karbon dioksida hingga 100 mL (Ditjen POM, 1979).

3.6.1.11 Larutan pereaksi Fehling A

Ditimbang 6,9 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan akuades sampai 100 mL.

3.6.1.12 Larutan pereaksi Fehling B

Ditimbang 36,4 g kalium natrium tartrat (garam seinet) dan 10 g NaOH, dilarutkan dengan air suling sampai 100 mL.

3.6.2 Pemeriksaan skrining fitokimia

3.6.2.1 Pemeriksaan alkaloid

Sebanyak 500 mg bunga kecombrang segar yang dihaluskan dan 10 mL sari air bunga kecombrang masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling sipanaskan di atas penangas air selama 2 menit kemudian didinginkan dan di saring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut:

- a. Filtrat sebanyak 1 ml ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning jika mengandung alkaloida
- b. Filtrat sebanyak 1 ml ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam jika mengandung alkaloida
- c. Filtrat sebanyak 1 ml ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, akan terbentuk endapan berwarna merah sampai coklat jika mengandung alkaloida.

Alkaloida dianggap positif jika terjadi endapan atau kekentalan paling sedikit dua dari tiga percobaan di atas (Depkes RI, 1989).

3.6.2.2 Pemeriksaan flavonoid

Sebanyak 500 mg bunga kecombrang segar yang dihaluskan dan 10 mL sari air bunga kecombrang masing-masing dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer ditambahkan 10 mL metanol, direfluks selama 10 menit, disaring melalui kertas

saring. Filtrat nya setelah dingin ditambahkan 5 mL eter minyak tanah, dikocok hati-hati dan didiamkan. Diambil lapisan metanol, lalu diuapkan apa suhu 40°C, sisanya dilarutkan dalam 5 mL etil asetat, lalu saring. Filtratnya digunakan untuk uji flavonoid sebagai berikut :

- a. Sebanyak 1 mL filtrat diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dalam 2 mL etanol 96% lalu ditambahkan 0,5 g serbuk Zn dan 2 mL asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif menunjukkan bahwa adanya flavonoid (glikosida-3-flavonolol).
- b. Sebanyak 1 mL filtrat diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dalam 1 mL etanol 96% lalu ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terlihat warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid (Depkes RI, 1989).

3.6.2.3 Pemeriksaan saponin

Sebanyak 500 mg bunga kecombrang segar yang dihaluskan dan 10 mL sari air bunga kecombrang masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas, dinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan penambahan asam klorida 2N buih tidak hilang, menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1989)

3.6.2.4 Pemeriksaan tannin

Sebanyak 500 mg bunga kecombrang segar yang dihaluskan dan 10 mL sari air bunga kecombrang masing-masing ditambahkan 5 mL akuades, dididihkan selama 3 menit lalu didinginkan dan disaring. Pada filtrat ditambahkan 1-2 tetes

pereaksi besi (II) klorida 1%. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin (Depkes RI, 1989).

3.6.2.5 Pemeriksaan steroid/triterpenoid

Sebanyak 500 mg bunga kecombrang segar yang dihaluskan dan 10 mL sari air bunga kecombrang masing-masing ditambahkan asam klorida anhidrat sebanyak 10 tetes dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes, larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Adanya steroid ditunjukkan oleh warna biru atau hijau, dan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harbone, 1987).

3.6.2.6 Pemeriksaan glikosida

Sebanyak 500 mg bunga kecombrang segar yang dihaluskan dan 10 mL sari air bunga kecombrang masing-masing disari dengan 30 mL campuran 7 bagian etanol 96% dan 3 bagian akuades. Selanjutnya ditambahkan asam sulfat pekat dan direfluks selama 10 menit, didinginkan dan disaring. Kemudian diambil 2 mL filtrat ditambahkan 10 mL akuades dan 10 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, didiamkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat disari dengan 20 mL campuran kloroform dan isopropanol (3:2), diulangi sebanyak 3 kali. Selanjutnya diuji sebagai berikut:

1. Uji terhadap senyawa gula
 - a. Diambil sebanyak 1 mL lapisan atas (sari air) diuapkan di atas penangas air.

Sisa penguapan ditambahkan 2 mL air dan 5 tetes larutan pereaksi Molish, dan ditambahkan hati-hati asam sulfat pekat, terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan, reaksi ini menunjukkan adanya ikatan gula.
 - b. Diambil sebanyak 1 mL lapisan atas (sari air) diuapkan di atas penangas air.

Sisa penguapan ditambahkan Fehling A dan Fehling B (1:1), kemudian dipanaskan. Terbentuknya endapan warna merah bata menunjukkan adanya gula pereduksi (Depkes RI, 1995).

2. Uji terhadap senyawa non gula

Diambil sebanyak 1 mL lapisan bawah (sari pelarut organik), diuapkan di atas penangas air suhu tidak lebih dari 60°C, Sisa penguapan dilarutkan dalam 2 mL metanol. Selanjutnya ditambahkan 20 tetes asam asetat glacial dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Bouchard), jika terjadi warna biru, hijau, merah ungu atau ungu positif untuk non gula

3.7 Pembuatan Sediaan Sabun Cair

Formulasi dasar sabun cair diambil dari formula Rosdiyawati (2014) yang telah dimodifikasi dan ditambahkan sari air bunga kecombrang sebagai antibakteri dengan formula di bawah ini:

Tabel 4.1 Formula sabun cair antibakteri sari air bunga kecombrang

Bahan	Formula Sediaan Sabun Cair			
	Blanko	Sabun SBK 10%	Sabun SBK 20%	Sabun SBK 30%
Bunga Kecombrang	0	10g	20g	30g
Minyak Jarak	28,8 mL	28,8 mL	28,8 mL	28,8 mL
KOH 10%	5,15 mL	5,15 mL	5,15 mL	5,15 mL
HPMC	3 g	3 g	3 g	3 g
Gliserin	18,75 mL	18,75 mL	18,75 mL	18,75 mL
BHT	0,02 g	0,02 g	0,02 g	0,02 g
Foam Boster	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Akuades	ad 100mL	ad 100mL	ad 100mL	ad 100mL

Keterangan: SBK: Sari air bunga kecombrang

Cara kerja pembuatan sabun

Bunga kecombrang yang telah dibersihkan ditimbang sesuai masing-masing formula, dihaluskan menggunakan juicer dengan penambahan akuades sebanyak 20 mL kemudian diperas menggunakan kain putih, diperoleh sari dan ampasnya ditambahkan 10 mL akuades dan diperas kembali, diperoleh sari dan ampasnya diperas sekali lagi dengan 10 mL akuades dicukupkan dengan akuades sampai 25 mL, diperoleh sari air bunga kecombrang.

Dimasukkan minyak jarak ke dalam beker gelas, kemudian ditambahkan larutan KOH 10% sedikit sambil terus dipanaskan pada suhu 60-70°C hingga terbentuk pasta maka diperoleh massa I.

Ke dalam lumpang dimasukkan 25 mL air panas dan di atasnya ditaburkan HPMC dibiarkan ± 5 menit dan ditambahkan BHT (butil hidroksi toluen), gliserin dan foam *booster* digerus sampai homogen diperoleh massa II.

Massa I dicampur dengan massa II sambil digerus sampai homogen dan ditambahkan sari air bunga kecombrang yang telah disiapkan dan dihomogenkan, dimasukkan ke dalam wadah steril yang telah dikalibrasi 100 mL, lumpangnya dibilas dengan akuades dimasukkan ke dalam campuran sedikit demi sedikit. Selanjutnya dicukupkan dengan akuades sampai garis tanda kalibrasi, maka diperoleh sediaan sabun cair. Demikian dikerjakan dengan berbagai konsentrasi sari air bunga kecombrang maka diperoleh sediaan sabun cair mengandung sari air bunga kecombrang konsentrasi 10%, 20% dan 30%. Selanjutnya dilakukan uji mutu fisik sediaan yang dihasilkan berupa uji stabilitas sediaan, tinggi busa, pH, iritasi pada kulit sukarelawan, tingkat kesukaan (hedonic test).

3.8 Evaluasi Mutuk Fisik Sediaan Sabun Cair

3.8.1 Pengujian stabilitas sediaan

Pengujian stabilitas dilakukan dengan menyimpan sediaan pada kondisi suhu kamar selama 8 minggu. Masing-masing formula sediaan sabun cair dimasukkan ke dalam wadah transparan ditutup bagian atasnya, hal yang diamati berupa perubahan bentuk atau konsistensi, warna, dan bau sediaan. Bila menunjukkan sediaan stabil maka dapat diartikan bahwa produk stabil selama proses penyimpanan dan distribusi (Sanjay, 2012).

3.8.2 Pengujian tinggi busa

Sebanyak 1 ml sabun cair ditimbang pada gelas arloji dan dilarutkan dalam air suling secukupnya. Dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL dan dicukupkan dengan air suling sampai garis tanda. Kemudian mulut gelas ukur tersebut ditutup dan dikocok selama 10 menit. Tinggi busa yang terbentuk diukur, didiamkan selama 5 menit dan tinggi busa nya diukur lagi (Melmanda, 1999).

3.8.3 Pengujian pH sediaan

Penentuan pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, alat terlebih dahulu dikalibrasi dengan menggunakan larutan standar netral (pH 7,01) dan larutan dapar pH asam (pH 4,01) hingga posisi jarum menunjukkan harga pH tersebut. Kemudian elektroda dicuci dengan air suling, dan dikeringkan dengan kertas tissue. Sampel dibuat dalam konsentrasi 1% yaitu ditimbang 1 g sediaan diencerkan dengan air suling hingga 100 mL di dalam suatu wadah kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan tersebut, jarum dibiarkan bergerak sampai posisi konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan harga pH dari sediaan yang diuji (Wasiatmaja, 1997).

3.8.4 Pengujian iritasi pada sukarelawan

Uji dilakukan pada 6 orang sukarelawan dengan cara sedikit sediaan dioleskan pada bagian belakang telinga sukarelawan, kemudian dibiarkan selama 24 jam dan dilihat perubahan yang terjadi, jika terjadi iritasi pada kulit akan terlihat kulit memerah, gatal dan pengkasaran (Wasiatmaja, 1997). Kriteria sukarelawan yang dijadikan panel pada uji iritasi adalah sebagai berikut:

1. Wanita berbadan sehat
2. Usia 20-30 tahun
3. Sehat jasmani dan rohani
4. Tidak ada riwayat penyakit yang berhubungan dengan alergi
5. Bersedia menjadi sukarelawan (Depkes RI, 1985).

3.8.5 Pengujian kesukaan (*hedonic test*)

Uji kesukaan dilakukan untuk mengetahui sediaan yang disukai oleh panelis yang menggunakan sediaan sabun cair yang dibuat. Dilakukan dengan cara diminta kepada panelis untuk melakukan pengamatan secara organoleptis visual langsung terhadap sediaan sabun cair yang baru dibuat, dan dinilai melalui uji kesukaan panelis meliputi warna, bau, bentuk, mudah penggunaan, dengan skala penelitian 1 (sangat tidak suka = STS), 2 (tidak suka = TS), 3 (kurang suka = KS), 4 (suka = S), dan 5 (sangat suka = SS). Pengujian dilakukan menggunakan sukarelawan (panelis) sebanyak 20 orang, dengan cara meminta setiap panelis mengamatinya. Kemudian panelis memilih formula sesuai kriteria, dan diisi lembar kuisioner yang telah disediakan. Selanjutnya data yang diperoleh dari jawaban panelis, dihitung tingkat kesukaan (*hedonic*) terhadap masing-masing formula.

3.9 Sterilisasi alat

Sterilisasi untuk alat-alat yang digunakan antara lain : Alat-alat yang terbuat dari gelas dibungkus dengan kertas perkamen, disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 1 jam. Alat-alat atau bahan-bahan jenis lainnya seperti media disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara fiksasi/dibakar pada lampu bunsen. Sebelum mulai daerah sekitar pengerjaan disemprotkan dengan etanol 70% dan dibiarkan selama 15 menit sebelum digunakan. Meja dibersihkan dari debu dan dilap menggunakan cairan desinfektan (Irianto, 2006).

3.10 Pembuatan Media

3.10.1 Pembuatan media *Muller Hilton Agar* (MHA)

Komposisi:

<i>Casein acid hydrolysate</i>	17,50 g
<i>Starch</i>	1,5 g
Agar	17,00 g
Air suling ad	1L

Cara pembuatan:

Sebanyak 36 g *Muller Hilton Agar* ditimbang, kemudian dilarutkan ke dalam air suling sampai 1000 mL, dipanaskan sampai bahan larut sempurna, lalu disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Himedia, 2003)

3.10.2 Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Komposisi :

<i>Lab-Lamco powder</i>	1,0 g
<i>Yeast extract</i>	2.0 g

<i>Peptone</i>	5,0 g
<i>Sodium Chloride</i>	5,0 g
Agar	15,0 g
Air suling ad	1 L

Cara pembuatan :

Sebanyak 28 g *nutrient agar* dilarutkan dalam akuades steril sampai 1000 mL dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer. Disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Oxoid, 1982).

3.10.3 Pembuatan media *nutrient agar* miring

Sebanyak 5 mL media *nutrient agar* yang telah steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditutup dengan kapas yang telah dilapisi kain kasa steril. Kemudian tabung yang berisi agar diletakkan pada posisi miring membentuk 45°C

3.10.4 Pembuatan media *Manitol Salt Agar* (MSA)

Komposisi:

<i>Manitol</i>	10 g
<i>Peptone</i>	10 g
<i>Sodium klorida</i>	75 g
<i>Phenol red</i>	0,25 g
Agar	15 g
Air suling ad	1 L

Cara pembuatan:

Sebanyak 55,6 g *manitol salt agar* dilarutkan ke dalam air suling sampai 1L, lalu dipanaskan sampai bahan larut sempurna, dan disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.10.5 Pembuatan media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)

Komposisi:	Pepton	10	g
	Lactose	5	g
	Sucrose	5	g
	Dipotassium phosphate	2	g
	Eosin Y	0,4	g
	<i>Methylen blue</i>	0,65	g
	Destiled water	1	L

Cara pembuatan:

Timbang 37,5 gram serbuk EMBA, larutkan dengan akuades sampai 1 L. Panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media. Sterilkan di autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Tunggu suhu sampai hangat–hangat kuku (45°C–50°C), homogenkan dan tuangkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan (Oxoid, 1982).

3.10.6 Pembuatan suspensi standar *Mc. Farland*

Komposisi :

Larutan asam sulfat 1%	9,95 mL
Larutan barium klorida 1,175%	0,05 mL

Cara pembuatan:

Kedua larutan di atas, dicampurkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok homogen. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji sama dengan kekeruhan larutan standar, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 CFU/mL (Silaban, 2009)

3.10.7 Pembuatan larutan NaCl 0,9%

Komposisi:

Natrium Klorida	0,9 g
Air suling steril ad	100 mL

Cara pembuatan:

Ditimbang sebanyak 0,9 g natrium klorida lalu dilarutkan dalam air suling steril sedikit dalam labu takar 100 mL sampai larut sempurna. Ditambahkan air suling steril sampai garis tanda, dimasukkan dalam Erlenmeyer steril yang bertutup lalu disterilkan pada autoklaf suhu 121⁰C tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.11 Persiapan Bakteri

3.11.1 Identifikasi bakteri

Untuk memastikan bakteri uji yang digunakan dilakukan identifikasi bakteri yaitu dengan pewarnaan Gram, diamati di bawah mikroskop, dan penanaman pada media selektif. Sedikit bakteri diambil dari stok kultur, diletakkan di atas objek gelas. Kemudian difiksasi di atas spiritus, selanjutnya ditetesi dengan karbol fuksin, ditunggu beberapa saat lalu ditetesi dengan gentin violet terbentuk warna ungu, dibiarkan dan ditetesi lugol. Dicuci dengan alkohol asam dan dibilas dengan air mengalir kemudian ditetesi safranin.

Dari bakteri yang diwarnai, yang menahan zat warna ungu meskipun telah dicuci dengan alkohol asam dan disertai pewarnaan dengan zat warna safranin tetap berwarna ungu, bakteri tersebut dinamakan bakteri Gram positif. Sebaliknya bakteri yang tidak dapat menahan zat warna ungu setelah dicuci dengan alkohol dan berwarna merah pada saat di warnai dengan zat warna safranin dinamakan bakteri Gram negatif.

Selanjutnya hasil pewarnaan Gram yang memberikan hasil yang menunjukkan bakteri Gram positif diamati di bawah mikroskop, terlihat bentuk bakteri berbentuk kokus yaitu sekelompok bakteri yang tidak teratur dan bentuknya mirip karangan buah anggur maka positif *Staphylococcus aureus*, hasil pewarnaan Gram yang memberikan hasil yang menunjukkan bakteri Gram negatif diamati di bawah mikroskop, terlihat bentuk batang kecil, maka positif terhadap *Escherichia coli* (Irianto, 2006). Selanjutnya untuk memastikan bakteri uji yang digunakan dilakukan penanaman pada media selektif. Media selektif adalah media yang hanya dapat ditumbuhi oleh satu mikroorganisme tertentu, tetapi akan menghambat/mematikan jenis lainnya. Media selektif untuk *Staphylococcus aureus* adalah MSA, dan untuk *Escherichia coli* adalah EMBA

Media yang sudah steril dalam kondisi hangat 40°C-45°C., dituang dalam cawan petri steril sebanyak 20 ml. Kemudian didiamkan hingga memadat. Lalu digoreskan satu ose masing-masing bakteri. Di inkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diamati *Staphylococcus aureus* di dalam MSA terbentuk koloni berwarna kuning emas, dan *Escherichia coli* di dalam media EMBA berwarna hijau kilap logam

3.11.2 Peremajaan bakteri

Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dari stok kultur dengan menggunakan jarum ose steril, lalu ditanam pada media *Manitol Salt Agar* (MSA) dengan cara penggoresan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, diamati koloni tumbuh berwarna kuning keemasan, menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Selanjutnya diambil satu ose koloni yang terpisah spesifik dan telah positif *Staphylococcus aureus* ditanam pada agar miring NA, dan

diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam. Koloni yang tumbuh digunakan sebagai bakteri uji pada pengujian daya hambat bahan uji (Darkuni, N. 2001).

3.11.3 Pembuatan inokulum

Dari stok kultur bakteri yang telah tumbuh pada media NA pada peremajaan bakteri diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL larutan natrium klorida 0,9% sampai didapat kekeruhan suspensi bakteri sama dengan kekeruhan larutan standar *Mc. Farland* maka jumlah bakteri didalam suspensi tersebut adalah 10⁸ CFU/mL. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan memipet 0,1 mL suspensi bakteri (10⁸ CFU/mL), dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan ditambahkan larutan natrium klorida 0,9% sebanyak 9,9 mL dan dikocok homogen. Dari sini diperoleh suspensi bakteri 10⁶ CFU/mL (Fatisa, 2013).

3.12 Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair

Uji aktivitas antibakteri sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan cetak lubang (sumuran). Ke dalam cawan petri steril dimasukkan inokulum bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 0,1 mL. dan 20 mL media *Muller Hinton Agar* (MHA) steril, selanjutnya cawan digoyang di atas permukaan meja, agar media dan suspensi bakteri tercampur rata. Setelah media memadat, dilubangi menggunakan disk logam dengan diameter ± 6 mm (2/3 bagian dari permukaan media), di antara lubang dibuat berjarak sehingga wilayah jernih yang akan terbentuk tidak berhimpitan. Dengan cara yang sama dikerjakan terhadap *Escherichia coli*.

Dimasukkan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30% ke dalam masing-masing lubang dengan jumlah yang sama. Lalu diinkubasi pada suhu 36-37°C selama 18-24 jam. Diamati dan diukur wilayah jernih di sekitar lubang tempat bahan uji sebagai diameter hambatan pertumbuhan bakteri dengan menggunakan jangka sorong dan dicatat. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali (Badan Standarisasi Nasional).

3.13 Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Spesimen Cuci Tangan Sukarelawan

3.13.1 Pengenceran sampel

Sebanyak 30 orang sukarelawan secara acak dibagi dalam 5 kelompok, masing-masing 6 orang sebagai berikut:

Kelompok 1 : Untuk uji sediaan blanko tanpa menggunakan bahan uji

Kelompok 2 : Untuk uji sediaan sabun cair SBK 10%

Kelompok 3 : Untuk uji sediaan sabun cair SBK 20%

Kelompok 4 : Untuk uji sediaan sabun cair SBK 30%

Kelompok 5 : Untuk uji sediaan sabun cair antibakteri di pasaran

Diambil spesimen air cuci tangan dari masing-masing sukarelawan sebanyak 1 mL, spesimen masing-masing dicampurkan di dalam tabung reaksi dengan NaCl 0,9% sampai 10 mL, diperoleh larutan sampel 10^{-1} . Dipipet 1 mL larutan sampel tersebut dimasukkan ke dalam tabung yang berisi NaCl 0,9% sebanyak 9 mL, kemudian dikocok sampai homogen hingga diperoleh suspensi homogen pengenceran 10^{-2} .

3.13.2 Pengujian perhitungan angka lempeng total bakteri

Setiap suspensi spesimen air cuci tangan sukarelawan yang telah dipersiapkan dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} dipipet masing-masing 1 mL

dimasukan ke dalam cawan petri dan masing-masing dibuat triplo. Ke dalam cawan petri dituang \pm 20 mL media MHA. Cawan petri diputar dan digoyang sedemikian rupa (gerakan menulis angka 8), sehingga suspensi tersebut tersebar merata. Untuk kontrol agar diketahui sterilitas media dan larutan pengencer dibuat uji blanko yaitu 10 mL NaCl 0,9% ditambah 20 mL media MHA tanpa bahan uji.

Setelah media memadat, cawan petri diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam dalam posisi dibalik. Selanjutnya diamati dan dihitung jumlah bakteri yang tumbuh pada setiap cawan petri. Angka total bakteri dalam 1 mL sampel adalah dengan mengalikan jumlah rata-rata koloni pada cawan petri dengan faktor pengenceran yang digunakan (Radji, 2011).

Selanjutnya seluruh sukarelawan diminta untuk menggunakan sabun cair sesuai masing-masing kelompok yang telah dikelompokkan yaitu kelompok yang menggunakan sediaan blanko, sabun cair SBK10%, sabun cair SBK 20%, dan sabun cair SBK 30%, dan sabun cair antiseptik yang beredar di pasaran Betadin. Kemudian diambil kembali spesimen air cuci tangan dari masing-masing sukarelawan, dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap spesimen air cuci tangan sukarelawan dengan cara yang sama dengan sebelum menggunakan sabun cair. Sehingga dapat diketahui jumlah bakteri dan persen pengurangan jumlah bakteri dari spesimen sebelum dan setelah menggunakan sabun cair.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Identifikasi Tumbuhan

Hasil identifikasi tumbuhan menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sari bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan familia *Zingiberaceae*. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1. Gambar tanaman dan bunga kecombrang dapat dilihat pada Lampiran 2

4.2 Hasil Skrining Fitokimia

Penentuan golongan senyawa kimia dari bunga kecombrang segar dan sari bunga kecombrang dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Adapun pemeriksaan yang dilakukan adalah pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid dan glikosida. Gambar hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada lampiran 7. Rekapitulasi hasil skrining fitokimia bunga kecombrang segar dan sari airnya dapat dilihat pada Tabel 4.1 di bawah ini :

Tabel 4.2 Hasil skrining fitokimia

No	Pemeriksaan	Hasil uji pada bunga kecombrang segar	Hasil uji pada sari bunga kecombrang
1	Alkaloid	Positif	Positif
2	Flavonoid	Positif	Positif
3	Saponin	Positif	Positif
4	Tanin	Positif	Positif
5	Steroid/Triterpenoid	Positif	Positif
6	Glikosida	Positif	Positif

Berdasarkan Tabel 4.1 di atas menunjukkan bahwa di dalam bunga kecombrang segar dan sari airnya mengandung senyawa kimia metabolit sekunder yang sama yaitu golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid/triterpenoid, dan glikosida., berarti tidak terjadi kehilangan berbagai golongan senyawa metabolit sekunder pada pembuatan sari air nya.

Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna coklat kehitaman pada penambahan pereaksi Bouchardat, dan adanya endapan coklat kemerahan pada penambahan pereaksi Dragendorff. Keberadaan senyawa flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna jingga pada lapisan amil alkohol yang memisah yang membuktikan bahwa sari bunga kecombrang positif mengandung senyawa kimia flavonoid. Keberadaan saponin ditunjukkan dengan tingginya busa yang diperoleh yaitu 2 cm, yang membuktikan bahwa sudah melewati batas minimum busa saponin yaitu 1 cm (Harborne, 1987).

Keberadaan tanin ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman dengan penambahan pereaksi FeCl_3 . Adanya steroid/triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau,. Pengujian glikosida ditunjukkan dengan adanya cincin ungu dengan penambahan pereaksi Molish, dan endapan merah bata pada penambahan fehling A dan B menunjukkan bahwa sari bunga kecombrang mengandung senyawa gula dan adanya warna hijau dengan penambahan pereaksi Lieberman-Bouchard menunjukkan senyawa non gula (Harborne, 1987).

Dengan terdapat nya berbagai golongan senyawa metabolit sekunder terutama polifenol berupa flavonoid, tanin dan saponin, maka mempunyai potensinya sebagai antibakteri, maka sari air bunga kecombrang ini selanjutnya diformulasikan ke dalam sabun cair untuk antibakteri/antiseptik

4.3 Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Sabun Cair

4.3.1 Pengamatan stabilitas sediaan

Sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang (*Etligeria elatior*) diamati stabilitas fisik sediaan sebelum dilakukan pengamatan pada minggu 2, ke 4, ke 6, dan ke 8. Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk, warna, dan bau dari sabun cair. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut:

Tabel 4. 3 Hasil pengamatan stabilitas fisik sediaan

Penga matan	Sediaan	Waktu Pengamatan				
		Baru	Minggu ke 2	Minggu ke 4	Minggu ke 6	Minggu ke 8
Bentuk	Basis sabun (Blanko)	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
	Sabun SBK 10%	Agak kental	Agak kental	Kental	Kental	Kental
	Sabun SBK 20%	Agak kental	Agak kental	Kental	Kental	Kental
	Sabun SBK 30%	Agak kental	Agak kental	Kental	Kental	Kental
Warna	Basis sabun (Blanko)	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih
	Sabun SBK 10%	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Merah muda
	Sabun SBK 20%	Merah agak pekat	Merah agak pekat	Merah agak pekat	Merah agak pekat	Merah agak pekat
	Sabun SBK 30%	Merah pekat	Merah pekat	Merah pekat	Merah pekat	Merah kecoklatan
Bau	Basis sabun (Blanko)	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau
	Sabun SBK 10%	Berbau khas lembut	Berbau khas lembut	Berbau khas lembut	Berbau khas lembut	Berbau khas lembut
	Sabun SBK 20%	Berbau khas agak keras	Berbau khas agak keras	Berbau khas agak keras	Berbau khas agak keras	Berbau khas agak keras
	Sabun SBK 30%	Berbau khas keras	Berbau khas keras	Berbau khas keras	Berbau khas keras	Berbau kurang enak

Keterangan : SBK = Sari air bunga kecombrang

Hasil pengamatan stabilitas pada Tabel 4.2 terlihat bahwa pada penyimpanan sampai minggu ke 8 tidak terdapat perubahan bentuk yang

signifikan terhadap masing masing formula. Dari segi warna, pada sediaan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang 10% dan 20 % tidak mengalami perubahan warna sampai minggu ke 8, dan pada sediaan 30% terjadi perubahan warna setelah penyimpanan selama 8 minggu dari merah pekat menjadi merah kecoklatan. Dari perubahan bau terlihat pada sediaan dengan kandungan sari air bunga kecombrang 10% dan 20% tidak terjadi perubahan sampai minggu ke 8, dan pada sediaan 30% terjadi perubahan bau setelah 8 minggu.

Perubahan tersebut kemungkinan dapat disebabkan karena terjadinya oksidasi pada kandungan bahan di dalam sediaan, terutama senyawa polifenol seperti flavonoid dan tanin, dan dapat juga disebabkan oleh gangguan mikroorganisme seperti bakteri. Untuk mengatasi perubahan ini dapat dilakukan dengan penambahan antioksidan dan pengawet.

4.3.2 Pengamatan tinggi busa

Data dan hasil pengukuran tinggi busa pada sabun cair yang mengandung 3mengandung sari air bunga kecombrang dapat dilihat pada lampiran 9. Rekapitulasi hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.3 dapat dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4. 4 Hasil pengamatan tinggi busa

Sediaan	Pengamatan tinggi busa (mm)	
	Mula-mula	Setelah 5 menit
Basis sabun (Blanko)	10,30 ± 0,57	9,33 ± 1,65
Sabun SBK 10%	20,30 ± 1,52	15,10 ± 0,57
Sabun SBK 20%	25,20 ± 0,57	20,30 ± 1,52
Sabun SBK 30%	26,70 ± 0,57	21,37 ± 1,19

Keterangan : SBK = Sari air bunga kecombrang

Menurut Hanani, (2015) dan Melmanda, (1999) pengukuran tinggi busa diukur setelah dilakukan pengocokan selama 10 menit, dan didiamkan selama 5

menit untuk memperoleh hasil tinggi busa setelah pendiaman. Tabel 4.4 menunjukkan bahwa tinggi busa sediaan setelah didiamkan selama 5 menit, mengalami penurunan, namun perubahan ini masih berada dalam rentang persyaratan tinggi busa menurut Wikinson, (1982) yaitu 1,3-22 cm. Kemampuan sabun membentuk busa disebabkan adanya bahan *Foam booster* yaitu SLS (*Sodium Lauryl Sulfat*). dan adanya kandungan saponin di dalam sari air bunga kecombrang meningkatkan kemampuan membusa.

4.3.3 Hasil uji iritasi

Uji iritasi sediaan sabun cair hasil formulasi mengandung sari air bunga kecombran dilakukan terhadap 6 orang sukarelawan yang menyatrakn kesediaanya. Contoh suratnya dapat dilihat pada lampiran 10. Hasil uji iritasi dapat dilihat pada Tabel 4.5 sebagai berikut:

Tabel 4.5 Hasil uji iritasi terhadap sukarelawan

Pengamatan	Formulasi	Sukarelawan					
		1	2	3	4	5	6
Kulit kemerahan	Basis sabun (Blanko)	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 10%	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 20%	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 30%	-	-	-	-	-	-
Kulit gatal-gatal	Basis sabun (Blanko)	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 10%	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 20%	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 30%	-	-	-	-	-	-
Kulit bengkak	Basis sabun (Blanko)	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 10%	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 20%	-	-	-	-	-	-
	Sabun SBK 30%	-	-	-	-	-	-

Keterangan : SBK = Sari air bunga kecombrang

Tabel 4.5 menunjukkan hasil uji iritasi yang dilakukan pada sukarelawan dengan cara mengoleskan sediaan sabun di belakang telinga. Hasilnya terlihat tidak terdapat munculnya tanda tanda iritasi, maka dapat disimpulkan bahwa pada sabun cair dengan konsentrasi sari air bunga kecombrang 10% dan 20% dan 30% seluruhnya tidak memberikan hasil yang positif dan aman digunakan.

4.5 Hasil uji pH sediaan

Nilai pH sediaan sabun cair ditentukan dengan menggunakan pH meter. Gambar pengujiannya dapat dilihat pada lampiran 9. Hasil uji pH dapat dilihat pada tabel 4.6 sebagai berikut :

Tabel 4.6 Data pengukuran pH sediaan pada saat selesai dibuat

No	Formula	pH			
		I	II	III	Rata-rata
1	Basis sabun (Blanko)	7,6	7,8	7,7	7,7
2	Sabun SBK 10%	7,7	7,6	7,6	7,6
3	Sabun SBK 20%	7,5	7,4	7,6	7,5
4	Sabun SBK 30%	7,3	7,3	7,4	7,3

Tabel 4.6 di atas menunjukkan bahwa pH rata-rata dari seluruh sediaan yang diuji berkisar antara 7,3 – 7,7 berarti memenuhi syarat untuk sediaan tidak membuat kulit menjadi kering karena menurut Balsam (1972), persyaratan pH untuk sediaan yang digunakan pada kulit adalah 5-8. Terlihat semakin tinggi konsentrasi sari air bunga kecombrang maka pH sediaan semakin kecil. Hal ini karena di dalam sari air bunga kecombrang mengandung senyawa yang bersifat asam, terutama senyawa fenolat. Namun secara keseluruhan seluruh sediaan sabun cair dengan kandungan sari air bunga kecombrang berbagai konsentrasi, mempunyai pH masih sesuai persyaratan mutu sediaan yang digunakan pada kulit.

4.6 Hasil Uji Kesukaan (*Hedonic Test*)

Uji mkesukaan dilakukan dengan pengamatan secara organoleptis dilakukan untuk menilai kesukaan masyarakat terhadap sediaan sabun cair yang dibuat dengan menggunakan kepekaan pancaindra dan menyimpulkan tingkat kesukaan atau hedonik terhadap penampilan fisik sediaan gel yang dibuat meliputi warna dan bau, dan tekstur serta mudah digunakan. Penelitian dilakukan terhadap 20 orang panelis yang tidak terlatih diminta menilai bentuk, aroma, warna, dan tekstur serta mudah digunakan yang diisi melalui lembaran kuisioner yang telah disediakan, dapat dilihat pada lampiran 1. Penilaian tingkat kesukaan dilakukan dengan kriteria berikut :

- Sangat Suka (SS) : dengan nilai 5
- Suka (S) : dengan nilai 4
- Kurang suka (KS) : dengan nilai 3
- Tidak suka (TS) : dengan nilai 2
- Sangat tidak suka (STS) : dengan nilai 1

Data dan perhitungan tingkat kesukaan secara pengamatan visual langsung organoleptis dari berbagai formula dapat dilihat pada lampiran 13 dan rekapitulasi hasilnya dapat dilihat tabel 4.6 dan 4.7 berikut:

Tabel 4.7. Hasil pengamatan organoleptis tiap formula

Formula	Warna	Bau	Tekstur
Basis sabun (Blanko)	Bening	Tidak berbau	Cair
Sabun SBK10%	Merah muda	Aroma khas bunga kecombran sangat lemah	Agak kental
Sabun SBK 20%	Merah agak pekat	Aroma khas bunga kecombran agak tajam	Agak kental
Sabun SBK 30%	Merah kecoklatan	Aroma khas bunga kecombran sangat tajam	Kental

Tabel 4.8. Hasil uji interval nilai kesukaan tiap formula

Kriteria yang dinilai	Formula	Rentang nilai kesukaan	Nilai kesukaan terkecil	Kesimpulan
Warna	Basis sabun (Blanko)	1,4593 sampai 2,7407	1,4593 = 1	Sangat tidak suka
	Sabun SBK10%	1,9396 sampai 2,9604	1,9396 = 2	Tidak suka
	Sabun SBK20%	4,5922 sampai 5,2078	4,5922 = 5	Sangat suka
	Sabun SBK30%	3,5475 sampai 4,6525	3,5475 = 4	Suka
Bau	Basis sabun (Blanko)	1,4048 sampai 2,8952	1,4048 = 1	Sangat tidak suka
	Sabun SBK10%	3,0974 sampai 4,1026	3,0974 = 3	Kurang suka
	Sabun SBK20%	4,5922 sampai 5,2078	4,5922 = 5	Sangat suka
	Sabun SBK30%	3,5844 sampai 4,8156	3,5844 = 4	Suka
Bentuk/ tekstur	Basis sabun (Blanko)	1,9396 sampai 2,9604	1,9396 = 2	Tidak suka
	Sabun SBK10%	4,0396 sampai 5,0952	4,0396 = 4	Suka
	Sabun SBK20%	4,5922 sampai 5,2078	4,5922 = 5	Sangat suka
	Sabun SBK30%	3,9396 sampai 4,9604	3,9396 = 4	Suka
Mudah digunakan	Basis sabun (Blanko)	3,7288 sampai 4,8712	3,7288 = 4	Suka
	Sabun SBK10%	3,6769 sampai 4,7231	3,6769 = 4	Suka
	Sabun SBK20%	4,5922 sampai 5,2078	4,5922 = 5	Sangat suka
	Sabun SBK30%	3,6048 sampai 5,0952	3,6048 = 4	Suka

Keterangan : SBK = Sari air bunga kecombrang

Tabel 4.7 di atas menunjukkan bahwa sediaan sabun cair yang paling disukai panelis baik dari segi warna dan bau, tekstur (bentuk), dan mudahnya penggunaan adalah formula yang mengandung sari air bunga kecombrang 20%.

Dari segi aroma sediaan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang 20% dinilai lebih baik dikarenakan sediaan mempunyai aroma khas yang menarik, dibanding sediaan dengan sari air bunga kecombrang 30% mempunyai aroma sangat kuat sehingga tidak disukai oleh para panelis, sedangkan sediaan sabun dengan sari air bunga kecombrang 10% mempunyai

aroma tidak terlalu terasa.

Dari segi bentuk sediaan sabun cair dengan konsentrasi sari air bunga kecombrang 20% lebih disukai karena tidak terlalu encer dibandingkan sediaan dengan sari air bunga kecombrang 10%, sedangkan sediaan dengan sari air bunga kecombrang 30% tidak terlalu disukai karena bentuk/konsistensinya terlalu kental.

Dan dari segi kemudahan penggunaan, panelis lebih menyukai sabun dengan sari air bunga kecombrang 20%, dikarenakan kemudahan penggunaan sabun dengan sari air bunga kecombrang 10% dan 30% tidak terlalu nyaman, oleh karena itu panelis menyukai sediaan sabun yang mengandung sari air bunga kecombrang 20%. Dapat disimpulkan bahwa sediaan sabun yang mengandung sari air bunga kecombrang 20% lebih disukai oleh para panelis karena mudah pada penggunaannya.

4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair

Uji aktivitas antibakteri sediaan sabun cair dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan yang diformulasikan dengan kandungan sari air bunga kecombrang sebagai antibakteri. Pengujian dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram positif dan bakteri *Escherichia coli* sebagai bakteri Gram negatif. Hasil pengamatan diameter hambatan pertumbuhan bakteri oleh sediaan sabun yang mengandung sari air bunga kecombrang berbagai konsentrasi dan sebagai kontrol positif digunakan sediaan komersial yang beredar di pasaran sebagai blanko digunakan basis sabun yanpa bahan uji, Data diameter hambatannya dapat dilihat pada lampiran 14, dan gambarnya dapat dilihat pada lampiran 15. Rekapitulasi hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.9 berikut :

Tabel 4.9. Diameter hambatan pertumbuhan bakteri oleh sediaan sabun cair SBK

Formula	Diameter Hambatan Pertumbuhan Bakteri (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Basis sabun (Blanko)	6,17 ± 0,33	6,13 ± 0,33
Sabun cair SBK 10%	12,87 ± 0,33	11,73 ± 0,66
Sabun cair SBK 20%	15,70 ± 0,57	14,60 ± 0,57
Sabun cair SBK 30%	18,17 ± 0,88	17,67 ± 0,88
Sabun Detol	20,63 ± 0,33	20,03 ± 0,33

Keterangan : SKB = Sari air bunga kecombrang

Secara umum hasil uji dengan cara difusi agar, bila suatu menunjukkan diameter hambatan pertumbuhan bakteri lebih besar dari 13 mm dikatakan bakteri tersebut peka terhadap bahan yang di uji atau dengan kata lain bahan yang diuji sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dan dikatakan bakteri kurang peka bila diameter hambatan 10 – 12 mm atau dikatakan bahan uji kurang kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dan dikatakan bakteri resisten atau bahan uji tidak kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri bila diameter hambatan yang diperoleh lebih kecil dari 10 mm (Kumari 2000).

Berdasarkan Farmakope Indonesia edis V (2014), daya hambat efektif apabila menghasilkan hambatan dengan diameter lebih kurang 14 mm. Diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Hasil uji aktivitas anti-bakteri sediaan *sabun cair* yang mengandung sari air bunga kecombrang dalam berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, menunjukkan hasil bahwa sediaan *sabun cair* yang mengandung sari air bunga kecombrang 30% memberikan hambatan sangat kuat terhadap *Staphylococcus aureus* adalah (18,17 ± 0,88) mm,

dan pada konsentrasi 10% sudah menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, tetapi kurang kuat (agak kecil) yaitu $(12,87 \pm 0,33)$ mm. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* memberikan hambatan yang lebih besar dibandingkan terhadap *Escherichia coli*, pada konsentrasi 30% terlihat hambatan pertumbuhan bakteri $(17,67 \pm 0,88)$ mm.

Walaupun diameter hambatan pertumbuhan bakteri yang diberikan oleh sediaan *sabun cair* yang mengandung sari air bunga kecombrang berbeda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dan lebih kecil dibandingkan dengan hambatan pertumbuhan yang diberikan oleh *sabun cair* yang beredar di pasaran, namun pada konsentrasi sari air bunga kecombrang 30% masih termasuk kategori sangat kuat.

Hambatan pertumbuhan yang dihasilkan oleh sediaan sabun cair terhadap *Escherichia coli* lebih kecil dibanding terhadap *Staphylococcus aureus*, hal ini dapat disebabkan karena *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif mempunyai dinding-dinding sel yang tipis (10 – 15 mm) tetapi susunannya lebih kompleks dengan kandungan lipid yang tinggi sehingga dinding selnya lebih sulit ditembus oleh bahan yang bersifat polar dan semi polar sebagaimana terkandung di dalam sari air bunga kecombrang, terutama senyawa fenol. Sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel sederhana dan tebal (15 – 80 mm) berlapis tunggal, kandungan lipid rendah (1–4 %) lapis membran *sitoplasma* tersusun dari peptidoglikan dan asam *teichoic* berupa polimer larut dalam air, sehingga bakteri Gram positif lebih mudah ditembus oleh zat – zat polar yang berasal dari sari bunga kecombrang yang

terlarut di dalam sediaan seperti senyawa polifenol, flavonoid, dan tanin yang berpotensi sebagai antibakteri, sehingga diameter yang dihasilkan lebih besar.

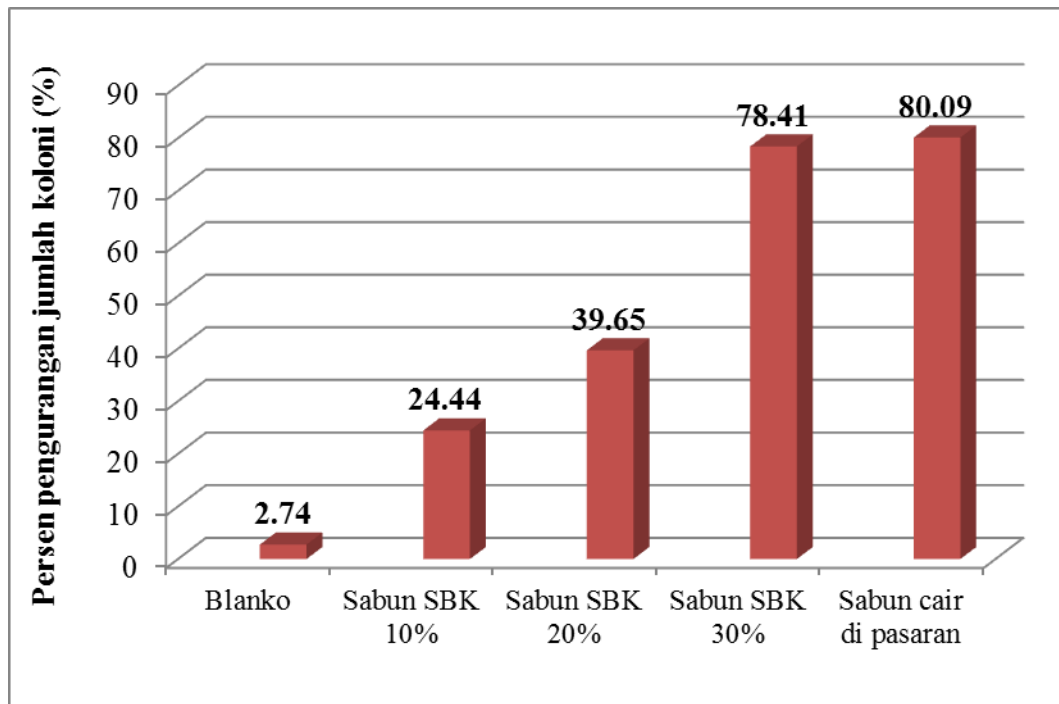
4.6 Hasil Uji Aktivitas ALT Terhadap Spesimen Cuci Tangan

Metode *pour plate* adalah suatu teknik menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar sehingga sel-sel mikroorganisme tersebar merata di media agar (Harley & Presscot, 2002), merupakan cara menentukan jumlah koloni bakteri dalam sampel ditanam dalam media Nutrien agar diinkubasikan selama 18 -24 jam, pada suhu sekitar 37 °C lalu dihitung jumlah koloni

Contoh perhitungan persentase pengurangan jumlah koloni bakteri pada spesimen cuci tangan sukarelawan sebelum dan setelah penggunaan sabun dapat dilihat pada lampiran 16. Data dan l perhitungan dapat dilihat pada lampiran 18, Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.9. dan Gambar 4.1 sebagai berikut:

Tabel 4.9. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri dari spesimen air cuci tangan

Sabun cair yang diuji	Sukarelawan	Jumlah koloni bakteri rata-rata (CFU/g)		Persen jumlah pengurangan koloni bakteri (%)
		Sebelum pemakaian sabun cair	Setelah pemakaian sabun cair	
Blanko	1	142	138	2,82
	2	143	140	2,10
	3	140	137	2,14
	4	143	138	3,50
	5	158	153	3,16
	6	147	143	2,72
Persen jumlah pengurangan koloni bakteri sebenarnya = 2,74 %				
Sabun cair SBK 10%	1	142	105	25,88
	2	163	128	21,47
	3	185	147	20,54
	4	143	105	26,57
	5	140	102	27,14
	6	153	115	24,84
Persen jumlah pengurangan koloni bakteri sebenarnya = 24,44 %				
Sabun cair SBK 20%	1	138	84	39,13
	2	145	88	39,31
	3	143	87	39,16
	4	148	89	39,64
	5	157	93	40,76
	6	148	89	39,86
Persen jumlah pengurangan koloni bakteri sebenarnya = 39,85 %				
Sabun cair SBSW 30%	1	153	33	78,43
	2	143	33	76,92
	3	148	31	79,05
	4	142	30	78,87
	5	142	30	78,87
	6	152	33	78,41
Persen jumlah pengurangan koloni bakteri sebenarnya = 78,41 %				
Sabun cair Anti septik Detol dari pasaran	1	138	27	80,43
	2	145	29	80,00
	3	143	28	80,42
	4	148	30	79,73
	5	157	31	80,25
	6	138	27	80,43
Persen jumlah pengurangan koloni bakteri sebenarnya = 80,09 %				



Ganbar 4.1. Histogram persen penurunan jumlah koloni bakteri hasil uji ALT

Dari hasil uji ALT (angka lempeng total) pada air cuci tangan sukarelawan sebelum dan setelah menggunakan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah koloni bakteri dari spesimen air cuci tangan sukarelawan yang diuji. Semakin tinggi konsentrasi sari air bunga kecombrang di dalam sediaan sabun cair, terlihat persentase penurunan jumlah koloni bakteri semakin tinggi. Persen pengurangan jumlah koloni bakteri yang sangat signifikan dari berbagai formula yaitu basis sabun (blanko) tanpa menggunakan sari air bunga kecombrang dengan formula sabun cair menggunakan sari air bunga kecombrang konsentrasi 10%, 20%, dan 30% . Sediaan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang 30% terlihat tidak berbeda signifikan dengan sabun antiseptik Detol yang beredar di pasaran.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang sangat berpotensi sebagai antiseptik, karena pada konsentrasi

10% sudah menunjukkan pengurangan jumlah koloni bakteri sebesar (24,44 %)% pada spesimen air cuci tangan sukarelawan antara sebelum dan setelah menggunakan sediaan sabun cair tersebut. Dan pada konsentrasi 30% menunjukkan persen penurunan jumlah koloni bakteri sangat signifikan yaitu $(78,41 \pm 1,29)\%$, hampir sama dengan sabun Detol antiseptik yang beredar di pasaran yaitu $(80,09 \pm 0,53)\%$

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Bunga kecombrang segar dan sari air bunga kecombrang mengandung senyawa metabolit sekunder golongan yang sama yaitu alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, saponin dan glikosida.
2. Sari air bunga kecombrang dalam konsentrasi 10%, 20% dan 30% dapat diformulasikan ke dalam sediaan sabun cair.
3. Sediaan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan bakteri dari spesimen air cuci tangan sukarelawan.
4. Sediaan sabun cair yang mengandung sari air bunga kecombrang 20 % sangat baik sangat disukai panelis dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri sangat kuat dengan diameter hambatan ($11,20 \pm 0,48$) mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan ($10,50 \pm 0,82$) mm terhadap *Escherichia coli*.

5.2 Saran

Diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk memformulasikan bunga kecombrang dalam bentuk sediaan lainnya, misalnya sediaan kumur-kumur, lotion, jelli dan sediaan lainnya, dan diuji aktivitas terhadap bakteri lain dan jamur, sehingga penggunaan bunga kecombrang dari segi kesehatan semakin banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standarisasi Nasional, 1996, Standar Sabun Mandi Cair, SNI 06-4085-1996, Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta
- Chan et al., (2011). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia, Jakarta. Hal 132.
- Dini dkk, 2011). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri E.coli dan S.aureus. *Protobiont Vol.4 No.1*. Pontianak: Universitas Tanjung Pura.
- Djuanda, S dan Sri Adi S. Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2007
- Depkes, RI, (2000), *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal 3.
- Ditjen, POM. (1978). *Materi Medika Indonesia Jilid II*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hal. 150-156, 165-167
- Ditjen, POM. (1979). *Materi Medika Indonesia Jilid III*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hal. 155-161
- Ditjen, POM. (1989). *Materi Medika Indonesia Jilid IV*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hal. 38-39, 536, 539-540
- Departemen Kesehatan RI, 1995, Farmakope Indonesia Edisi IV, 551, 713. Jakarta.
- Depkes, RI. (2014). *Farmakope Indonesia Edisi V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 1212-1213
- Dwidjoseputro. 1978. *Dasar- Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Fatisa, 2013. *Daya Antibakteri Estrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (Nephelium mutabile) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Secara In Vitro*. Universitas Islam Negeri sultan Syarif Kasim Riau
- Gembong Tjitrosoepomo. (2005). *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta : Gadjadara University Press.
- Harborne, J.B. (1987), *Metode Fitokimia*. Terjemahan Padmawinata, K dan soediro, Cetakan I, Bandung: ITB. Hal 76,85-99, 147-153, 234-235.
- Hanani E, 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- HiMedia Technical Data. 2015. *Mueller Hinton Agar M173*. HiMedia Laboratories Pvt.
- Hidayat, S dan J.R Hutapea, 1991. *Inventaris tanaman obat Indonesia*. Departemen Kesehatan RI
- Irianto, K., 2006, *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*, jilid 1, Yrama Widya, Bandung
- Jaweetz.E., J.Melnick., E. Alderberg (1996). *Mikrobiologi Kedokteran* ; Alih Bahasa Edi Nugroho, R.F.Maulany ; Editor, Irawan Setiawan Edisi.20. EGC.Jakarta. Hal: 153-172, 211.
- Jaafar et al. (2007). *Analysis of Essential Oils of Leaves, Stems, Flowers And Rhizomes Of Etlingera Elatior (Jack) R. M. Smith*. Jurnal Sains Analitik. Fakultas Sains. Universitas Malaya. Kualalumpur
- Loho, 2007. *Penyakit Kulit dan Kelamin*. Medical book, Jakarta
- Lestari, Astuti. (2018). *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi Etil Asetat Batang Benalu (Dendrophthoe Falcata (L.F.) Ettingsh.) Pada Tanaman Mindi (Melia Azedarach L.)*. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNY: Yogyakarta.
- Marasahi, 2011. *Pengenalan Alat Mikrobiologi Dasar*, Bandung
- Madigan M and Martinko J (editors). (2005). *Brock Biology of Microorganisms (11th ed.)*. Prentice Hall.
- Melmanda, A. (1999). *Pembuatan sampo Dengan Menggunakan Minyak Kelapa Dan Kalium Hidroksida*. Skripsi. Jurusan Farmasi. FMIPA USU. Hal: 20
- Meilisa, 2009, *Uji Aktivitas Antibakteri dan Formulasi Dalam Sediaan Kapsul Dari Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak*, Medan,Fak.Farmasi, Universitas Sumatera Utara
- Oktavianus dkk. (2015). *Asuhan Keperawatan Pada Perawatan Kulit Orang Dewasa*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Oxoid. 1982. The oxoid mannual of culture media, ingredients and other laboratory services. *Fifth Edition. Published by Oxoid Limited, Wade Road. Basingtoke*. Hampshire.
- Pradika, E.I. 2008. *Isolasi Mikroorganisme*. Jurnal Kesehatan Lingkungan. 4(3): 15–19.
- Pratiwi, Sylvia., T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Jakarta, Erlangga

- Prayoga, Eko. 2013. *Perbandingan Efek Ekstraksi Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, 107, 118, 201-207, 295, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Ramadhani, (2013). *Pengantar Mikrobiologi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Jakarta. Hal: 37-38, 122-123.
- Sukawaty et al., 2016., *Pengujian Aktivitas Antimikroba*. Universitas Padjadjaran. Bandung. Hal 5-6.
- Sukandar, 2011. *Morfologi Tumbuhan Tentang Bunga*. Bandung
- Silaban, L. W. 2009. *Skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri dari kulit buah sentul (Sandoricum koetjoe (burm. f.) Merr) terhadap beberapa bakteri secara in vitro*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Stanier dkk, 1982. *The Microbiology World*. New Jersey: Prentice Hall.
- Sitorus dkk., 2009, *Spektroskopi edisi elucidasi struktur molekul organik*, Graha Ilmu, Yogyakarta
- Tampubolon et al., (1983). *Penelitian Pendahuluan Kimia Kecombrang (Nicotiana glauca Horan). Dalam Risalah symposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta
- Taiz & Zeiger, 2006. *Struktur dan Fisiologi Tumbuhan Proses Metabolisme Senyawa Fitokimia*. Universitas Indonesia, Jakarta
- Wasitaatmadja., (1997), *"Penuntun Ilmu Kosmetik Medik"*. Jakarta. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Hal 62-64, 111-112

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Tumbuhan Bunga Kecombrang

HERBARIUM MEDANENSE
(MEDA)
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA

Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155
 Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail. nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 06 April 2021

N0 : 986/MEDA/2021
 Lamp : -
 Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH

Sdr/i : Demawani Sitohang
 NIM : 1904021
 Instansi : STIKes Indah Medan

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Kelas : Monocotyledoneae
 Ordo : Zingiberales
 Famili : Zingiberaceae
 Genus : Etlingera
 Spesies : Etlingera elatior (Jack) R.M. Smith

Demikian semoga berguna bagi saudara



Kepala Herbarium Medanense.

Dr. Nursahara Pasaribu, M.Sc
 NIP. 196301231990032001

Lampiran 2. Gambar tumbuhan kecombrang dan bunga



Gambar Tumbuhan kecombrang



Gambar Bunga kecombrang

Lampiran 3. Alat – Alat Yang Digunakan



Gambar Oven



Gambar Inkubator

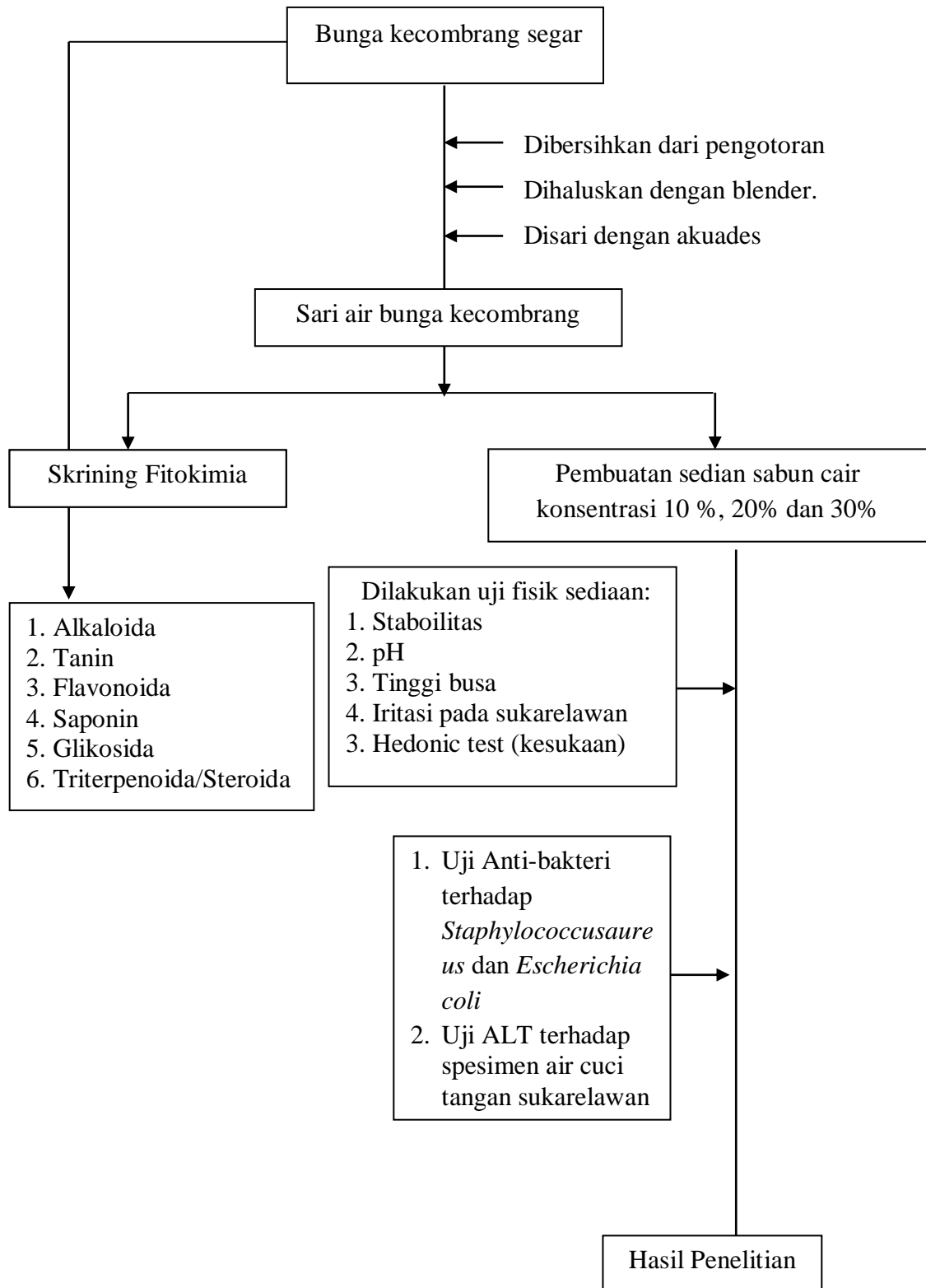


Gambar Autoklaf

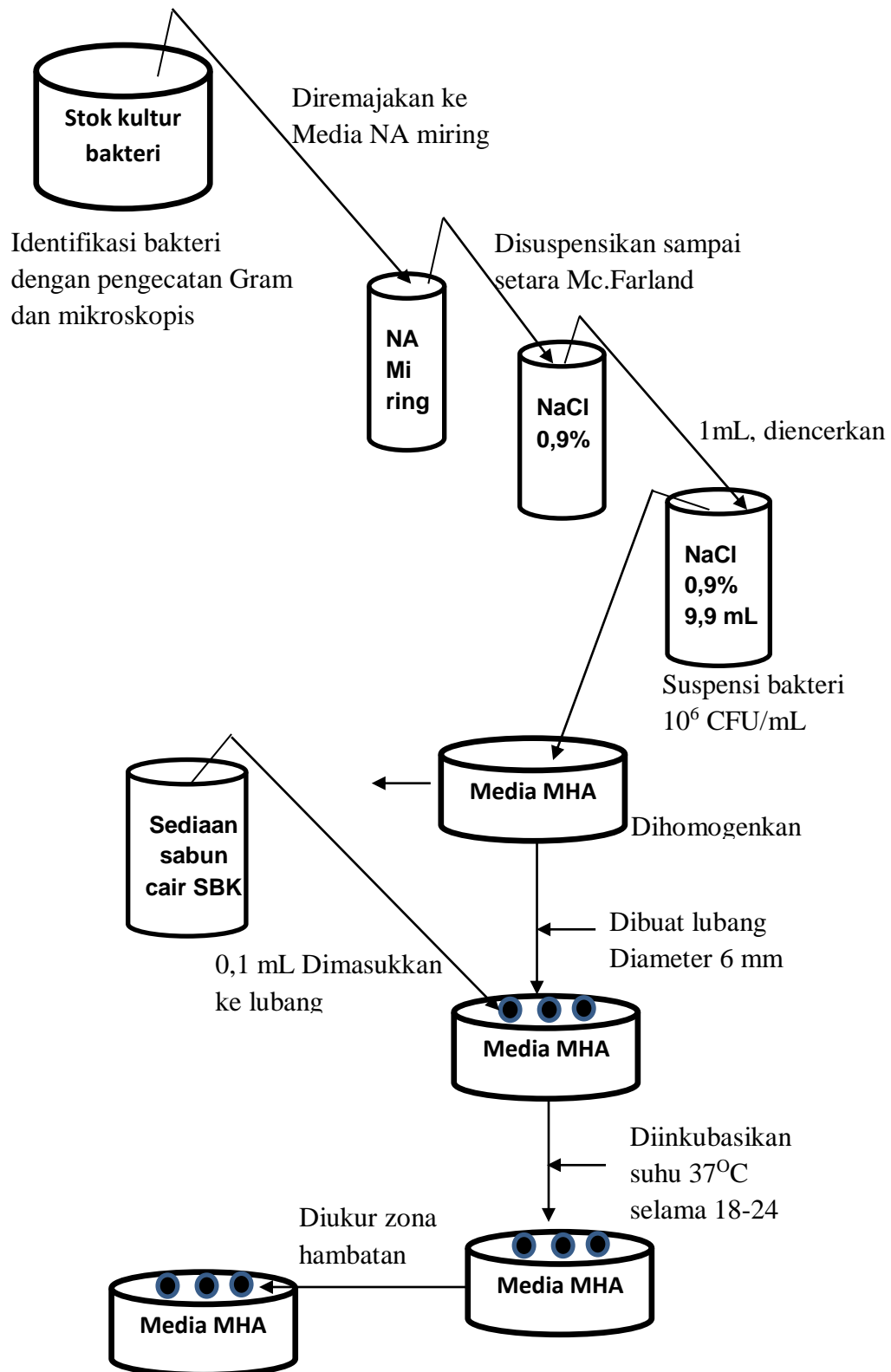


Gambar pH meter

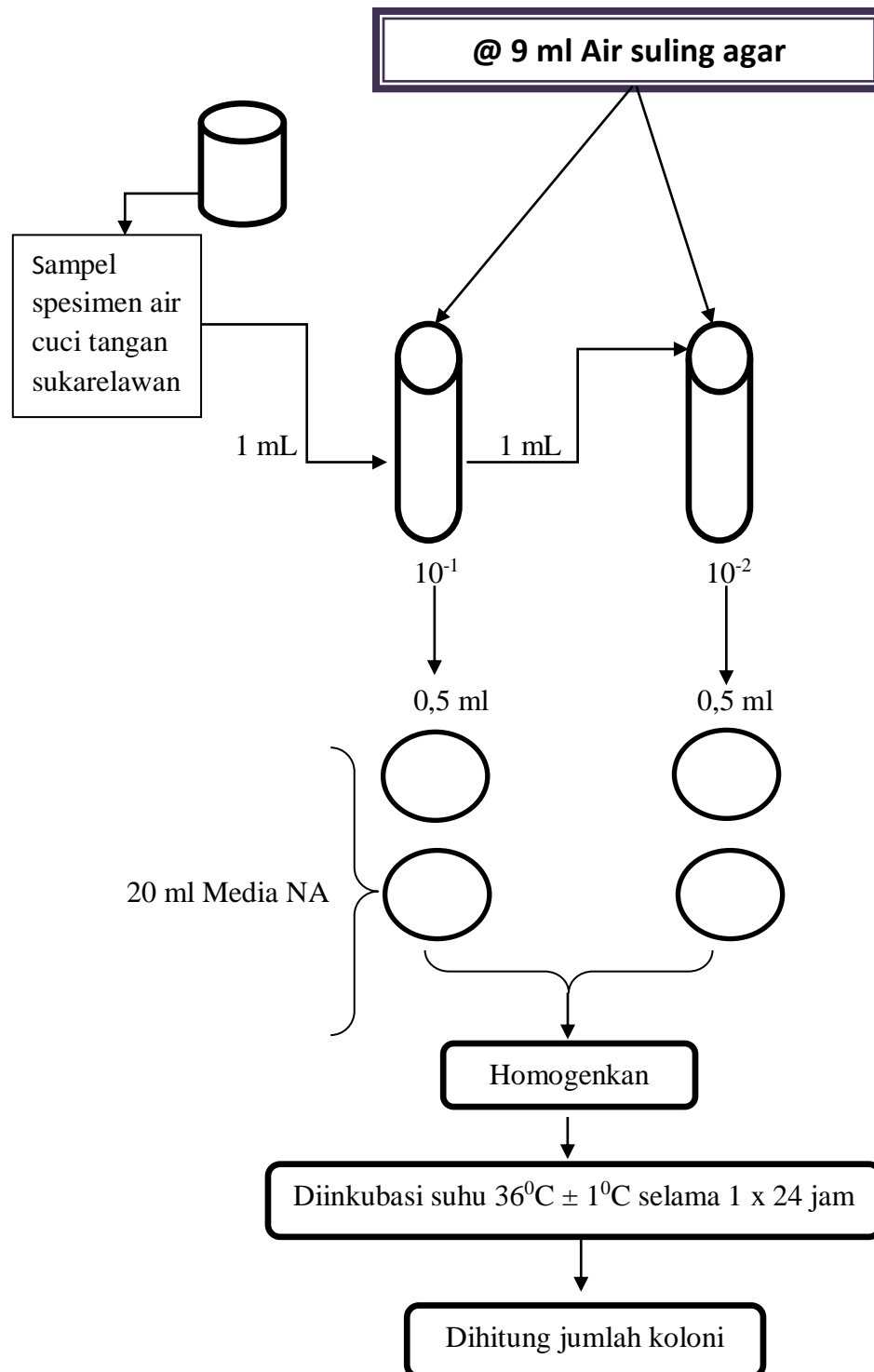
Lampiran 4. Bagan alir penelitian



Lampiran 5. Bagan alir uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar



Lampiran 6. Bagan alir uji aktivitas antibakteri (ALT) terhadap spesimen saliva



Dikerjakan sebelum menggunakan sabun dan setelah menggunakan sabun, dihitung persen pengurangan jumlah koloni sebelum dan setelah penggunaan sabun

Lampiran 7. Gambar hasil uji skrining fitokimia**Saponin****Tanin****Triterpenoid****Alkaloid (Dragendroff)****Bouchard****Mayer****Flavonoid****glikosida**

Lampiran 8. Gambar Formula *sabun cair* mengandung sari air bunga kecombrang



Keterangan: SBK = Sari air bunga kecombrang

Lampiran 9. Hasil uji tinggi busa

Formula yang diuji	Tinggi busa (mm)	
	Mula-mula	
Basis sabun (Blanko)	10,40	9,00
	10,20	9,50
	10,30	9,50
Tinggi busa rata-rata	= 10,30	= 9,33
Standar deviasi	= 0,10	= 0,29
Tinggi busa sebenarnya	= 10,30 ± 0,57	= 9,33 ± 1,65
Sabun cair SBSW 10%	20,50	15,00
	20,40	15,10
	20,00	15,20
Tinggi busa rata-rata	= 20,30	= 15,10
Standar deviasi	= 0,26	= 0,10
Tinggi busa sebenarnya	= 20,30 ± 1,52	= 15,10 ± 0,57
Sabun cair SBSW 20%	25,20	20,00
	25,30	20,40
	25,10	20,50
Tinggi busa rata-rata	= 25,20	= 20,30
Standar deviasi	= 0,10	= 0,26
Tinggi busa sebenarnya	= 25,20 ± 0,57	= 20,30 ± 1,52
Sabun cair SBSW 30%	26,80	21,30
	26,60	21,60
	26,70	21,20
Tinggi busa rata-rata	= 26,70	= 21,37
Standar deviasi	= 0,10	= 0,21
Tinggi busa sebenarnya	= 26,70 ± 0,57	= 21,37 ± 1,19

Lampiran 10. Hasil Uji pH

Lampiran 11. Format surat pernyataan uji iritasi

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama :

Umur :

Jenis Kelamin :

Menyatakan bersedia menjadi panelis untuk uji iritasi dalam penelitian formulasi sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga kecombrang yang memenuhi kriteria sebagai panelis uji iritasi (Ditjen POM, 1985) sebagai berikut:

1. Wanita
2. Usia antara 20-30 tahun
3. Berbadan sehat jasmani dan rohani
4. Tidak memiliki riwayat penyakit alergi
5. Menyatakan kesediaannya dijadikan panelis uji iritasi

Apabila terjadi hal-hal yang tidak diinginkan selama uji iritasi, panelis tidak akan menuntut kepada peneliti.

Demikian surat pernyataan ini dibuat atas partisipasinya peneliti mengucapkan terimakasih.

Medan, Juli 2021

(.....)

Lampiran 12. Contoh lembar kuisisioner uji kesukaan (hedonic test)

Mohon kesediaan teman-teman untuk mengisi jawabannya sesuai pendapatnya

Umur :

Perhatikan warna dari masing-masing formula dan mohon diberi jawaban pada pernyataan.

1. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai warna dari sediaan *sabun cair* “Blanko” ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
2. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai warna dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelean 10% (SBK 10%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
3. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai warna dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelean 20% (SBK 20%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
4. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai warna dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelean 30% (SBK 30%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS

Keterangan :

STS= Sangat Tidak Suka

S = Suka

TS = Tidak Suka

SS = Sangat Suka

KS = Kurang Suka

Lampiran 12. (Lanjutan). Contoh lembar kuisisioner uji kesukaan (hedonic test)

Mohon kesediaan teman-teman untuk mengisi jawabannya sesuai pendapatnya

Umur :

Perhatikan bau (aroma) dari masing-masing formula dan mohon diberi jawaban pada pernyataan.

1. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai bau (aroma) dari sediaan *sabun cair* “Blanko” ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
2. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai bau (aroma) dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 10% (SBK 10%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
3. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai bau (aroma) dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 20% (SBK 20%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
4. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai bau (aroma) dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 30% (SBK 30%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS

Keterangan :

STS= Sangat Tidak Suka

S = Suka

TS = Tidak Suka

SS = Sangat Suka

KS = Kurang Suka

Lampiran 12. (Lanjutan). Contoh lembar kuisioner uji kesukaan (hedonic test)

Mohon kesediaan teman-teman untuk mengisi jawabannya sesuai pendapatnya

Umur :

Perhatikan bentuk (tekstur) dari masing-masing formula dan mohon diberi jawaban pada pernyataan.

1. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai bentuk (tekstur) pada pemakaian dari sediaan *sabun cair* “Blanko” ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
2. Bagaimana penilaian teman-teman bentuk (tekstur) dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 10% (SBK 10%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
3. Bagaimana penilaian teman-teman bentuk (tekstur) dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 20% (SBK 20%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
4. Bagaimana penilaian teman-teman bentuk (tekstur) dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 30% (SBK 30%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS

Keterangan :

STS= Sangat Tidak Suka

S = Suka

TS = Tidak Suka

SS = Sangat Suka

KS = Kurang Suka

Lampiran 12. (Lanjutan). Contoh lembar kuisisioner uji kesukaan (hedonic test)

Mohon kesediaan teman-teman untuk mengisikan jawabannya sesuai pendapatnya

Umur :

Perhatikan kemudahan penggunaan dari masing-masing formula dan mohon diberi jawaban pada pernyataan.

1. Bagaimana penilaian teman-teman mengenai kemudahan penggunaan dari sediaan *sabun cair* “Blanko” ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
2. Bagaimana penilaian teman-teman kemudahan penggunaan dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 10% (SBK 10%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
3. Bagaimana penilaian teman-teman kemudahan penggunaan dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 20% (SBK 20%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS
4. Bagaimana penilaian teman-teman kemudahan penggunaan dari sediaan *sabun cair* mengandung sari air bunga tembelekan 30% (SBK 30%) ini
 a. STS b. TS c. KS d. S e. SS

Keterangan :

STS= Sangat Tidak Suka

S = Suka

TS = Tidak Suka

SS = Sangat Suka

KS = Kurang Suka

Lampiran 13. Contoh perhitungan rentang kesukaan

Panelis	Hasil uji kesukaan warna pada sukarelawan			
	Kode	Nilai kesukaan (X)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	TS	2	0,1000	0,0100
2	KS	3	0,9000	0,8100
3	TS	2	-0,1000	0,0100
4	KS	3	0,9000	0,8100
5	TS	2	-0,1000	0,0100
6	TS	2	-0,1000	0,0100
7	TS	2	-0,1000	0,0100
8	TS	2	-0,1000	0,0100
9	KS	3	0,9000	0,8100
10	TS	2	-0,1000	0,0100
11	TS	2	-0,1000	0,0100
12	TS	2	-0,1000	0,0100
13	KS	3	0,9000	0,8100
14	STS	1	-1,1000	1,2100
15	TS	2	-0,1000	0,0100
16	TS	2	-0,1000	0,0100
17	TS	2	-0,1000	0,0100
18	STS	1	-1,1000	1,2100
19	STS	1	-1,1000	1,2100
20	KS	3	0,9000	0,8100
Nilai kesukaan rata-rata (\bar{X}) = 2,1000			Nilai total $(X_i - \bar{X})^2 = 7,8000$	

$$\text{Standar deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$\text{Standar deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{7,8000}{20-1}} = 0,6407$$

Rentang nilai kesukaan warna dari sediaan basis sabun cair

$$= \text{Nilai rata-rata } (\bar{X}) - 0,6407 \geq \mu \leq \text{Nilai rata-rata } (\bar{X}) + 0,6407$$

$$= 2,1000 - 0,6407 \geq \mu \leq 2,1000 + 0,6407$$

$$= 1,4593 \geq \mu \leq 2,7407$$

Dengan cara yang sama dihitung untuk formula lainnya dan untuk kriteria lainnya yaitu untuk kriteria bau, dan tekstur kemudahan penggunaan. Data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 14 sampai 17

Lampiran 14. Data dan perhitungan rentang kesukaan terhadap berbagai formula sediaan sabun cair SBK

Hasil perhitungan rentang kesukaan warna dari berbagai formula

Panelis	Hasil uji kesukaan warna dari berbagai formula sediaan sabun cair SBK							
	Basis sabun cair		Sabun cair SBK 10%		Sabun cair SBK 20%		Sabun cair SBK 30%	
	kode	nilai	kode	nilai	kode	nilai	kode	nilai
1	TS	2	TS	2	SS	5	S	4
2	KS	3	KS	3	SS	5	S	4
3	TS	2	KS	3	SS	5	S	4
4	KS	3	KS	3	SS	5	KS	3
5	TS	2	TS	2	SS	5	S	4
6	TS	2	TS	2	SS	5	S	4
7	TS	2	TS	2	S	4	S	4
8	TS	2	TS	2	SS	5	S	4
9	KS	3	KS	3	SS	5	S	4
10	TS	2	TS	2	SS	5	S	4
11	TS	2	KS	3	S	4	S	4
12	TS	2	TS	2	SS	5	S	4
13	KS	3	KS	3	SS	5	KS	3
14	STS	1	TS	2	SS	5	S	4
15	TS	2	TS	2	SS	5	SS	5
16	TS	2	TS	2	SS	5	SS	5
17	TS	2	TS	2	SS	5	S	4
18	STS	1	KS	3	SS	5	SS	5
19	STS	1	KS	3	SS	5	SS	5
20	KS	3	KS	3	SS	5	S	4

	Basis sabun cair	Sabun cair SBK 10%	Sabun cair SBK 20%	Sabun cair SBK 30%
Rata-rata nilai kesukaan =	2,2000	2,4500	4,9000	4,1000
Standar deviasi =	0,6407	0,5104	0,3078	0,5525
Rentang nilai kesukaan =	1,4583 sampai 2,7407	1,9396 sampai 5,3945	4,5922 sampai 5,2078	3,5475 sampai 4,36525

Keterangan:

- A. Basis *sabun cair*
- B. *Sabun cair* SBK 10%
- C. *Sabun cair* SBK 20%
- D. *Sabun cair* SBK 30%

Lampiran 15 Data dan perhitungan rentang kesukaan terhadap berbagai formula sediaan sabun cair SBK

Hasil perhitungan rentang kesukaan bau (aroma) dari berbagai formula

Panelis	Hasil uji kesukaan bau (aroma) dari berbagai formula sediaan sabun cair SBK							
	Basis sabun cair		Sabun cair SBK 10%		Sabun cair SBK 20%		Sabun cair SBK 30%	
	kode	nilai	kode	nilai	kode	nilai	kode	nilai
1	STS	1	KS	3	S	4	S	4
2	STS	1	KS	3	SS	5	KS	3
3	TS	2	S	4	SS	5	S	4
4	KS	3	KS	3	SS	5	S	4
5	TS	2	S	4	SS	5	S	4
6	KS	3	S	4	SS	5	S	4
7	KS	3	S	4	SS	5	SS	5
8	TS	2	S	4	SS	5	S	4
9	KS	3	S	4	SS	5	S	4
10	STS	1	S	4	SS	5	SS	5
11	TS	2	S	4	S	4	S	4
12	TS	2	S	4	SS	5	S	4
13	KS	3	KS	3	SS	5	KS	3
14	KS	3	S	4	SS	5	S	4
15	TS	2	KS	3	SS	5	SS	5
16	TS	2	KS	3	SS	5	SS	5
17	TS	2	S	4	SS	5	S	4
18	TS	2	KS	3	SS	5	SS	5
19	STS	1	KS	3	SS	5	SS	5
20	KS	3	S	4	SS	5	S	4

	Basis sabun cair	Sabun cair SBK 10%	Sabun cair SBK 20%	Sabun cair SBK 30%
Rata-rata nilai kesukaan =	2,1500	3,6000	4,9000	4,2000
Standar deviasi =	0,7452	0,5026	0,3078	0,6156
Rentang nilai kesukaan =	1,4048 sampai 2,8952	3,0974 sampai 4,1026	4,5922 sampai 5,2078	3,5844 sampai 4,38156

Keterangan:

- A. Basis *sabun cair*
- B. *Sabun cair* SBK 10%
- C. *Sabun cair* SBK 20%
- D. *Sabun cair* SBK 30%

Lampiran 16 Data dan perhitungan rentang kesukaan terhadap berbagai formula sediaan sabun cair SBK

Hasil perhitungan rentang kesukaan tekstur (brntuk) dari berbagai formula

Panelis	Hasil uji kesukaan tekstur (bentuk) dari berbagai formula sediaan sabun cair SBK							
	Basis sabun cair		Sabun cair SBK 10%		Sabun cair SBK 20%		Sabun cair SBK 30%	
	kode	Nilai	kode	nilai	kode	nilai	kode	nilai
1	SS	5	S	4	SS	5	S	4
2	S	4	S	4	S	4	S	4
3	SS	5	SS	5	SS	5	S	4
4	S	4	S	4	SS	5	KS	3
5	SS	5	SS	5	SS	5	KS	3
6	S	4	S	4	SS	5	SS	5
7	KS	3	KS	3	SS	5	SS	5
8	S	4	S	4	SS	5	SS	5
9	SS	5	SS	5	SS	5	KS	3
10	SS	5	SS	5	SS	5	SS	5
11	SS	5	S	4	SS	5	SS	5
12	S	4	S	4	SS	5	SS	5
13	SS	5	SS	5	SS	5	S	4
14	S	4	S	4	SS	5	S	4
15	S	4	S	4	S	4	S	4
16	S	4	S	4	SS	5	S	4
17	S	4	S	4	SS	5	SS	5
18	S	4	S	4	SS	5	SS	5
19	S	4	S	4	SS	5	SS	5
20	S	4	S	4	SS	5	SS	5

	Basis sabun cair	Sabun cair SBK 10%	Sabun cair SBK 20%	Sabun cair SBK 30%
Rata-rata nilai kesukaan =	4,3000	4,2000	4,9000	4,3500
Standar deviasi =	0,5712	0,5231	0,3078	0,7452
Rentang nilai kesukaan =	3,7288 sampai 4,8712	3,6769 sampai 4,7321	4,5922 sampai 5,2078	3,6048 sampai 5,0952

Keterangan:

- A. Basis *sabun cair*
- B. *Sabun cair* SBK 10%
- C. *Sabun cair* SBK 20%
- D. *Sabun cair* SBK 30%

Lampiran 17. Data dan perhitungan rentang kesukaan terhadap berbagai formula sediaan sabun cair SBK

Hasil perhitungan kesukaan kemudahan penggunaan dari berbagai formula

Panelis	Hasil uji kesukaan kemudahan penggunaan dari berbagai formula sediaan gel <i>hand sanitizer</i>							
	Basis sabun cair		Sabun cair SBK 10%		Sabun cair SBK 20%		Sabun cair SBK 30%	
	kode	nilai	kode	nilai	kode	nilai	Kode	nilai
1	TS	2	S	4	SS	5	S	4
2	KS	3	S	4	SS	5	S	4
3	KS	3	S	4	S	4	S	4
4	KS	3	SS	5	SS	5	SS	5
5	TS	2	SS	5	SS	5	SS	5
6	TS	2	S	4	SS	5	S	4
7	TS	2	S	4	S	4	S	4
8	TS	2	S	4	SS	5	S	4
9	KS	3	SS	5	SS	5	SS	5
10	TS	2	SS	5	SS	5	SS	5
11	KS	3	SS	5	SS	5	S	4
12	TS	2	SS	5	SS	5	S	4
13	KS	3	SS	5	SS	5	SS	5
14	TS	2	SS	5	SS	5	SS	5
15	TS	2	S	4	SS	5	S	4
16	TS	2	S	4	SS	5	S	4
17	TS	2	SS	5	SS	5	SS	5
18	KS	3	S	4	SS	5	S	4
19	KS	3	SS	5	SS	5	SS	5
20	KS	3	SS	5	SS	5	SS	5

	Basis sabun cair	Sabun cair SBK 10%	Sabun cair SBK 20%	Sabun cair SBK 30%
Rata-rata nilai kesukaan =	2,4500	4,5500	4,9000	4,4500
Standar deviasi =	0,5104	0,5104	0,3078	0,5104
Rentang nilai kesukaan =	1,9396 sampai 2,9604	4,0396 sampai 5,0604	4,5922 sampai 5,2078	3,9396 sampai 4,9604

Keterangan:

- A. Basis *Hand sanitizer*
- B. *Hand sanitizer* SKDS 5%
- C. *Hand sanitizer* SKDS 10%
- D. *Hand sanitizer* SKDS 15%

Lampiran 18. Contoh perhitungan statistik diameter hambatan

Contoh diambil data sabun cair SBW 10% terhadap *Staphylococcus aureus*

No	Diameter Hambatan (X)	$x - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	12,90	0,0333	0,0011
2	12,90	0,0333	0,0011
3	12,80	-0,0667	0,0044
$\sum X = 38,60$			$\Sigma(x - \bar{X})^2 = 0,0067$
Diameter hambatan rata-rata (\bar{X}) = 12,87 mm			

$$\text{Standar deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,0067}{2}} = 0,06$$

Dasar penolakan data adalah $t_{\text{hitung}} > t_{\text{tabel}}$ dengan tingkat kepercayaan 99%

$\alpha = 0,01$; $n=3$, $dk = 2$ dan $t_{\text{tabel}} = 9,925$

$$t_{\text{hitung } 1} = \frac{\frac{|x - \bar{x}|}{SD}}{\sqrt{n}} = \frac{\frac{|12,90 - 12,87|}{0,06}}{\sqrt{3}} = \frac{0,0333}{0,0333} = 1,00$$

$$t_{\text{hitung } 2} = \frac{\frac{|x - \bar{x}|}{SD}}{\sqrt{n}} = \frac{\frac{|12,90 - 12,87|}{0,06}}{\sqrt{3}} = \frac{0,0333}{0,0333} = 1,00$$

$$t_{\text{hitung } 3} = \frac{\frac{|x - \bar{x}|}{SD}}{\sqrt{n}} = \frac{\frac{|12,80 - 12,87|}{0,06}}{\sqrt{3}} = \frac{0,0667}{0,0333} = 2,00$$

Seluruh t_{hitung} dari ke-3 perlakuan $< t_{\text{tabel}}$ (9,935), berarti semua data diterima.

Menghitung diameter hambatan sebenarnya

Diameter hambatan yang diperoleh 1 = 12,90 mm

2 = 12,90 mm

Rata-rata = 12,87 mm

3 = 12,80 mm

Standar deviasi = 0,06

Diameter hambatan sebenarnya =

$$\text{Diameter hambatan rata-rata} \pm t_{(1-1/2\alpha)} \text{ dk } \times \frac{\text{St.deviasi}}{\sqrt{n}}$$

$$\text{Diameter hambatan sebenarnya} = 12,67 \text{ mm} \pm 9,925 \times \frac{0,06}{\sqrt{3}}$$

$$\text{Diameter hambatan sebenarnya} = 13,23 \text{ mm} \pm 9,925 \times \frac{0,06}{0,0882}$$

$$\text{Diameter hambatan sebenarnya} = (13,23 \text{ mm} \pm 0,33) \text{ mm}$$

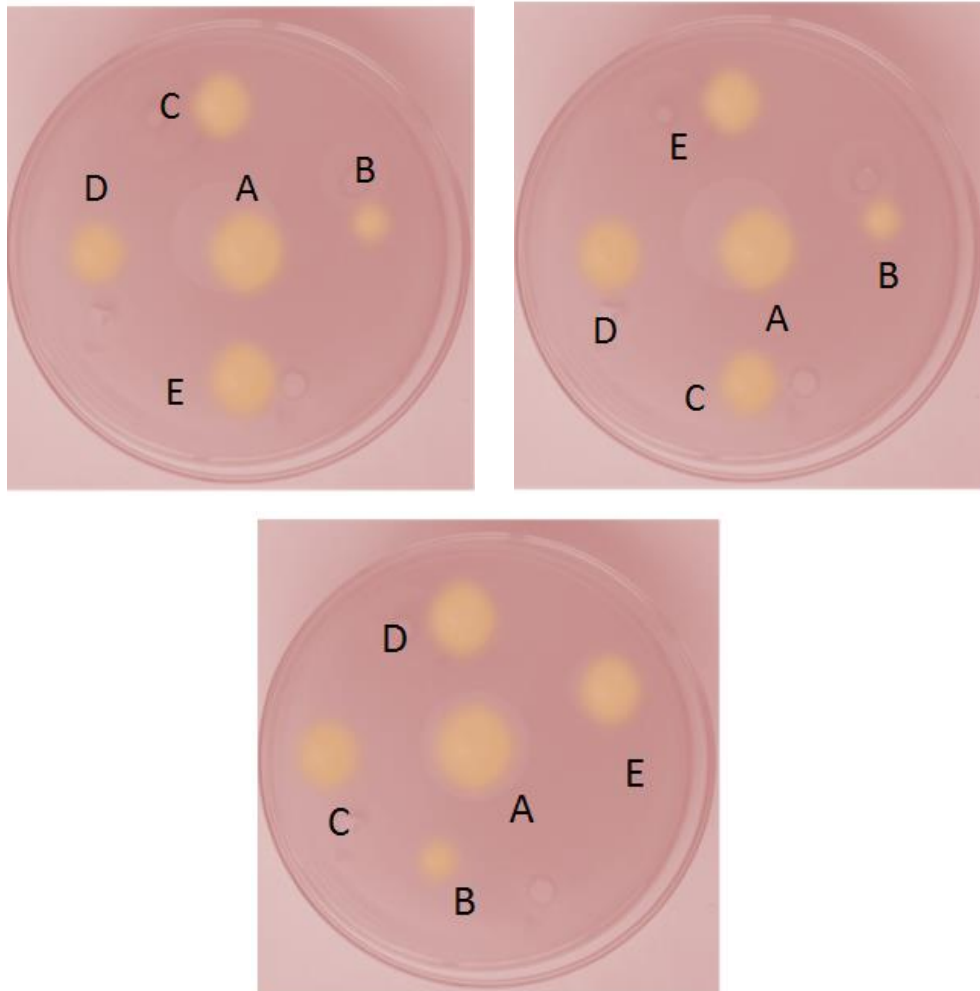
Dengan cara yang sama dihitung untuk sabun cair lain dan bakteri *Escherichia coli*, data dan hasil perhitungan selengkapngya dapat dilihat pada lampiran 19

Lampiran 19. Data dan hasil perhitungan statistik diameter hambatan

Nama bakteri	Diameter hambatan pertumbuhan bakteri (mm)				
	Sabun Detol dari pasaran	Basis sabun cair (Blanko)	Sediaan sabun cair dengan kandungan sari air bunga kecombrang berbagai konsentrasi		
			Sabun cair SBK 10%	Sabun cair SBK 20%	Sabun cair SBK 30%
<i>Staphylococcus aureus</i>	20,70	6,10	12,90	15,80	18,00
	20,60	6,20	12,90	15,60	18,30
	20,60	6,20	12,80	15,70	18,20
Diameter hambat bakteri rata-rata	20,63	6,17	12,87	15,70	18,17
Standar deviasi (SD)	0,06	0,06	0,06	0,10	0,15
Diameter hambatan sebenarnya	$20,63 \pm 0,33$	$6,06 \pm 0,33$	$12,87 \pm 0,33$	$15,70 \pm 0,57$	$18,17 \pm 0,88$
<i>Escherichia coli</i>	20,10	6,10	11,80	14,50	17,8
	20,00	6,20	11,70	14,60	17,7
	20,00	6,10	11,60	14,70	17,5
Diameter hambat bakteri rata-rata	20,03	6,13	11,70	14,60	17,67
Standar deviasi (SD)	0,06	0,06	0,10	0,10	0,15
Diameter hambatan sebenarnya	$20,03 \pm 0,33$	$6,13 \pm 0,33$	$11,70 \pm 0,57$	$14,60 \pm 0,57$	$17,67 \pm 0,88$

Lampiran 20. Gambar hasil pengukuran diameter hambatan pertumbuhan bakteri oleh sediaan sabun cair SBK

1. Diameter hambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



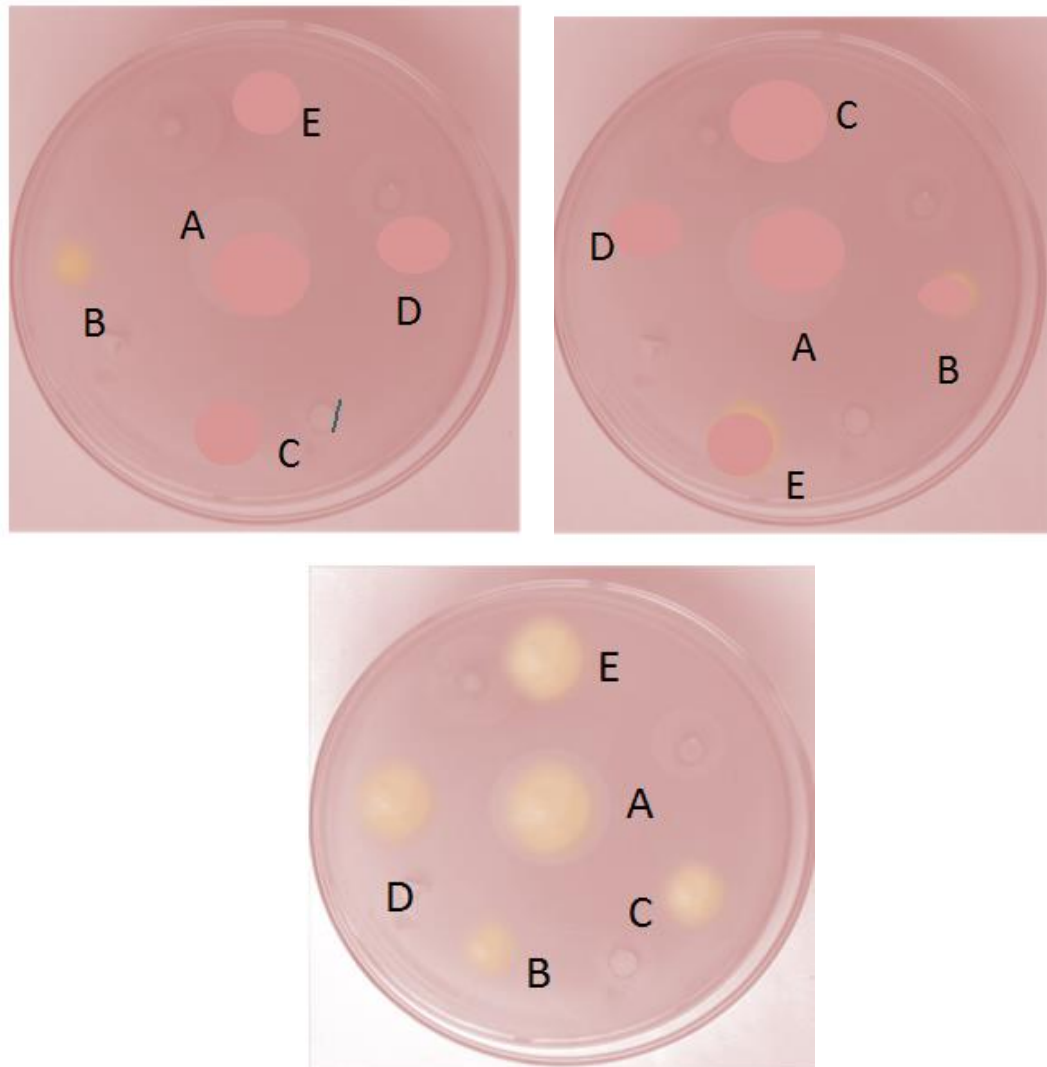
Gambar Diameter hambatan bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan:

- A. Sabun cair yang beredar di pasaran
- B. Basis sabun cair
- C. Sabun cair SBK 10%
- D. Sabun cair SBK 20%
- E. Sabun cair SBK 30%

Lampiran 20 (lanjutan). Gambar hasil pengukuran diameter hambatan pertumbuhan bakteri oleh sedian sabun cair SBK

1. Diameter hambatan terhadap bakteri *Escherichia coli*



Gambar Diameter hambatan bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan:

- A. Sabun cair yang beredar di pasaran
- B. Basis sabun cair
- C. Sabun cair SBK 10%
- D. Sabun cair SBK 20%
- E. Sabun cair SBK 30%

Lampiran 23. Contoh perhitungan jumlah koloni hasil uji ALT

Sebagai contoh diambil data jumlah koloni sebelum dan setelah penggunaan sabun cair SBSW 10% dan persen pengurangan jumlah koloni bakteri dari Sukarelawan I

Dari 1 mL cairan hasil swab dari tangan sukarelawan diencerkan sampai 10 mL, maka pengenceran sampel 1: 10 ($= 10^{-1}$), dihitung jumlah koloni yang diperoleh dengan perkalian 10. Dari hasil pengenceran sampel 1: 10 ($= 10^{-1}$), dipipet sebanyak 1 mL diencerkan lagi sampai 10 mL, maka pengenceran sampel 1: 10: 10 ($= 10^{-2}$), dihitung jumlah koloni yang diperoleh dengan perkalian 100, Diperoleh data jumlah koloni sebelum penggunaan sabun sebagai berikut :

Petri	Jumlah koloni bakteri yang diperoleh		Rata-rata Jumlah koloni dari sampel 10^{-1} dan 10^{-2}
	Pengenceran sampel 10^{-1}	Pengenceran sampel 10^{-2}	
Petri I	$22 = 22 \times 10 = 220$	$2 = 2 \times 100 = 200$	$(220+200)/2 = 210$
Petri II	$18 = 18 \times 10 = 180$	$1 = 1 \times 100 = 100$	$(180+100)/2 = 140$
Petri III	$15 = 15 \times 10 = 150$	$0 = 0 \times 100 = 0$	$(150+0)/2 = 75$
Rata-rata jumlah koloni dari ke 3 petri $= (220 + 140 + 75) / 3 = 142$			

Diperoleh data jumlah koloni setelah penggunaan sabun sebagai berikut :

Petri	Jumlah koloni bakteri yang diperoleh		Rata-rata Jumlah koloni dari sampel 10^{-1} dan 10^{-2}
	Pengenceran sampel 10^{-1}	Pengenceran sampel 10^{-2}	
Petri I	$21 = 21 \times 10 = 210$	$1 = 1 \times 100 = 100$	$(210 + 100)/2 = 155$
Petri II	$17 = 17 \times 10 = 170$	$0 = 0 \times 100 = 0$	$(170 + 0)/2 = 85$
Petri III	$15 = 15 \times 10 = 150$	$0 = 0 \times 100 = 0$	$(150 + 0)/2 = 75$
Rata-rata jumlah koloni dari ke 3 petri $= (155 + 85 + 75) / 3 = 105$			

Persentase jumlah koloni bakteri dari sebelum dan setelah penggunaan sediaan sabun cair SBSW 10% pada sukarelawan I sebagai berikut :

$$\text{Pengurangan jumlah koloni bakteri} = \frac{\text{koloni (sebelum - setelah)}}{\text{koloni sebelum}} \times 100\%$$

$$\text{Pengurangan jumlah koloni bakteri} = \frac{(142 - 105) \text{ koloni}}{142 \text{ koloni}} \times 100\% = 25,80\%$$

Dengan cara yang sama dihitung untuk 6 orang sukarelawan dan untuk sediaan sabun cair lainnya. Data dan hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 24

Lampiran 24 : Data dan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri hasil uji ALT sebelum dan setelah penggunaan sampo

Sampel uji	Sukarelawan	Pengulangan	Sebelum penggunaan sabun cair				Setelah penggunaan sabun cair				Pengurangan jumlah koloni (%)
			Jumlah koloni (CFU/g)			Jumlah koloni rata-rata (CFU/g)	Jumlah koloni (CFU/g)			Jumlah koloni rata-rata (CFU/g)	
			10 ⁻¹	10 ⁻²	Rat-rata		10 ⁻¹	10 ⁻²	Rat-rata		
Basis sabun cair (Blanko)	I	Petri I	20	2	200	142	20	2	200	138	2,82
		Petri II	18	1	140		17	1	135		
		Petri III	17	0	85		16	0	80		
	II	Petri I	21	2	205	143	20	2	200	140	2,10
		Petri II	19	1	145		18	1	140		
		Petri III	16	0	80		16	0	80		
	III	Petri I	21	2	205	140	20	2	200	137	2,14
		Petri II	18	1	140		17	1	135		
		Petri III	15	0	75		15	0	75		
	IV	Petri I	21	2	205	143	20	2	200	138	3,50
		Petri II	18	1	140		17	1	135		
		Petri III	17	0	85		16	0	80		
	V	Petri I	21	2	205	158	20	2	200	153	3,16
		Petri II	19	2	195		18	2	190		
		Petri III	15	0	75		14	0	70		
	VI	Petri I	22	2	210	147	21	2	205	143	2,72
		Petri II	19	1	145		19	1	145		
		Petri III	17	0	85		16	0	80		
Persen pengurangan jumlah koloni bakteri sebelum dan setelah penggunaan sabun cair tanpa bahan uji (Blanko) = 2,74 %											

Sampel uji	Sukarelawan	Pengulangan	Sebelum penggunaan sabun cair			Jumlah koloni rata-rata (CFU/g)	Setelah penggunaan sabun cair			Pengurangan jumlah kolon (%)	
			Jumlah koloni (CFU/g)				Jumlah koloni (CFU/g)				Jumlah koloni rata-rata (CFU/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	Rat-rata		10 ⁻¹	10 ⁻²	Rat-rata		
Sabun cair SBK 20%	I	Petri I	16	2	180	138	6	2	132	84	39,13
		Petri II	20	1	150		8	1	90		
		Petri III	17	0	85		6	0	30		
	II	Petri I	17	2	185	145	7	2	134	88	39,31
		Petri II	21	1	155		8	1	92		
		Petri III	19	0	95		8	0	38		
	III	Petri I	22	2	210	143	9	2	144	87	39,16
		Petri II	19	1	145		8	1	88		
		Petri III	15	0	75		6	0	30		
	IV	Petri I	22	2	210	148	9	2	144	89	39,64
		Petri II	20	1	150		8	1	90		
		Petri III	17	0	85		7	0	34		
	V	Petri I	22	2	210	157	9	1	94	93	40,76
		Petri II	22	1	160		9	2	144		
		Petri III	20	0	100		8	0	40		
	VI	Petri I	20	2	200	148	8	2	140	89	39,86
		Petri II	20	1	150		8	1	90		
		Petri III	19	0	95		8	0	38		
Persen pengurangan jumlah koloni bakteri sebelum dan setelah penggunaan sabun cair SBK 20% = 39,65 %											

Sampel uji	Sukarelawan	Pengulangan	Sebelum penggunaan sabun cair			Setelah penggunaan sabun cair				Pengurangan jumlah kolon (%)	
			Jumlah koloni (CFU/g)			Jumlah koloni rata-rata (CFU/g)	Jumlah koloni (CFU/g)				Jumlah koloni rata-rata (CFU/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	Rat-rata		10 ⁻¹	10 ⁻²	Rat-rata		
Sabun cair SBK 30%	I	Petri I	22	2	210	153	7	0	35	30	80,43
		Petri II	21	1	155		5	0	25		
		Petri III	19	0	95		6	0	30		
	II	Petri I	22	2	210	143	7	0	35	28	80,23
		Petri II	19	1	145		5	0	25		
		Petri III	15	0	75		5	0	25		
	III	Petri I	22	2	210	148	7	0	35	30	79,78
		Petri II	20	1	150		6	0	30		
		Petri III	17	0	85		5	0	25		
	IV	Petri I	22	2	210	142	6	0	30	28	80,00
		Petri II	18	1	140		5	0	25		
		Petri III	15	0	75		6	0	30		
	V	Petri I	17	2	185	142	5	0	25	30	78,82
		Petri II	20	1	150		7	0	35		
		Petri III	18	0	90		6	0	30		
	VI	Petri I	19	2	195	187	7	0	35	37	80,36
		Petri II	22	2	210		8	0	40		
		Petri III	21	1	155		7	0	35		
Persen pengurangan jumlah koloni bakteri sebelum dan setelah penggunaan sabun cair SBK 30%) = 79,94 %											

Sampel uji	Sukarelawan	Pengulangan	Sebelum penggunaan sabun cair				Setelah penggunaan sabun cair				Pengurangan jumlah kolon (%)	
			Jumlah koloni (CFU/g)			Jumlah koloni rata-rata (CFU/g)	Jumlah koloni (CFU/g)			Jumlah koloni rata-rata (CFU/g)		
			10 ⁻¹	10 ⁻²	Rat-rata		10 ⁻¹	10 ⁻²	Rat-rata			
Sabun Antiseptik dari pasaran	I	Petri I	16	2	180	138	5	0	24	27	80,43	
		Petri II	20	1	150		6	0	30			
		Petri III	17	0	85		5	0	26			
	II	Petri I	17	2	185	145	5	0	26	29	80,00	
		Petri II	21	1	155		6	0	32			
		Petri III	19	0	95		6	0	29			
	III	Petri I	22	2	210	143	7	0	33	28	80,42	
		Petri II	19	1	145		6	0	29			
		Petri III	15	0	75		5	0	23			
	IV	Petri I	22	2	210	148	7	0	33	30	79,73	
		Petri II	20	1	150		6	0	30			
		Petri III	17	0	85		5	0	26			
	V	Petri I	22	2	210	157	7	0	33	31	80,25	
		Petri II	22	1	160		6	0	30			
		Petri III	20	0	100		6	0	30			
	VI	Petri I	16	2	180	138	5	0	24	27	80,43	
		Petri II	20	1	150		6	0	30			
		Petri III	17	0	85		5	0	26			
	Persen pengurangan jumlah koloni jamur sebelum dan setelah penggunaan Antiseptik dari pasaran = 80,09 %											

