

LAPORAN AKHIR PENELITIAN HIBAH INTERNAL
FORMULASI SABUN CAIR HASIL EKSTRAK KAPANG
ENDOFIT ISOLAT PLC4 DENGAN
PEMANFAATAN MEDIA UBI KAYU (*Manihot esculenta*
Crantz.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*



Oleh:

Ketua Peneliti	:	apt. Nurul Akhatik, M.Si	0331057001
Anggota Peneliti	:	Saiful Bahri, M.Si	0303078405
		apt. Amelia Febriani, M.Si	0305028003
		Siti Aminah	22334754
		Naurah Anya Lituhayu	22330768

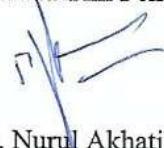
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
TAHUN 2025

LEMBAR PENGESAHAN
LAPORAN PENELITIAN HIBAH INTERNAL ISTN 2025

1. Judul Penelitian : Formulasi Sabun Cair Hasil Ekstrak Kapang Endofit PLC4 dengan Pemanfaatan Media Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Bidang Penelitian : Teknologi Farmasi
3. Waktu Penelitian : Enam bulan
4. Ketua Peneliti :
Nama : apt. Nurul Akhatik, M.Si
NIDN : 0331057001
Jabatan Akademik : Lektor
Prodi/Fakultas : Farmasi
5. No. HP : 0811113808
6. Email : nurul_akhatik@istn.ac.id
7. Jumlah Dana yang diusulkan : Rp. 5.000.000
8. Jumlah Dana yang disetujui : Rp. 5.000.000
9. Jumlah anggota : 4 orang

Mengetahui,
Dekan Fakultas Farmasi

(apt. Jenny Ponioan, S.Si, M.Farm)
NIDN: 0303018201

Ketua Tim Peneliti,

(apt. Nurul Akhatik, M.Si)
NIDN: 0331057001

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat ISTN

(Dr. Ir. Idrus, M.Sc.)

NIDN. 0316016101

ii

Institut Sains dan Teknologi Nasional

Ringkasan

Penelitian dimulai dengan melakukan tahapan kultur peremajaan terhadap isolat PLC 4 menggunakan media PDA untuk mendapatkan isolat PLC 4 dengan kondisi baru, kemudian isolat PLC 4 dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Kemudian Isolat PLC 4 diperoleh menggunakan media ubi kayu. Ubi kayu yang digunakan diperoleh dari Desa Kedungjaya, Kecamatan Babelan, Bekasi, Jawa Barat yang kemudian dilakukan proses determinasi terhadap tanaman di Herbarium Depokensis (UIDEP) Ruang Koleksi Biota UI, Depok. Ubi kayu yang telah dideterminasi dipotong, direbus dan ditambahkan *dextrose* sebagai bahan tambahan. Kemudian media cair ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm. Isolat PLC 4 yang telah dikultur dimasukkan ke dalam media ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) sebanyak 9 cuplikan. Fermentasi dilakukan selama 21 hari pada kondisi statis. Hasil fermentasi kemudian disaring dan dipisahkan antara biomassa dengan supernatan. supernatan hasil fermentasi kemudian di ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak supernatan isolat PLC4 hasil fermentasi menggunakan media ubi kayu kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan diuapkan menggunakan *waterbatch*. Hasil ekstrak yang telah diperoleh selanjutnya analisis senyawa menggunakan GC-MS untuk menganalisis senyawa yang diperoleh oleh ekstrak kemudian ekstrak akan dilakukan uji pendahuluan terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan kontrol positif kloramfenikol untuk menentukan adanya nilai daya hambat yang diberikan terhadap ekstrak kepada dua bakteri uji. Selanjutnya ekstrak dilakukan uji pendahuluan menggunakan acuan formula yang menjadi referensi penelitian. formula yang telah dilakukan uji pendahuluan dilakukan pengujian lebih lanjut menggunakan formula yang telah sesuai dan dilakukan uji mutu sesuai dengan SNI 2588:2017 serta pengujian stabilitas mutu terhadap sediaan. Hasil formula yang telah dilakukan uji mutu kemudian diuji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif dan statistik. Luaran penelitian ini ialah Publikasi Jurnal Ilmiah Nasional Terakreditasi.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kapang endofit merupakan mikroorganisme multiseluler yang berada dalam jaringan tumbuhan hidup dan banyak ditemukan di berbagai kondisi lingkungan. (Hafsari & Asterina, 2013). Faktor lingkungan seperti suhu, derajat keasaman atau pH, kelembaban, serta substrat yang menjadi nutrisi sangat mempengaruhi kehidupan kapang (Mahardhika *et al.*, 2021). Umumnya kapang endofit dapat hidup di dalam berbagai jaringan tumbuhan sehat dan berperan untuk membantu tanaman inang dalam memproduksi bioaktif hasil dari metabolit sekunder. Telah dilaporkan pada penelitian Bahri *et al.*, (2023) salah satu tanaman yang mengandung satu atau lebih kapang endofit adalah tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica*).

Tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica*) merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat yang berasal dari Sulawesi Selatan. Masyarakat umumnya menggunakan tanaman ini sebagai obat untuk menyembuhkan diare, keseleo, memar, penyakit jantung dan luka (Hartati *et al.*, 2021). Kapang endofit dari tanaman kayu jawa dilaporkan telah berhasil diisolasi pada berbagai organ tanaman seperti akar sebanyak tujuh isolat tanaman kayu jawa (Bahri *et al.*, 2023) kulit batang sebanyak lima isolat (Bahri *et al.*, 2021) dan tangkai daun kayu jawa sebanyak enam isolat diantaranya isolat PLC1 A, PLC1 B, PLC 2, PLC 3, PLC4 dan PLC 5 (Bahri *et al.*, 2022).

Penelitian Bahri *et al.*, (2022) melaporkan Isolat yang dihasilkan dapat tumbuh dalam media pertumbuhan *Potato Dextrose Broth* (PDB). Media pertumbuhan yang umum digunakan untuk pertumbuhan jamur yaitu *Potato Dextrose Agar* (PDA) karena memiliki pH 4,5-5,6. Media PDA terdiri atas bahan alami berupa kentang dan bahan sintesis berupa *dextrose* dan agar (Nurdin & Nurdin, 2020). Pemanfaatan media ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) sebagai media pertumbuhan kapang endofit juga menjadi hal yang menarik untuk diteliti. Beberapa peneliti sudah melakukan penelitian tentang media kultur kapang menggunakan ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) karena mengandung karbohidrat yang tinggi, selain mengandung karbohidrat juga mengandung unsur lain seperti air sekitar 60%, pati

25-35%, protein, mineral, kalsium dan fosfat (Putri *et al.*, 2022). Penelitian Fikriyyah (2023) telah melaporkan bahwa media ubi kayu mempunyai daya hambat terhadap jamur *Candida albicans* dan *Trichophyton rubrum* serta membuktikan bahwa penggunaan media ubi kayu mampu menghasilkan metabolit sekunder yang dibuktikan melalui uji fitokimia.

Berdasarkan studi fitokimia telah dilaporkan pada penelitian Fikriyyah (2023) bahwa isolat PLC4 mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan steroid/triterpenoid yang berpotensi sebagai agen antimikroba dan antioksidan. Selain metode uji skrining fitokimia, analisis senyawa metabolit sekunder juga dapat dilakukan dengan berbagai teknik, salah satunya adalah *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Metode GC-MS terbukti selektif dalam menganalisis komponen non-polar serta senyawa volatil, alkaloid, terpenoid, dan steroid, yang berpotensi sebagai agen antimikroba. (Suhaili *et al.*, 2020).

Antimikroba dapat dibagi menjadi dua yaitu antifungi dan antibakteri merupakan zat-zat kimia yang dihasilkan oleh jamur dan bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dan toksitas terhadap manusia relatif kecil (Pitoy *et al.*, 2019). Penelitian Bahri *et al.*, (2022) telah melaporkan diantara 6 isolat hanya isolat PLC4 yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri. Kandungan antibakteri dapat dikembangkan sebagai produk bioteknologi salah satunya adalah sabun. Sabun merupakan campuran senyawa kimia asam dan basa dari garam natrium atau kalium pada asam lemak yang berasal dari minyak nabati atau hewan (Kautsari *et al.*, 2023).

Sabun dengan kandungan minyak telah beredar di pasaran indonesia berupa sabun padat maupun cair melalui proses saponifikasi, sabun yang dihasilkan melalui proses saponifikasi memang terkesan alami, namun memiliki kelemahan di antaranya tingginya pH produk yang dihasilkan, kurang efektif dalam membersihkan dan membentuk gumpalan ketika digunakan dengan air sadah yang mengandung kalsium tinggi. Hal tersebut berbeda ketika menggunakan surfaktan, sabun dengan basis surfaktan dianggap sebagai alternatif yang lebih lembut dibandingkan sabun saponifikasi, selain itu lebih praktis, ekonomis serta efektif

penggunaannya baik dalam air suling maupun air sadah dan sabun dengan basis surfaktan umumnya dipasarkan dalam bentuk sediaan cair (Irmayanti *et al.*, 2014).

Sabun cair adalah jenis sabun berbentuk liquid (cairan) merupakan salah satu bentuk sediaan yang ditujukan untuk membersihkan kotoran dengan lebih praktis dan disediakan dalam bentuk yang menarik dibandingkan dengan bentuk sabun yang lain. Sabun cair dapat digunakan untuk mencegah penyakit kulit yang disebabkan oleh bakteri (Moningka *et al.*, 2020). Sabun antibakteri merupakan salah satu produk kebersihan yang penting dalam kehidupan sehari-hari. Sabun antibakteri memiliki kemampuan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga dapat membantu mencegah penyebaran penyakit. Salah satu bakteri patogen yang sering ditemui dalam kehidupan sehari-hari adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai penyakit, mulai dari infeksi kulit hingga infeksi saluran pencernaan (Fatonah *et al.*, 2022).

Informasi mengenai aktivitas antibakteri sabun dari ekstrak Isolat PLC4 dengan media alternatif ubi kayu belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian lanjutan berbasis produk bioteknologi sabun cair menggunakan media alternatif dari ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) sebagai media pertumbuhan isolat PLC4 agar mendapatkan efektivitas antibakteri pada sediaan sabun cair untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung pada ekstrak etil asetat isolat PLC4 hasil fermentasi media ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.)?
2. Bagaimana formula sediaan sabun antibakteri menggunakan ekstrak isolat PLC4?
3. Formula manakah yang memiliki zona hambat paling luas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
4. Apakah stabilitas sediaan sabun cair ekstrak isolat PLC4 sesuai dengan SNI 2588-2017?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk menganalisis Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etil asetat isolat PLC4 hasil fermentasi media ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.).
2. Untuk mengevaluasi formula sediaan sabun cair antibakteri menggunakan ekstrak isolat PLC4.
3. Untuk menganalisis nilai daya hambat formula sabun cair ekstrak isolat PLC4 terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
4. Untuk mengevaluasi persyaratan mutu sediaan sabun cair ekstrak isolat PLC4 sesuai dengan standar SNI 2588-2017.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroba Endofit

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tanaman inang tanpa menimbulkan gejala penyakit. Beberapa spesies bakteri endoparasit telah terbukti mampu menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antibiotik antimalaria dan antijamur (Magharaniq *et al.*, 2014). Mikroba endofit memiliki sifat yang berdampak positif pada jaringan tumbuhan yang menunjukkan adanya hubungan simbiosis mutualisme antara mikroba endofit dengan inangnya. Umumnya hubungan antara mikroba endofit dengan tanaman disebabkan adanya kontribusi senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroba itu sendiri yang terdiri dari berbagai jenis bioaktif. Mikroba endofit yang umumnya ditemukan adalah bakteri dan kapang dan hampir semua tanaman yang memiliki pembuluh mempunyai mikroba endofit. Mikroba tersebut masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar atau bagian lainnya dari tanaman (Melliawati & Sunifah, 2017).

Berdasarkan penelitian Bahri *et al.*, (2022) telah melaporkan bahwa tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica*) memiliki aktivitas antibakteri dan antimikroba pada isolat kapang dengan hasil positif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan uji penapisan. Pada ekstrak kapang endofit tangkai daun tanaman kayu jawa isolat kapang endofit PLC4 dilaporkan oleh Amanah (2023) memiliki 12 senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari 4 golongan yaitu asam lemak ester (*Hexadecenoic acid, methyl ester; Hexadecenoic acid, ethyl ester; 9,12- Octadecenoic acid, Methyl ester; 9- Octadecenoic acid, Methyl ester; Octadecenoic acid, Methyl ester; 9,12-Octadecenoic acid (Z,Z)-, ethyl ester; Octadecenoic acid, ethyl ester*), asam lemak (*Methyl 9-cis. 11-trans-octadecadienoate; Linoleic acid; Methyl 20- methyl heneicosanoate*), terpenoid (*Squelence*), steroid ((22E)- *ergosta-5, 7, 22- Trien-3, Beta,- OL*) yang didapatkan melalui hasil fermentasi menggunakan media cair pemanfaatan media kentang pada metode goyang.

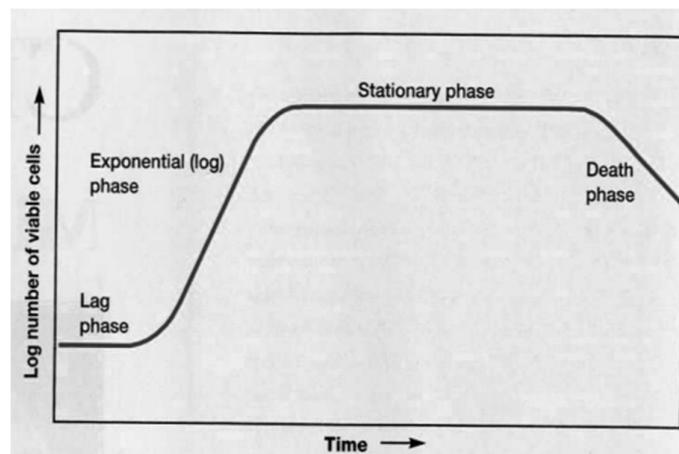
2.1.1 Fermentasi Endofit

Fermentasi mempunyai arti yang berbeda bagi ahli biokimia dan *industrial microbiologist*. Menurut ahli biokimia, fermentasi berhubungan dengan pembangkitan energi dengan proses katabolisme senyawa-senyawa organik, yang berfungsi sebagai donor elektron dan terminal *electron acceptor*. Sedangkan dari sisi *industrial microbiologist*, fermentasi berhubungan dengan proses produksi produk dengan menggunakan mikroorganisme sebagai biokatalis (Riadi, 2013).

Berdasarkan jenis medianya fermentasi dibedakan menjadi dua yaitu fermentasi media padat dan fermentasi media cair. Fermentasi media padat adalah metode menumbuhkan mikroorganisme pada kondisi dengan kandungan air nya terbatas tanpa mempunyai aliran air yang mengalir bebas. Umumnya mikroorganisme tumbuh pada permukaan padatan yang lembab, tetapi juga dapat berhubungan dengan udara secara langsung. Fermentasi media cair adalah proses fermentasi yang mikroorganisme dan substrat menjadi satu tempat dalam media cair dan dalam jumlah yang besar (Riadi, 2013).

2.1.2 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme

Fase pertumbuhan dimulai pada fase permulaan, fase pertumbuhan yang dipercepat, fase pertumbuhan logaritma (eksponensial), fase pertumbuhan yang mulai dihambat, fase stasioner maksimum, fase kematian dipercepat, dan fase kematian logaritma (Suryani & Taupiqurrahman, 2021).



Gambar 2. 1 Kurva Pertumbuhan Fungi (Prayitno & Hidayati, 2017)

Pada fase permulaan, bakteri baru menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru, sehingga sel belum membelah diri. Sel mikroba mulai membelah diri pada fase pertumbuhan yang dipercepat, tetapi waktu generasinya masih panjang. Fase permulaan sampai fase pertumbuhan dipercepat sering disebut lag phase. Kecepatan sel membelah diri paling cepat terdapat pada fase pertumbuhan logaritma atau pertumbuhan eksponensial, dengan waktu generasi pendek dan konstan. Selama fase logaritma, metabolisme sel paling aktif, sintesis bahan sel sangat cepat dengan jumlah konstan sampai nutrien habis atau terjadinya penimbunan hasil metabolisme yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan. Selanjutnya pada fase pertumbuhan yang mulai terhambat, kecepatan pembelahan sel berkurang dan jumlah sel yang mati mulai bertambah. Pada fase stasioner maksimum jumlah sel yang mati semakin meningkat sampai terjadi jumlah sel hidup hasil pembelahan sama dengan jumlah sel yang mati, sehingga jumlah sel hidup konstan, seolah-olah tidak terjadi pertumbuhan (pertumbuhan nol). Pada fase kematian yang dipercepat kecepatan kematian sel terus meningkat sedang kecepatan pembelahan sel nol, sampai pada fase kematian logaritma maka kecepatan kematian sel mencapai maksimal, sehingga jumlah sel hidup menurun dengan cepat seperti deret ukur. Walaupun demikian penurunan jumlah sel hidup tidak mencapai nol, dalam jumlah minimum tertentu sel mikroba akan tetap bertahan sangat lama dalam medium tersebut. (Suryani & Taupiqurrahman, 2021)

2.2 Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.)

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) merupakan bahan makanan pokok ketiga setelah padi dan jagung, Ubi kayu mempunyai potensi sebagai sumber karbohidrat yang penting sebagai bahan pangan, khususnya bagi negara yang sedang berkembang, seperti Indonesia. Keunggulan tanaman ubi kayu dibandingkan padi sebagai bahan makanan pokok adalah ubi kayu dapat tumbuh di lahan kering dan kurang subur, tahan terhadap berbagai hama dan penyakit, dan masa panennya dapat ditunda, yaitu dibiarkan di tempatnya dalam waktu tertentu, daun dan umbinya dapat diolah menjadi aneka makanan utama atau selingan (Restiani *et al.*, 2014). Ubi kayu juga memiliki sekitar 94,74% karbohidrat dibandingkan dengan beras, jagung dan kedelai (Noviasari *et al.*, 2017).

Adapun taksonomi dari ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) adalah sebagai berikut (Tuhenay, 2018) :



Gambar 2. 2. Tanaman Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.),

Kingdom	:	Plantae
Filum	:	Spermatophyta
Kelas	:	Dicotyledonae
Ordo	:	Euphorbiales
Famili	:	Euphorbiaceae
Genus	:	<i>Manihot</i>
Spesies	:	<i>Manihot esculenta</i> Crantz.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa aktif yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain (Putranto, 2009). Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Putri *et al.*, 2013).

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa

kandungan lainnya serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan (Depkes, 2000).

Berbagai macam metode ekstraksi yang umumnya dilakukan adalah :

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus) (Depkes, 2000).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasii sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1- 5 kali bahan.

2. Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 - 50°C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15 - 20 menit).

e. Dekok

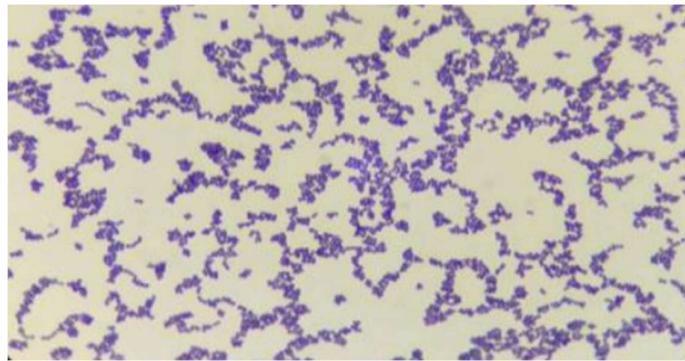
Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (~30°C) dan temperatur sampai titik didih air.

2.4 Bakteri Uji

2.4.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1 mm, dapat berdiri sendiri, berpasangan membentuk rantai atau berkelompok tidak teratur. *Staphylococcus aureus* merupakan sel Gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Kokus tunggal berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair. *Staphylococcus* bersifat non motil dan tidak membentuk spora (Sonbay, 2016).

Staphylococcus aureus tumbuh dengan cepat pada beberapa media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat, dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. Bakteri ini merupakan bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, tidak bergerak dan dapat tumbuh pada berbagai media pada suasana aerob. *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasikan beberapa karbohidrat dan dapat menghasilkan pigmen yang berwarna, tidak dapat larut air (Sonbay, 2016).



Gambar 2. 3. Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan perbesaran 1000x
Sumber : (Riski *et al.*, 2017)

Adapun klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Sonbay, 2016):

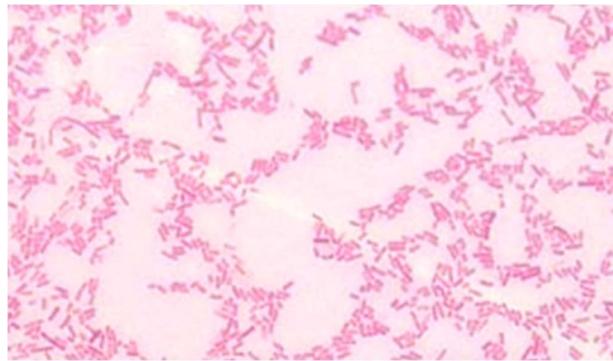
Kingdom	:	Bakteri
Filum	:	Firmicutes
Kelas	:	Bacilli
Ordo	:	Cocacceae
Famili	:	Staphylococcaceae
Genus	:	<i>Staphylococcus</i>
Spesies	:	<i>Staphylococcus aureus</i>

2.4.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri *coliform* yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri enterik atau bakteri yang dapat hidup dan bertahan di dalam saluran pencernaan. *Escherichia coli* merupakan bakteri berbentuk batang bersifat Gram negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan merupakan flora alami pada usus mamalia (Rahayu *et al.*, 2018.)

Bakteri *Escherichia coli* umum hidup di dalam saluran pencernaan manusia atau hewan. Secara fisiologi, *Escherichia coli* memiliki kemampuan untuk bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang sulit. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di air tawar, air laut, atau di tanah. *Escherichia coli* berbentuk batang dengan panjang 2,5 μm dan diameter 0,8 μm , dengan ujung melengkung berbentuk hemispherical. *Escherichia coli* memiliki organel eksternal yakni filamen yang lurus dan tipis yang disebut fili yang dapat menangkap substrat yang spesifik serta filamen heliks

panjang dan tebal yang disebut flagela yang memungkinkannya untuk berenang *Escherichia coli* hidup (Rahayu *et al.*, 2018).



Gambar 2. 4 Bakteri *Escherichia coli* dengan perbesaran 1000x
Sumber : (Khoiriyah *et al.*, 2022)

Adapun klasifikasi dari bakteri *Escherichia coli*, adalah sebagai berikut (Basavaraju & Gunashree, 2023):

Kingdom	:	Bakteri
Filum	:	Proteobacteria
Kelas	:	Gamma Proteobacteria
Ordo	:	Enterobacterales
Famili	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	<i>Escherichia</i>
Spesies	:	<i>Escherichia coli</i>

2.5 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan teknik kromatografi gas yang digunakan bersama dengan spektrometri massa. Penggunaan Kromatografi gas dilakukan untuk mencari senyawa yang mudah menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah jika dipanaskan. Spektrometri massa untuk menentukan bobot molekul, rumus molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan (Darmapatni *et al.*, 2016).

GC-MS merupakan gabungan metode analisis antara GC dan MS. Dalam hal ini GC hanya berfungsi sebagai sarana pemisah tanpa dilengkapi dengan detektor sebagaimana GC pada umumnya, tetapi yang berfungsi sebagai detektornya adalah MS. Kemampuan dan aturan pemisahannya akan mengikuti

aturan pada GC, demikian pula aturan fragmentasi dan pola spektrum massa akan mengikuti aturan MS, dengan adanya gabungan kedua metode tersebut akan memberikan keuntungan yang lebih baik karena senyawa yang telah terpisahkan oleh GC dapat langsung dideteksi oleh MS.

Komponen-komponen yang terdapat pada kromatografi gas spektrometer massa (GC-MS) terdiri dari beberapa bagian, yaitu:

1. *Gas Chromatography*

Prinsip mekanisme kromatografi gas adalah cuplikan diinjeksikan ke dalam injektor kemudian diuapkan hingga cuplikan berubah menjadi uap atau gas. Cuplikan yang berbentuk gas dibawa oleh gas pembawa dengan laju alir yang konstan masuk dalam kolom pemisah. Komponen-komponen sampel akan terpisah pada saat melewati kolom karena adanya perbedaan daya adsorpsi fase diam terhadap komponen-komponen sampel. Komponen yang sudah terpisah akan didorong oleh fase gerak untuk bergerak di sepanjang kolom berupa pita-pita. Setelah sampel dipisahkan menjadi komponen-komponennya, masing-masing komponen tersebut akan keluar dari kolom bersama fase gerak. Konsentrasi komponen tersebut dapat diukur dengan suatu detektor yang akan menghasilkan sinyal dan dikirim ke pencatat. Komponen-komponen dari sampel yang telah terpisahkan akan menghasilkan kurva-kurva karena masing-masing komponen tersebut ditahan pada kolom dalam waktu berbeda-beda. Lamanya waktu suatu komponen ditahan oleh kolom adsorpsi merupakan ciri khas komponen yang disebut sebagai waktu retensi.

2. *Interface*

Interface adalah bagian yang menghubungkan antara kromatografi gas dengan spektrometer massa pada kondisi hampa udara yang tinggi. Tujuan utama dari *interface* adalah menghilangkan gas pembawa tanpa menghilangkan analit. *Interface* yang ideal dapat memindahkan analit secara kuantitatif, mengurangi tekanan dan laju alir ke suatu tingkat yang dapat ditangani oleh spektrum massa

3. *Mass Spectrometer*

Prinsip kerja dari spektrometri massa yaitu sampel diuapkan dalam keadaan vakum kemudian dialirkan menuju ruang pengion. Di ruang pengion sampel ditembak dengan arus partikel berenergi tinggi sehingga menghasilkan ion. Dalam spectrometer massa, hanya ion-ion positif yang terdeteksi oleh spektrometer dan dipresentasikan sebagai tabel atau grafik yang memuat puncak m/z (massa/muatan)

4. Sistem Pengolah Data

Teknologi komputer sangat diperlukan untuk bekerjanya instrumen terpadu seperti GC-MS, dalam pengolahan data analisis. Komputer juga berperan sebagai perangkat lunak yang menyimpan data analisis standar SRM (*Standar Reference Material*) sebagai pembanding terhadap data analisis analit hasil penentuan. Koleksi data analisis SRM yang ada pada perangkat lunak dikenal sebagai *Standar Library Spectra*. Identifikasi analit terhadap *Standar Library Spectra* dinyatakan dengan persen dan keduanya dinyatakan identik jika komputer menilai persen keduanya mendekati 100%.

2.6 Sabun

Sabun umumnya memiliki 2 wujud sediaan yaitu padat dan cair. Perbedaan utama dari kedua wujud adalah alkali yang digunakan dalam reaksi pembuatan sabun. Umumnya sabun padat menggunakan natrium hidroksida sedangkan sabun cair menggunakan kalium hidroksida (Chastelyn, 2016).

Sabun umumnya dibuat melalui proses saponifikasi namun pada akhir 1940 sudah dikembangkan pembuatan sabun melalui proses sintetis. Meskipun hasil saponifikasi dianggap lebih alami namun memiliki banyak kekurangan diantaranya pH yang relatif tinggi dan sifat daya bersih yang kurang efektif (Indriyani, 2020).

Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) Nomor 2588-2017 sabun cair didefinisikan sebagai sediaan pembersih kulit berbentuk cair yang dibuat dari bahan dasar sabun atau deterjen dengan penambahan bahan lain yang diijinkan dan digunakan tanpa menimbulkan iritasi pada kulit. Sabun cair yang memiliki kriteria yang sesuai dengan standar aman bagi kesehatan kulit. Syarat mutu sabun cair menurut SNI 2588-2017 dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2. 1 Syarat mutu sabun cair

Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
pH	-	4 – 10
Total bahan aktif	% fraksi massa	Min. 10
Bahan yang tidak larut dalam etanol	% fraksi massa	Maks. 0,5
Alkali bebas (dihitung sebagai NaOH)	% fraksi massa	Maks. 0,05
Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam oleat)	% fraksi massa	Maks. 1
Cemaran mikroba angka lempeng total	Koloni/g	Maks 1×10^3

2.6.1. Komponen Sabun

Secara garis besar bahan – bahan sabun terdiri dari bahan dasar dan bahan tambahan. Bahan dasar merupakan pelarut atau tempat dasar bahan lain sehingga umumnya menempati volume yang lebih besar dari bahan lainnya. Bahan dasar sabun memiliki sifat utama sabun yaitu membersihkan dan menurunkan tegangan permukaan air (Irmayanti *et al.*, 2014). Bahan tambahan merupakan bahan yang berfungsi dapat memberikan efek tertentu yang diinginkan seperti melembutkan kulit, aseptik, dan harum. Hal hal yang harus diperhatikan dalam memformulasikan sabun cair antara lain karakteristik pembusaan yang baik, tidak mengiritasi mata,

tidak mengiritasi membran mukosa dan kulit, serta memiliki bau yang segar dan menarik (Fanani *et al.*, 2020).

1. Surfaktan primer adalah jenis surfaktan yang berfungsi utama dalam detergensi dan pembusaan. Dalam formulasi produk, surfaktan primer seringkali dikombinasikan dengan surfaktan sekunder untuk meningkatkan efektivitas busa dan mengurangi iritasi pada kulit. Umumnya surfaktan anionik digunakan karena memiliki sifat pembusaan baik, selain itu dapat pula digunakan surfaktan kationik, namun surfaktan ini memiliki sifat mengiritasi khususnya pada mata, sehingga perlu adanya kombinasi dengan surfaktan nonionik atau amfoter (Rieger, 2009).
2. Surfaktan sekunder adalah jenis surfaktan yang berfungsi sebagai bahan tambahan dalam proses pembusaan dan memperbaiki fungsi dari surfaktan primer dalam har detergensia dan pembusaan. Biasanya digunakan surfaktan nonionik karena mampu menghasilkan busa yang lebih banyak dan mampu menstabilkan busa (Rieger, 2009).
3. Bahan aditif yakni bahan tambahan yang dapat membantu efektivitas formula dan memberikan karakteristik tertentu pada suatu sediaan farmasi. Bahan aditif ini umumnya :
 - 1) Humektan adalah suatu bahan yang dapat mempertahankan air pada sediaan. Humektan berfungsi untuk memperbaiki stabilitas suatu bahan dalam jangka waktu yang lama, selain itu untuk melindungi komponen-komponen yang terikat kuat di dalam bahan termasuk air, lemak, dan komponen lainnya. Humektan yang sering digunakan dalam industri kosmetik adalah gliserin. Gliserin digunakan sebagai humektan karena gliserin merupakan komponen higroskopis yang dapat mengikat air dan mengurangi jumlah air yang meninggalkan kulit (Sukmawati *et al.*, 2017).
 - 2) Pengawet merupakan bahan yang digunakan untuk mencegah sediaan agar tetap tahan terhadap mikroba dan memperpanjang waktu paruh produk.
 - 3) Pengharum merupakan suatu bahan yang digunakan untuk memberikan aroma agar dapat disukai oleh konsumen. Pengharum yang digunakan harus tidak mempengaruhi terhadap viskositas dan stabilitas sediaan,

sehingga harus diperhatikan kelarutan dan kompatibilitasnya (Rieger, 2009).

- 4) Pewarna merupakan zat yang digunakan untuk memberikan warna yang menarik bagi konsumen.

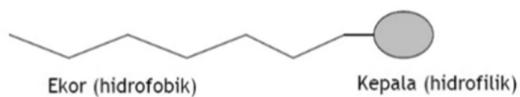
2.6.2. Surfaktan

2.6.2.1. Definisi Surfaktan

Surfaktan adalah suatu zat yang mempunyai kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan (*surface tension*) suatu medium dan menurunkan tegangan antarmuka (*interfacial tension*) antara dua fase yang berbeda derajat polaritasnya. Surfaktan bersifat ampifilik yaitu senyawa yang memiliki dua gugus yang berlainan sifat dalam suatu molekulnya yaitu gugus hidrofilik dan lipofilik sehingga mampu menyatukan dua bahan yang berbeda kepolarannya (Hambali *et al.*, 2019).

Surfaktan merupakan senyawa kimia yang memiliki aktivitas permukaan yang tinggi, karena aktivitas permukaan yang tinggi ini seringkali surfaktan disebut sebagai bahan aktif (*Surface-active agent*). Bahan aktif permukaan ini mampu memodifikasi karakteristik permukaan suatu cairan atau padatan. Peranan surfaktan yang begitu berbeda dan beragam disebabkan oleh struktur molekulnya yang tidak seimbang (Hambali *et al.*, 2019)

Struktur molekul surfaktan dapat divisualisasikan seperti berudu ataupun bola raket mini yang terdiri atas kepala dan ekor (**Gambar 2.5**).



Gambar 2. 5 Struktur molekul surfaktan

Kepala dapat bersifat anionik, kationik, amfoterik, atau nonionik, sedangkan ekor dapat berupa hidrokarbon rantai linier atau cabang konfigurasi kepala-ekor tersebut memiliki fungsi yang beragam (Hambali *et al.*, 2019).

2.6.2.2. Jenis – jenis surfaktan

Surfaktan dikelompokkan menjadi empat kelompoknya berdasarkan muatan ion pada gugus hidrofiliknya, yaitu anionik, nonionik, kationik dan amfoterik. Kelompok surfaktan yang paling banyak diproduksi dan diaplikasikan secara luas pada berbagai industri adalah surfaktan anionik (Hambali *et al.*, 2019).

1. Surfaktan Anionik

Surfaktan bermuatan negatif pada grup bagian kepalanya. Pembawa sifat aktif permukaan pada surfaktan anionik adalah gugus anion (muatan negatif) yang dimilikinya, misalnya yaitu grup karboksilat, sulfat, sulfonat, dan fosfat. Aplikasi utamanya yaitu untuk deterjensi, pembusaan dan emulsifier pada produk perawatan diri. Namun kelemahan pada surfaktan ini adalah sensitif terhadap adanya mineral dan perubahan pH. Contoh surfaktan yang termasuk dalam kelompok surfaktan anionik adalah alkohol eter, metil ester sulfonat, alkohol sulfat, sodium coco gliseril eter sulfat dll.

2. Surfaktan Kationik

Bermuatan positif pada grup bagian kepalanya, pembawa sifat aktif permukaan pada surfaktan kationik adalah gugus kation (muatan positif) yang dimilikinya, misalnya grup trimethylammonium. Aplikasi surfaktan kationik berhubungan dengan adanya daya absorpsi di permukaan. Oleh karena itu, umumnya surfaktan kationik bahan digunakan sebagai bahan anti korosi, pelunak kain dan bakterisida. Contoh surfaktan ini adalah fatty amina, amina etoksilat, dimetil alkil amina dll.

3. Surfaktan Nonionik

Merupakan surfaktan yang tidak memiliki muatan, namun mengandung grup yang memiliki afinitas tinggi terhadap air yang disebabkan interaksi kuat dipol-dipol yang timbul akibat ikatan hidrogen. Contohnya yaitu grup etoksilat, poliglikol eter, polioksietilen, atau poliol. Surfaktan nonionik umumnya diaplikasikan pada suhu rendah. Keunggulan surfaktan ini adalah tidak terpengaruh oleh adanya air sadah atau perubahan pH. Contoh surfaktan ini adalah propilen glikol monostearat, dietanolamina, polioksietilen sorbitan dll.

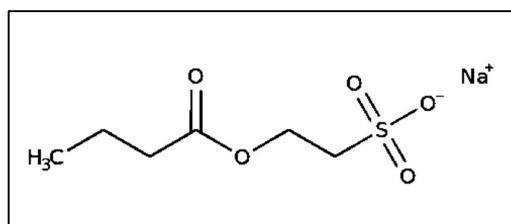
4. Surfaktan Amfoterik

Mengandung gugus positif dan negatif pada molekul yang sama sehingga rantai hidrofobik diikat oleh bagian hidrofilik yang mengandung gugus positif dan negatif. Surfaktan ini sangat dipengaruhi oleh pH dimana nilai pH rendah berubah menjadi surfaktan kationik sedangkan pada nilai pH tinggi berubah menjadi surfaktan anionik. Memiliki sifat yang rendah iritasi terhadap mata dan kulit sehingga surfaktan ini umum digunakan untuk produk shampo dan kosmetik. Contoh surfaktan ini adalah fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamina (PE) lesitin, amino karboksilat dan alkil betain.

2.6.3. Data Preformulasi

2.6.3.1. *Sodium Cocoyl Isethionate (SCI)*

Sodium Cocoyl Isethionate (SCI) merupakan bahan yang berasal dari alam yang berasal dari asam lemak yang terdapat dalam asam isethionic dan minyak kelapa. Asam lemak ini direaksikan dengan *Sodium Isethionate* dan campuran tersebut disulung untuk menghilangkan kelebihan asam lemak. Dalam bentuk mentahnya, *Sodium Cocoyl Isethionate* berbentuk bubuk putih halus. Bahan ini direkomendasikan untuk digunakan hingga konsentrasi 50% pada produk bilas dan hingga 17% untuk produk yang tidak perlu dibilas. *Sodium Cocoyl Isethionate* bersifat non komedogenik dan tidak menyebabkan jerawat, bahan ini juga dapat terurai secara hayati karena berasal dari kelapa.



Gambar 2. 6 Struktur Kimia *Sodium Cocoyl Isethionate (SCI)*

Monografi Sodium Lauryl Sulfate (Rowe *et al.*, 2009):

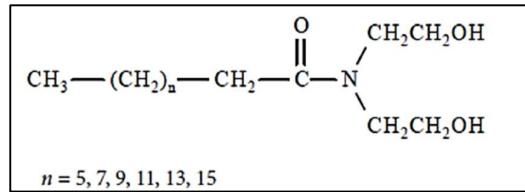
Sinonim : *Sodium cocoyl isethionate, fatty acids, coconut oil, sulfoethyl esters, sodium salts, sodium isethionate coconut ester.*

Nama Kimia : *Sodium cocoyl isethionate*

Kategori Fungsional	: Sebagai surfaktan anionik, agen pembersih, dan peningkat busa
Pemerian	: Serbuk halus berwarna putih dengan bau lembut.
Kelarutan	: Sangat larut dalam air
Titik Lebur	: 204-207 °C
pH	: 6 – 8
Stabilitas	: <i>Sodium cocoyl isethionate</i> stabil pada suhu kamar
Inkompatibel	: Surfaktan kationik, garam dari ion logam polivalen
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat jauh dari zat pengoksidasi kuat di tempat yang sejuk dan kering
Penggunaan	: <i>Cosmetic Ingredient Review</i> (CIR) telah menyimpulkan bahwa SCI aman digunakan dalam formulasi kosmetik sebesar 50% pada produk bilas dan 17% pada produk bilas. Tingkat penggunaan dalam formulasi pun bergantung pada berbagai variabel. Untuk batangan padat, titik awal biasanya setidaknya 30% SCI, sedangkan untuk formulasi cair, 5–15% merupakan titik awal yang layak.
Aktivitas antibakteri	: <i>Sodium lauryl sulfate</i> memiliki beberapa aksi bakteriostatik terhadap bakteri Gpositif tetapi tidak efektif terhadap banyak mikroorganisme Gram negatif. Ini mempotensiasi aktivitas fungisida dari zat – zat tertentu.

2.6.3.2. Cocamide DEA

Cocamide DEA atau coca dietanolamida adalah dietanolamida yang terbuat dari minyak kelapa. Cocamide DEA dibuat dengan mereaksikan etilen oksida dan amina (Rowe *et al.*, 2009). Dalam formulasi kosmetika bahan ini digunakan sebagai surfaktan, pengental, agen pengemulsi dan zat penstabil busa. Dietanolamida merupakan zat penstabil busa yang efektif, tidak pedih di mata, mampu meningkatkan tekstur kasar busa, serta dapat mencegah proses penghilangan minyak secara berlebihan pada kulit dan rambut (Suryani dkk., 2002).



Gambar 2. 7 Struktur Kimia cocamide DEA

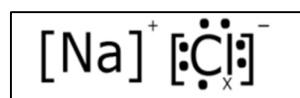
Monografi Cocamide-DEA (Depkes RI, 1979):

Sinonim	: <i>Dodecyl alcohol hydrogen sulfate, sodium salt; dodecyl sodium sulfate; dodecylsulfate sodium salt; Elfan 240; lauryl sodium sulfate; lauryl sulfate, sodium salt; monododecyl sodium sulfate; natrii laurilsulfas; sodium dodecyl sulfate; sodium n-dodecyl sulfate; sodium lauryl sulfate; sodium monododecyl sulfate; sodium monolauryl sulfate; SDS; SLS; sulfuric acid monododecyl ester, sodium salt; Texapon K12P.</i>
Nama Kimia	: Sulfuric acid monododecyl ester sodium salt (1 : 1)
Kategori Fungsional	: Sebagai surfaktan anionik, detergen, emulsifying agent, skin penetrant pada tablet dan kapsul, wetting agent.
Pemerian	: Kristal serpihan, atau bubuk berwarna putih atau krem hingga kuning pucat yang memiliki rasa halus, sabun, rasa pahit dan sedikit bau zat berlemak.
Kelarutan	: Sangat larut dalam air, larut sebagian dalam etanol 95%
Titik Lebur	: 204-207 °C
pH	: 7-9,5
Stabilitas	: SLS stabil dalam kondisi ekstrim yaitu pH 2,5 atau dibawah akan mengalami hidrolisis menjadi lauril alkohol dan natrium bisulfat
Inkompatibel	: Produk penguraian berbahaya yang terbentuk dalam kondisi kebakaran

Penyimpanan : Dalam wadah tertutup rapat dan tempat kering, gelap, berventilasi dan terhindari dari kelembaban

2.6.3.3. *Sodium Chloride* (NaCl)

Natrium klorida (NaCl) memiliki tingkat osmotik yang tinggi, sehingga dalam pembuatan deterjen seringkali digunakan sebagai pengental. Pada umumnya semakin tinggi konsentrasi garam maka viskositas juga semakin tinggi, hal ini disebabkan oleh beberapa sistem koloid yang akan membentuk gel dengan penambahan ion-ion logam. Namun setelah titik maksimum tercapai penambahan garam akan menurunkan kekentalan (Kurniawati dkk., 2015).



Gambar 2. 8 Struktur kimia *Sodium Chloride*

Monografi NaCl (Natrium klorida) (Depkes RI, 1979):

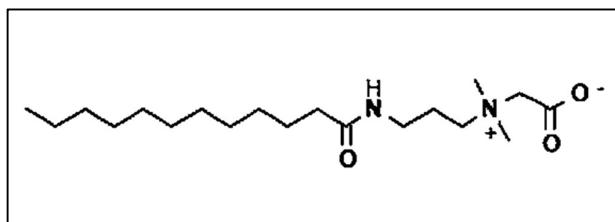
Sinonim	: <i>Alberger; chlorure de sodium; common salt; hopper salt; natrii chloridum; natural halite; rock salt; saline; salt; sea salt; table salt.</i>
Nama Kimia	: <i>Sodium Chloride</i>
Kategori Fungsional	: Agen Tonisitas pada tablet dan kapsul
Pemerian	: Bubuk kristal putih tidak berwarna, memiliki rasa garam berbentuk padat tidak mengandung air kristalisasi
Kelarutan	: Sangat larut dalam air, larut sebagian dalam etanol 95%
Titik didih	: 1413°C
pH	: 6,7 – 7,3
Stabilitas	: Stabil, larutan berair dapat steril dengan autoklaf dan filtrasi.
Inkompatibel	: Korosif terhadap zat besi, membentuk endapan dengan garam perak, timbal dan merkuri. Menurunkan kelarutan <i>Methyl paraben</i> . Meningkatkan viskositas gel karbomer dan larutan hidroksietil selulosa

Penyimpanan : Dalam wadah tertutup rapat jadi tempat sejuk dan kering.

2.6.3.4. *Cocamidopropyl betaine*

Cocamidopropyl Betaine (CAPB) adalah larutan kental berwarna kuning pucat. Dikenal dengan nama lain Amphitol, cocamidopropyl Betaine (CAPB) adalah surfaktan yang berasal dari minyak kelapa dan dimethylaminopropylamine. Cocamidopropyl Betaine (CABP) biasanya larutan dalam konsentrasi sekitar 30%.

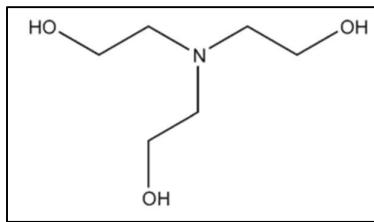
Monografi bahan *Cocamidopropyl betaine* :



Gambar 2. 9 Struktur kimia *Cocamidopropyl betaine*

Sinonim	: <i>N-Cocamidopropyl-N,N dimethylglycine inner salt;</i> <i>N-(3- Cocamidopropyl)-betaine</i>
Nama Kimia	: <i>Cocamidopropyl betaine</i>
Kategori Fungsional	: Surfaktan sekunder
Pemerian	: Cairan kuning jernih, tidak berbau atau berbau lemah
Kelarutan	: Larut dalam air
Titik didih	: 212°C
pH	: 4,5 – 5,5
Stabilitas	: Stabil pada kondisi normal (suhu kamar) konsentrasi yang digunakan : 0,03 – 15%.
Inkompatibel	: Korosif terhadap zat besi, membentuk endapan dengan garam perak, timbal dan merkuri. Menurunkan kelarutan <i>Methyl paraben</i> . Meningkatkan viskositas gel karbomer dan larutan hidroksietil selulosa
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat terlindung dari cahaya.

2.6.3.5. *Triethanolamine (TEA)*



Gambar 2. 10 Struktur Kimia Triethanolamine

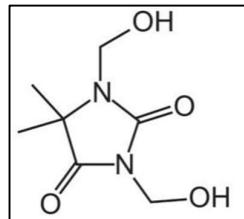
Sinonim	: TEA; tealan; triethylamine; trihydroxy triethylamine; tris (hydroxyethyl)amine; trolaminum.
Nama Kimia	: 2,2,2-Nitrolotriethanol
Kategori Fungsional	: Sebagai agen alkali, agen emulsi
Pemerian	: Kental bening, tidak berwarna hingga kuning pucat, cairan dengan sedikit bau amoniak.
Kelarutan	: Sangat larut dalam air, larut sebagian dalam etanol 95%
Titik Lebur	: 335°C
pH	: 10,5
Stabilitas	: Dapat berubah warna menjadi coklat jika terkena udara dan cahaya, homogenitas dapat dipulihkan dengan pemanasan
Inkompatibel	: TEA akan bereaksi dengan asam mineral membentuk garam kristal dan ester, dengan asam lemak yang berlebih tinggi, triethanolamine juga akan bereaksi dengan tembaga membentuk garam kompleks. Perubahan warna dan pengendapan dapat terjadi dengan adanya logam berat.
Penyimpanan	: Dalam wadah kedap udara terlindung dari cahaya, ditempat sejuk dan kering.

2.6.3.6. *DMDM Hydantoin*

Pemilihan DMDM Hydantoin karena pengawet ini memiliki spektrum antimikroba yang luas, sangat larut dalam air, dan cukup stabil pada rentang pH dan suhu yang luas. DMDM Hydantoin digunakan dengan konsentrasi <0,1 hingga 1%.

Untuk produk pembersih kulit konsentrasi yang digunakan 0,1 – 1%.

Monografi DMDM Hydantoin

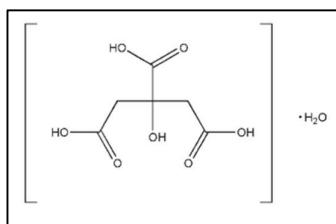


Gambar 2. 11 Struktur Kimia DMDM Hydantoin

Nama Lain	:	DMDM <i>Hydantoin</i> , <i>Glydant</i> ,
Nama Kimia	:	1,3-dimethylol-5,5-dimethyl hydantoin, 1,3-Bis(Hydroxymethyl)-5,5-Dimethyl-2,4-Imidazolidenedione.
Pemerian	:	Cairan bening dengan sedikit berbau
Kegunaan	:	Pengawet
Kelarutan	:	Larut dalam air dan etanol
Titik Didih	:	198-200 °C
pH	:	6,9
Inkompatibel	:	-
Penggunaan	:	Cosmetic Ingredient Review (CIR) menganggap DMDM Hydantoin aman pada tingkat penggunaan saat ini pada konsentrasi 0,1 – 1%

2.6.3.7. *Citric Acid*

Monografi Asam Sitrat :



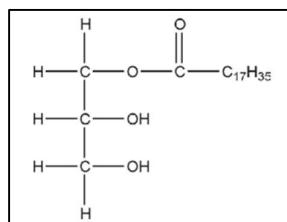
Gambar 2. 12 Struktur Kimia Citric Acid

Sinonim	:	<i>Acidum citricum monohydricum</i> ; <i>E330</i> ; <i>2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid monohydrate</i> .
---------	---	--

Nama Kimia	:	<i>2-Hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylic acid monohydrate</i>
Kategori Fungsional	:	Antioksidan, Penyangga, Penambah rasa, Pengawet, Agen Pengasam
Pemerian	:	Kristal tidak berwarna, atau tembus cahaya, atau kristal putih bubuk efflorescent tidak berbau dan memiliki rasa asam yang kuat. Struktur kristal nya adalah ortorombik.
Kelarutan	:	Sangat larut dalam air, larut sebagian dalam etanol 95%
Titik Lebur	:	~100°C melunak pada 75°C
pH	:	2.2
Stabilitas	:	Kehilangan air kristalisasi di udara kering atau saat dipanaskan hingga sekitar 408°C. sedikit deliquescent di udara lembab.
Inkompatibel	:	Kalium tartrat, alkali dan karbonat tanah alkali dan bikarbonat, asetat dan sulfida. Termasuk zat pengoksidasi, basa, pereduksi dan nitrat. Berpotensi meledak dengan nitrat logam.
Penyimpanan	:	Dalam wadah tertutup rapat di tempat kering terhindar dari cahaya.

2.6.3.8. *Glyceryl Stearate*

Monografi *Glyceryl Stearate* :



Gambar 2. 13 Struktur kimia *Glyceryl Stearate*

Sinonim	:	<i>glyceryl monostearate; glycerin monostearate; glycerol monostearate; glycerol monostearate; glyceryl stearate; glyceryl stearate;</i>
Nama Kimia	:	<i>Octadecanoic acid, monoester with 1,2,3-propanetriol</i>
Kategori Fungsional	:	Emolien, agen pengemulsi, agen pelarut, penstabil, Lubrikan pada tablet dan kapsul
Pemerian	:	Warna putih hingga krem, seperti lilin padat berbentuk manik-manik serpihan atau bubuk. Memiliki sedikit bau dan rasa berlemak.
Kelarutan	:	Larut dalam etanol panas, eter, kloroform, aseton panas, minyak mineral dan minyak tetap. Praktis tidak larut dalam air, tetapi mungkin disebarluaskan dalam air dengan bantuan sedikit sabun atau surfaktan lainnya.
Titik Lebur	:	55 – 60 °C
pH	:	5,0 – 7,0
Stabilitas	:	Meningkat dalam nilai asam setelah penuaan karena saponifikasi ester dengan sejumlah kecil air.
Inkompatibel	:	Tidak kompatibel dengan zat asam.
Penyimpanan	:	Dalam wadah tertutup rapat di tempat sejuk, kering dan terhindar dari cahaya.

2.6.3.9. Aquades

Aquades adalah air murni yang diperoleh dengan cara penyulingan, penukaran ion, osmosis terbalik, atau dengan cara yang sesuai dan bebas dari kotoran 35 maupun mikroba. Kegunaannya sebagai pelarut dalam formulasi, bahan aktif, dan reagen analitik dalam farmasi (Rowe *et al.*, 2009).

Monografi aquades (Depkes RI, 2014):

Nama resmi	:	Aqua destilata
Pemerian	:	Cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa
Penyimpanan	:	Dalam wadah tertutup rapat

Kegunaan : Sebagai fase air (pembawa)

2.6.4. Evaluasi Sediaan Sabun

2.6.4.1. Uji Stabilitas Sediaan Sabun

Uji Stabilitas dilakukan untuk menjamin sediaan memiliki sifat yang sama setelah sediaan dibuat dan masih memenuhi parameter kriteria selama penyimpanan. Uji stabilitas menurut pedoman cara pembuatan obat yang baik (CPOB) dapat dilakukan dengan dua cara pengujian yaitu :

1. Pengujian jangka panjang

Pengujian dilakukan pada kondisi penyimpanan normal dan terbagi dalam beberapa interval yaitu minimum setiap tiga bulan pada tahun pertama, setiap enam bulan untuk tahun kedua dan selanjutnya sekali setiap tahun. Lama periode pengujian ditentukan oleh masa edar yang diperkirakan bagi produk obat yang dibuat.

2. Pengujian dipercepat

Pengujian dilakukan pada kondisi penyimpanan yang tidak normal (ekstrem) dengan lama periode pengujian selama 3 - 6 bulan. Pengujian terbagi sedikitnya 4 interval waktu dengan kondisi yang diperberat seperti pada temperatur, kelembaban dan paparan cahaya. Hasil pengujian kemudian diekstrapolasi kedalam kondisi penyimpanan normal dan didapatkan data stabilitas produk.

Adapun beberapa metode pengujian stabilitas dipercepat, antara lain:

- a. *Elevated temperature*

Setiap kenaikan suhu 100°C akan mempercepat reaksi 2-3 kali. Tetapi secara praktis cara ini agak terbatas karena pada kenyataannya suhu yang jauh di atas normal akan menyebabkan perubahan yang tidak pernah terjadi pada suhu normal. Uji ini digunakan sebagai indikator kestabilan

- b. *Elevated humidities*

Umumnya, uji ini dilakukan untuk menguji kemasan produk. Jika terjadi perubahan pada produk dalam kemasan karena pengaruh kelembaban, hal ini menandakan bahwa kemasannya tidak memberikan perlindungan yang cukup terhadap atmosfer.

c. *Cycling test*

Pengujian *cycling test* bertujuan untuk mengetahui kestabilan sediaan apakah terjadi kristalisasi atau pengendapan maupun proses oksidasi dalam sabun mandi cair dalam suhu yang ekstrem dengan tingkat stres yang tinggi. Pemeriksaan stabilitas dilakukan dengan menggunakan metode *freeze and thaw*.

d. Uji mekanik (sentrifugasi)

Uji mekanik dilakukan untuk mengetahui terjadinya perubahan fase dari emulsi yang mana hasilnya ekivalen dengan gaya gravitasi selama 1 tahun. Kemudian diamati secara visual ada atau tidaknya pemisahan fase

2.6.4.2. Uji Mutu Fisik Sediaan Berdasarkan SNI 2588-2017

Uji mutu fisik sediaan berdasarkan SNI 2588-2017 bertujuan untuk mengetahui sifat fisik awal pada sediaan sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan berdasarkan SNI 2588-2017. Evaluasi uji mutu fisik antara lain :

1. Uji pH

Derajat keasaman atau pH digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau basa yang dimiliki oleh suatu zat, larutan atau benda. pH adalah singkatan dari power of Hydrogen. Secara umum pH normal memiliki nilai 7 sementara bila nilai $pH > 7$ menunjukkan zat tersebut memiliki sifat basa, sedangkan nilai $pH < 7$ menunjukkan keasaman. pH 0 menunjukkan derajat keasaman yang tinggi, dan pH 14 menunjukkan derajat kebasaan tertinggi (SNI, 2017).

2. Total Bahan Aktif

Bahan aktif (surfaktan anionik, nonionik, kationik, dan amfoterik) maupun bahan selain bahan aktif (bahan organik yang tidak bereaksi, parfum, lemak alkanolamida, asam lemak bebas dan wax) dapat terlarut dalam etanol. Bahan selain bahan aktif dapat terlarut juga dalam petroleum eter. Bahan aktif yang larut dalam etanol dapat ditentukan dengan sampel dilarutkan dalam etanol dan berat dari bahan yang terlarut dalam etanol akan diperoleh. Bahan yang larut dalam petroleum eter ditentukan dengan sampel dilarutkan pada larutan air-etanol lalu

diekstraksi dengan petroleum eter, sehingga akan didapatkan berat bahan yang larut dalam petroleum eter. Total bahan aktif ditentukan dengan menghitung bahan yang larut dalam etanol dikurangi dengan bahan yang larut dalam petroleum eter (SNI, 2017).

3. Bahan Yang Tidak Larut dalam Etanol

Penentuan bahan aktif yang tidak larut dalam etanol dilakukan dengan tujuan untuk mengamati bahan atau zat yang dapat tertinggal pada kulit karena tidak larut dalam air pada proses pembilasan. Uji dilakukan dengan pelarutan sabun dalam etanol, penyaringan, dan penimbangan residu yang tidak terlarut dan tertahan pada kertas saring (SNI, 2017).

4. Uji Alkali Bebas dan Uji Asam Lemak Bebas

Proses pembuatan sabun merupakan proses kimia. Alkali bebas merupakan residu yang tidak terikat dengan asam lemak pada pembentukan sabun. Alkali bebas memiliki kecenderungan semakin menurun akibat lama pengadukan dan akibat rasio air/sabun. Hal ini akibat adanya reaksi alkali dengan asam-asam lemak yang terdapat pada minyak hasil pemurnian sehingga reaksi penyabunan semakin sempurna, yang berdampak pada penurunan alkali bebas. Adanya penurunan alkali bebas ini juga disebabkan oleh rasio air/sabun yang ditambahkan, karena air dapat menurunkan konsentrasi alkali bebas dalam sabun. Semakin rendah residu alkali bebas semakin dianjurkan untuk menjamin kesempurnaan reaksi penyabunan dan efek antibakteri (Rowe *et al.*, 2009). Kadar alkali bebas maksimal 0,1% untuk natrium, karena alkali dapat mengakibatkan iritasi pada kulit. Sedangkan asam lemak bebas merupakan senyawa asam lemak yang tidak berikatan dengan senyawa alkali selama proses pembuatan sabun, hal ini dapat disebabkan oleh banyaknya jumlah minyak yang digunakan atau konsentrasi dan jumlah alkali yang sedikit. Tingginya asam lemak bebas yang terdapat pada sabun akan mengurangi daya membersihkan sabun. Uji Alkali bebas atau asam lemak bebas dilakukan dengan prinsip filtrat hasil bahan tak larut dalam etanol ditambahkan indikator fenolftalein

kemudian dititrasikan dengan larutan standar asam atau larutan standar basa sesuai sifat sabun (SNI, 2017).

5. Cemaran Mikroba : Angka Lempeng Total

Uji cemaran mikroba dilakukan dengan metode Angka Lempeng Total (ALT). ALT merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk menetapkan angka bakteri aerob mesofil yang terdapat dalam sediaan. Prinsip pengujian ALT dengan melihat pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil pada media agar setelah diinkubasi dalam perbenihan yang cocok selama 24 - 48 jam pada suhu 35 ± 1 °C. Angka ALT harus ditekan sekecil mungkin, yaitu maksimal 1×10^3 koloni/g. Pengujian ALT membutuhkan alat-alat penunjang, antara lain pipet ukur 1 mL dan 10 mL, pisau, gunting, timbangan analitik, labu ukur, tabung reaksi 10 mL, erlenmeyer 250 mL, cawan petri dari gelas atau plastik (90-100 mm), penangas air 45 ± 1 °C, inkubator 36 ± 1 °C dan alat penghitung koloni (*colony counter*) (Suryani & Taupiqurrahman, 2021).

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan manusia. Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia harus memiliki sifat toksisitas yang selektif. Penentuan antibakteri dapat dilakukan beberapa metode yang biasa dilakukan dalam pengukuran daya antibakteri untuk zona hambat bakteri pada suatu sediaan adalah sebagai berikut:

1. Metode Dilusi

Pada prinsipnya metode ini dilakukan dengan mengencerkan zat yang akan diuji. Metode ini dapat digunakan untuk mengukur *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) atau Kadar Hambat Minimum (KHM) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) atau Kadar Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa terhadap aktivitas bakteri atau jamur. Uji aktivitas antibakteri atau jamur metode dilusi ini dilakukan dengan memasukkan sejumlah zat antimikroba ke dalam medium bakteri atau jamur ologi padat atau

cair dan biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat. Metode ini berguna untuk mengetahui seberapa besar jumlah zat antimikroba yang diperlukan dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri atau jamur uji (Indriyani, 2020) .

Pada metode dilusi ada 2 macam, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Pada dilusi cair dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Pada dilusi padat dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium padat (solid) yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM (Indriyani, 2020).

2. Metode Difusi

Metode Difusi adalah pengukuran dan pengamatan diameter zona bening yang terbentuk disekitar cakram, dilakukan pengukuran setelah didiamkan selama 18-24 jam dan diukur menggunakan jangka sorong (Khairani, 2009).

Prinsip metode difusi cakram, yaitu cakram kertas yang telah direndam bahan uji selama 15-30 menit ditanam pada media agar padat yang telah dicampur bakteri uji kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Setelah itu, amati area jernih disekitar cakram. Area jernih ini disebut dengan zona hambat (Pratiwi, 2008). Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara:

a. Metode Kirby Bauer

Metode ini dilakukan dengan cara zat antimikroba ditampung menggunakan kertas cakram saring (*paper disc*). Setelah itu, kertas saring yang telah mengandung zat antimikroba diletakkan pada agar yang telah dinokulasi dengan mikroba uji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam atau pada waktu dan suhu tertentu sesuai dengan kondisi optimum pertumbuhan mikroba uji (Pratiwi, 2008).

b. Metode Parit

Lempeng agar yang telah dinokulasi dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut diisi dengan antimikroba, lalu diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh adalah ada atau tidaknya zona hambat disekitar parit (Bonang G, 2009).

c. Metode Lempeng

Pada inokulasi lempeng agar dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat di sekeliling lubang (Pratiwi, 2008).

3. Metode Sumuran

Cara ini untuk menentukan pengaruh zat uji terhadap mikroba. Pertama-tama biakan bakteri dioleskan pada media agar kemudian dibuatkan sumuran dengan diameter tertentu. Di dalam sumuran itulah zat uji akan diuji dengan memasukkan konsentrasi yang berbeda, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu bisa dilihat diameter hambatan dari zat uji tersebut (Pratiwi, 2008). Berdasarkan penelitian (Haryati *et al.*, 2017) menunjukan bahwa metode sumuran lebih bagus dan lebih luas zona hambatnya dibanding metode disk. Metode sumuran dapat menghasilkan diameter zona hambat yang besar. Hal ini diakibatkan karena pada metode sumuran terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dari metode disk. Metode sumuran setiap lubangnya diisi dengan konsentrasi ekstrak sehingga osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen serta konsentrasi ekstrak yang dihasilkan lebih tinggi dan lebih kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

2.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari identifikasi metabolit sekunder secara GC-MS dan pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) pada setiap formulasi sabun terhadap dua bakteri uji kemudian dianalisis secara deskriptif.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Laboratorium Teknologi Farmasi Program Studi Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional Jakarta, Laboratorium Kesehatan Daerah (LABKESDA) Jakarta, serta di Herbarium Depokensis (UIDEP) Ruang Koleksi Biota UI, Depok. dan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Bogor. Waktu pengujian dilaksanakan pada bulan Februari – Oktober 2024.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Sedotan steril, Tusuk gigi, Karet gelang, Tisu, Kapas, Kasa, Kertas Saring, pH Indikator, *Blue tip*, *Yellow tip*, Pinset, Gunting, Cawan Petri, Bunsen, *Beaker glass (Pyrex)*, Batang pengaduk, Gelas ukur (Iwaki *Pyrex*), Erlenmeyer (Agc Iwaki), Corong pisah, Tabung reaksi (Iwaki), *Aluminium foil*, Botol kaca 500mL, Jarum ose, Neraca analitik (Kenko), pH meter, Oven (Memmert), *Hot plate (18-Onc)*, *Magnetic stirrer*, Kulkas, Jangka sorong (Venier Califer), Mikropipet (VWR dan Peqlab), Viskometer *Brookfield*, Mikroskop binokuler (*Olympus*), *Object glass*, *Cover glass*, Inkubator (Memmert), Autoklaf (Hirayama), Laminar Air flow (LAF), dan GC MS (HP 6890 Series).

3.2.2 Bahan Penelitian

1) Kapang Endofit

Kapang endofit isolat PLC4 yang merupakan hasil isolasi dari tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.)

2) Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

3) Bahan

Bahan yang digunakan diantaranya D(+)-Glucose monohydrate (Merck), Sabun cair Dettol, aquades steril, kasa, kapas, pembakar spirtus, pelarut etil asetat ($C_4H_8O_2$) teknis, *lactofenol blue*, alkohol 70%, *sodium cocoyl*

isethionate (SCI), sodium chloride (NaCl), citric acid, glyceryl stearate, DMDM Hydantoin, Triethanolamine (TEA).

4) Media Pertumbuhan Mikroorganisme

Media yang digunakan adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Merck) dan Ubi Kayu (Singkong), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA).

3.3. Prinsip Penelitian

Isolat dengan kode PLC4 hasil koleksi Laboratorium Mikrobiologi Institut Sains dan Teknologi Nasional dilakukan proses peremajaan menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) diambil sebanyak satu isolat menggunakan sedotan steril dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. kemudian, dilakukan pengujian karakterisasi isolat kapang secara makroskopis dan mikroskopis. Sebelum proses fermentasi dan pembuatan kurva tumbuh ubi kayu dilakukan proses determinasi untuk mengetahui identitas tanaman ubi kayu yang digunakan. selanjutnya dilakukan proses pembuatan media fermentasi dan kurva tumbuh dari air rebusan ubi kayu yang diinokulasikan isolat PLC4 untuk kurva tumbuh selama 30 hari untuk mengetahui fase stasioner dengan metode statis yang didasarkan pada kurva tumbuh sebelumnya untuk mendapatkan supernatan. Hasil fermentasi yang didapat dilakukan pemisahan antara lapisan supernatan dan biomassa dengan cara disaring, kemudian hasil pemisahan supernatan diekstraksi dengan etil asetat. Hasil ekstraksi kemudian di *Rotary evaporator* diperoleh ekstrak kental dan dilakukan uji identifikasi metabolit sekunder secara GC-MS. Hasil ekstrak yang telah diidentifikasi kemudian diformulasikan untuk membentuk sabun cair serta dilakukan uji aktivitas antibakteri sabun menggunakan metode difusi sumuran terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1 Determinasi Tanaman Ubi Kayu

Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) diperoleh dari Desa Kedungjaya, Kecamatan Babelan, Bekasi, Jawa Barat. Dilakukan determinasi di Herbarium Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota UI, Depok.

3.4.2 Sterilisasi Alat

Alat dan bahan yang digunakan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Sedangkan alat gelas seperti erlenmeyer, tabung reaksi, tabung ulir, cawan petri dan botol fermentasi disterilisasi menggunakan oven pada suhu 180°C selama 1 jam lalu ose bulat dan batang L disterilisasi menggunakan prosedur sterilisasi pemijaran langsung melalui pembakaran ujung peralatan tersebut di atas api bunsen hingga memijar dan direndam dalam etanol 70%.

3.4.3 Pembuatan Media Pertumbuhan

1) Pembuatan Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Pembuatan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dengan cara ditimbang sebanyak 39 g serbuk PDA (*Potato Dextrose Agar*) dilarutkan dengan 1000 mL aquades menggunakan erlenmeyer. dipanaskan media menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* hingga homogen dan terbentuk larutan jernih, kemudian ditutup erlenmeyer dengan kapas dan kasa steril dan dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. (Rodiah *et al.*, 2022).

2) Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Pembuatan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan cara ditimbang sebanyak 38 g serbuk MHA (*Mueller Hinton Agar*) dilarutkan dengan 1000 mL aquades menggunakan erlenmeyer. dipanaskan media menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* hingga homogen dan terbentuk larutan jernih, kemudian ditutup erlenmeyer dengan kapas dan kasa steril dan dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. (Rodiah *et al.*, 2022).

3) Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) dengan cara ditimbang sebanyak 20 g serbuk NA (*Nutrient Agar*) dilarutkan dengan 100 mL aquades menggunakan erlenmeyer. Dipanaskan media menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan dan terbentuk larutan jernih, kemudian ditutup erlenmeyer dengan kapas dan kasa steril dan dilakukan sterilisasi menggunakan

autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. (Rodiah *et al.*, 2022).

4) Pembuatan Media Air Rebusan Ubi Kayu

Ubi kayu dikupas dan dibuang kulit nya, kemudian dicuci bersih dan dipotong serta timbang sebanyak 200 g, kemudian direbus menggunakan aquades sebanyak 500 mL hingga mendidih pada suhu 100°C selama 15 menit, kemudian dipisahkan air rebusan dan ubi kayu dengan cara disaring dalam erlenmeyer lakukan proses penyaringan dengan cara aseptis. Kemudian dimasukkan 20 g *Dextrose* ke dalam erlenmeyer ditambahkan aquades hingga 1000 mL. Dipanaskan media menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* hingga homogen. Lalu dimasukkan media ubi kayu ke dalam botol fermentasi yang telah di sterilisasi sebanyak 300 mL dan sebanyak 100 mL untuk kurva pertumbuhan. Selanjutnya botol ditutup menggunakan kapas dan kasa steril kemudian dibungkus dengan kertas rekatkan dengan karet gelang, dimasukkan dalam plastik tahan panas dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.4.4 Peremajaan Kapang Endofit Isolat PLC4

Pada penelitian sebelumnya, isolat PLC4 diperoleh dengan cara mengisolasi isolat murni dari tangkai daun kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) Dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*) dilakukan secara aseptis dengan cara mengambil 1 isolat biakan master menggunakan sedotan steril dibantu dengan tusuk gigi dan diletakkan diatas media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang telah steril dan mengeras pada cawan petri, selanjutnya biakan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Isolat yang tumbuh diamati morfologi koloni secara makroskopis dan mikroskopis.

3.4.5 Karakteristik Kapang Endofit PLC4

Pengamatan morfologi kapang endofit dilakukan dengan dua cara secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan secara makroskopik yang dilakukan diantaranya adalah dengan mengamati karakteristik suatu biakan, meliputi bentuk, warna, struktur permukaan koloni, *radial furrow*, ada atau tidak nya zonasi, *growing zone*, warna sebalik koloni dan *exudate drop*. Pengamatan koloni

dilakukan sejak awal penanaman hingga beberapa waktu tertentu, dan segala macam perubahan harus dicatat.

Sedangkan pengamatan mikroskopik dilakukan dengan menggunakan metode *slide culture*. Cawan petri yang telah dialasi kertas saring atau tisu diletakkan kaca penutup dan kaca objek serta pipet kaca disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1 atm. Kemudian diteteskan media PDA ke atas kaca objek dengan menggunakan pipet kaca dan biarkan hingga memadat. Kemudian ambil kapang endofit menggunakan pinset steril dan diletakkan pada permukaan kaca objek di atas media PDA yang mengering kemudian *slide culture* diinkubasi selama 5 hari dengan suhu 37°C. Isolat kapang di kaca objek disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diteteskan dengan larutan *methylene blue* dan ditutup dengan kaca objek.

3.4.6 Fermentasi Kapang Endofit Isolat PLC4

Isolat PLC4 yang sudah dikultur selama 7 hari diinokulasikan sebanyak 3 lempeng ke dalam botol kaca yang berisi 100 mL media ubi kayu steril dan sebanyak 9 lempeng isolat ke dalam botol kaca berisi 300 mL media ubi kayu steril. Setiap koloni difermentasi dalam keadaan statis pada suhu ruang selama 21 hari. Hasil fermentasi disaring dan dipisah menjadi 2 bagian dan diambil filtrat supernatan untuk diekstraksi (Gakuubi *et al.*, 2022).

3.4.7 Pembuatan Kurva Tumbuh

Selama 3-5 hari hasil fermentasi dilakukan pengamatan bobot biomassa dengan cara disaring menggunakan kertas saring dan hasil penyaringan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 30 menit kemudian ditimbang bobot yang telah dikeringkan. Perubahan kurva tumbuh kemudian dihitung dan dicatat.

3.4.8 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan pada saat awal (sebelum fermentasi) dan setiap pengamatan biomassa menggunakan pH meter.

3.4.9 Ekstraksi Hasil Fermentasi Isolat PLC4

Setelah 21 hari fermentasi kemudian disaring untuk memisahkan biomassa dan supernatan. Hasil supernatan ditambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan supernatan : pelarut = 1:1 kemudian diekstraksi menggunakan corong pisah dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan yang terpisah. Lapisan atas sebagai fraksi etil asetat yang diambil kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian di *waterbath* untuk menghasilkan ekstrak kental yang siap digunakan untuk bahan tambahan dalam formulasi sabun cair (Aziz, 2017).

3.5. Analisis Senyawa Aktif Ekstrak Isolat PLC4

Karakterisasi atau uji komponen kimia ekstrak isolat PLC4 menggunakan instrumen *Gas Chromatography -Mass Spectroscopy / GC-MS* (Shimadzu Q 2010) di Laboratorium Kesehatan Daerah Jakarta. Ekstrak kental etil asetat dari hasil fermentasi kapang endofit PLC4 sebanyak 1 μ L diinjeksikan ke dalam instrumen GC-MS dan dianalisis kandungan senyawa nya. Data yang diperoleh antara lain nama senyawa, waktu retensi, presentasi area dan kemurnian zat.

Ekstrak kental etil asetat yang sudah dipekatkan di rotary evaporator selanjutnya dianalisis menggunakan GC-MS. GC-MS yang digunakan adalah HP 6890 Series, kolom DB-5 MS (30m x 0,20 mm x 0,11 um), suhu oven (80°C - 280°C). Suhu injektor 250°C. Gas pembawa yang digunakan yaitu gas helium sebagai pembawa laju aliran konstan 1,2 ml/menit. Temperatur injektor pada suhu 250°C dan temperatur sumber ion pada 230°C. Suhu awal oven diatur pada 80°C ditahan selama 0 menit, dinaikkan 3°C/menit hingga 150°C ditahan selama 1 menit, kemudian dinaikkan 20°C/menit hingga mencapai 280°C dan ditahan selama 26 menit. Spektrum massa diambil pada 70 eV. Analisis golongan senyawa metabolit sekunder menggunakan website *PubChem Substance Database*. *PubChem Substance Database* berisi informasi umum mengenai struktur kimia, sinonim, nomor registrasi, deskripsi, golongan senyawa aktif, website dan referensi terkait yang terhubung dengan PubMed, struktur 3D protein, dan hasil screening biologis (Widodo,dkk. 2010).

3.6. Formulasi dan Pembuatan Sabun cair

3.6.1. Uji Pendahuluan

Uji ini dilakukan untuk mengetahui terbentuk atau tidaknya basis sediaan sabun cair dan untuk menentukan konsentrasi ekstrak supernatan isolat PLC4 yang digunakan. Konsentrasi ekstrak isolat PLC4 yang mampu menghasilkan karakteristik fisik dan uji aktivitas antibakteri paling baik digunakan untuk membuat formula selanjutnya. Penilaian fisik yang dilakukan pada uji pendahuluan ini meliputi penampilan, viskositas, dan pH sediaan setelah 1x24 jam pembuatan sabun cair.

Tabel 3. 1 Formula Uji Pendahuluan

Komposisi	Formula (%)						Fungsi
	F0	F1	F2	F3	F4	F5	
Ekstrak Isolat PLC4	0	0,5	1	2	3	6	Bahan Aktif
<i>Sodium Cocoyl Isethionate</i>	5	5	5	5	5	5	Surfaktan
<i>Cocamide DEA</i>	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	Penstabil busa
<i>Cocamidopropyl betaine</i>	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	Surfaktan
<i>Triethanolamine</i>	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	Pengatur pH
<i>Sodium Chloride</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	Pengental
<i>DMDM hydantoin</i>	1	1	1	1	1	1	Pengawet
<i>Citric acid</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	Pengatur pH
<i>Glyceryl stearate</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	Penstabil
<i>Fragrance</i>	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Pewangi
Aquades ad	100	100	100	100	100	100	Pelarut

Keterangan :

- F0 : Formula basis sabun cair tanpa ekstrak isolat PLC4
- F1 : Formula sabun cair dengan penambahan 0,5% ekstrak isolat PLC4
- F2 : Formula sabun cair dengan penambahan 1 % ekstrak isolat PLC4
- F3 : Formula sabun cair dengan penambahan 2% ekstrak isolat PLC4
- F4 : Formula sabun cair dengan penambahan 3% ekstrak isolat PLC4
- F5 : Formula sabun cair dengan penambahan 6% ekstrak isolat PLC4

3.6.2. Formulasi Sabun Cair

Formulasi yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada formulasi sabun cair (Rinaldi *et al.*, 2021). Pada penelitian ini dilakukan modifikasi sehingga diperoleh formula sebagai berikut :

Tabel 3. 2 Formula Sabun cair

Komposisi	Formula (%)			Fungsi
	F0	F1	F2	
Ekstrak Isolat PLC4	0	3	6	Bahan Aktif
<i>Sodium Cocoyl Isethionate</i>	5	5	5	Surfaktan
<i>Cocamide DEA</i>	2,5	2,5	2,5	Penstabil busa
<i>Cocamidopropyl betaine</i>	2,5	2,5	2,5	Surfaktan
<i>Triethanolamine</i>	2,5	2,5	2,5	Pengatur pH
<i>Sodium Chloride</i>	0,5	0,5	0,5	Pengental
<i>DMDM hydantoin</i>	1	1	1	Pengawet
<i>Citric acid</i>	0,05	0,05	0,05	Pengatur pH
<i>Glyceryl stearate</i>	1,5	1,5	1,5	Penstabil
<i>Fragrance</i>	0,2	0,5	0,7	Pewangi
Aquades ad	100	100	100	Pelarut

Keterangan :

F0 : Formula basis sabun cair tanpa ekstrak isolat PLC4

F1 : Formula sabun cair dengan penambahan 3% ekstrak isolat PLC4

F2 : Formula sabun cair dengan penambahan 6 % ekstrak isolat PLC4

Penelitian ini dibuat dengan sediaan sabun cair dengan konsentrasi ekstrak isolat PLC4 yang bervariasi yaitu 3% dan 6 % dengan kontrol positif menggunakan sabun cair Dettol. Kontrol negatif menggunakan formula basis sabun tanpa ekstrak isolat PLC4. Sediaan sabun cair dibuat dalam berat 100 mL tiap formulasi dibuat menjadi 10 mL yang telah diteteskan dalam lubang yang telah dibuat pada media dan diberi perlakuan pada 3 cawan petri.

3.6.3. Pembuatan Sabun Cair Ekstrak Isolat PLC4

Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan. Kemudian semua bahan ditimbang sesuai dengan kebutuhan. Sebagian aquades dipanaskan pada suhu 60-70°C di dalam *beakerglass* kemudian dimasukkan sejumlah *sodium cocoyl*

isethionate sedikit demi sedikit sambil dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu, campuran didinginkan hingga mencapai suhu 30°C. Ditambahkan cocamidopropyl betaine, *cocamide* DEA dan *triethanolamie* lalu diaduk hingga homogen (M1). Di dalam *beaker glass* lain campurkan *DMDM hydantoin* dan *citric acid* berisi sedikit aquades diaduk hingga homogen (M2). Tambahkan campuran M2 ke dalam M1 dan diaduk hingga homogen. Kemudian ditambahkan *glyceril stearate* dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya NaCl yang sudah dilarutkan dalam aquadest dimasukkan kedalam seluruh campuran kemudian diaduk sampai homogen. Dimasukkan ekstrak isolat PLC4 sebanyak 3% dan 6% lalu diaduk hingga homogen. Ditambahkan *fragrance* lalu diaduk hingga homogen. dilakukan pengujian pH sediaan menggunakan pH meter. Campuran dituangkan ke dalam wadah botol yang sudah disiapkan.

3.6.4. Evaluasi Stabilitas Sediaan Sabun Cair Isolat PLC4

Uji Stabilitas yang dilakukan pada sabun cair isolat PLC4 menggunakan cara pengujian dipercepat dengan metode *cycling test*, sabun cair disiapkan didapat botol kaca sebanyak 300 mL menggunakan alumunium foil. Sampel siap digunakan untuk siklus *freeze and thaw* dengan cara disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam kemudian dilanjutkan pada suhu 40°C selama 24 jam yang dilakukan selama 6 siklus kemudian tiap siklus dilakukan pengukuran sebagai berikut:

1. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan cara pengamatan secara langsung menggunakan plat kaca dengan latar putih terhadap bau, warna dan bentuk dari sediaan sabun cair ekstrak isolat PLC4 (Indriyani, 2020).

2. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter digital pada semua variasi konsentrasi sediaan sabun cair ekstrak isolat PLC4 dengan 3 kali pengulangan. Alat sebelumnya dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4, 7 dan 10. Larutan buffer pH 4 mewakili bahwa larutan bersifat asam, sedangkan pH 7 mewakili pH larutan bersifat netral dan pH 10 mewakili pH larutan bersifat basa (Indriyani, 2020).

3. Uji Bobot jenis

Uji berat jenis digunakan piknometer dengan ditimbang piknometer kering dan bersih sebagai bobor kosong, kemudian dimasukkan air ke dalam piknometer dan timbang ulang catat sebagai wadah piknometer + air, kemudian ditambahkan semua variasi ekstrak ke dalam wadah pikno dan catat sebagai wadah piknometer + sampel. Kemudian dihitung bobot jenis terhadap variasi sampel (Indriyani, 2020).

$$\rho = \frac{\text{bobot piknometer sampel} - \text{bobot piknometer kosong}}{\text{bobot piknometer aquadest} - \text{bobot piknometer kosong}}$$

4. Uji tinggi busa dan stabilitas busa

Uji tinggi busa dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi berskala. Dimasukkan 1 g sediaan sabun cair dan 10 mL aquades dan dikocok selama 30 detik setelah itu diamkan selama 1, 2, 3, 4, dan 5 menit kemudian diukur tinggi busa yang terbentuk pada setiap menit (Indriyani, 2020).

$$\text{Rumus perhitungan stabilitas busa} = \frac{\text{tinggi busa akhir}}{\text{tinggi busa awal}} \times 100\%$$

5. Uji Viskositas

Viskositas diukur menggunakan viskometer Brookfield. Sampel yang diuji ditempatkan dalam *beaker glass*, *beaker glass* diatur ketinggiannya sehingga rotor dapat bergerak. Dicari rotor yang sesuai dengan tingkat kekentalan pada sampel, yaitu rotor 1. Kemudian rotor ditempatkan pada penggantung dan diatur, sehingga diperoleh nilai viskositas pada sampel. Pengukuran viskositas dilakukan sebanyak tiga kali replikasi (Indriyani, 2020).

3.6.5. Evaluasi Mutu Sabun Sesuai dengan Standar SNI

Evaluasi stabilitas sabun sesuai dengan standar SNI 2588-2017 (SNI, 2017)

1. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter digital pada semua variasi konsentrasi sediaan sabun cair ekstrak isolat PLC4 dengan 3 kali pengulangan. Alat sebelumnya dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4,7 dan 10. Larutan buffer pH 4 mewakili bahwa larutan bersifat asam, sedangkan

pH 7 mewakili pH larutan bersifat netral dan pH 10 mewakili pH larutan bersifat basa.

2. Total Bahan Aktif

a. Bahan yang Tidak Larut dalam Etanol

Sebanyak 5 g sampel dimasukkan erlenmeyer 300 ml, lalu ditambahkan 100 ml etanol, kemudian dipanaskan selama 30 menit diatas penangas air sambil sesekali diaduk. Larutan hangat yang didapatkan disaring dan dibilas larutan yang menempel pada erlenmeyer dengan 50 ml etanol. Filtrat dingin yang diperoleh dipindahkan ke dalam labu ukur 250 ml dan ditambahkan etanol 95% sampai tanda tera. Larutan diambil dengan pipet volumetrik sebanyak 100 ml dan dipindahkan *beaker glass* 200 ml yang sudah diketahui bobot kosongnya. Larutan dalam *beaker glass* dipanaskan diatas penangas air untuk menghilangkan etanolnya. Pengeringan dilakukan pada oven suhu 105°C selama 1 jam, didinginkan dalam desikator sampai bobot tetap, lalu ditimbang. Kadar bahan yang larut dalam etanol dihitung dengan persamaan :

$$C_{et} \frac{A}{S \times \left(\frac{100}{250}\right)} \times 100 = \frac{250 \times A}{S}$$

Keterangan :

Cet : bahan yang larut dalam etanol (%)

A : sisa bahan setelah pengeringan (g)

A : bobot contoh (g)

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

b. Penentuan bahan yang larut dalam petroleum eter

Sampel sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer 300 ml, lalu dilarutkan dalam 200 ml larutan air – etanol, kemudian disaring jika ada bahan yang tidak larut. Sebanyak 5 ml larutan natrium hidroksida 0,5 mol/L ditambahkan ke dalam larutan, lalu beberapa tetes indikator fenolftalein ditambahkan untuk memastikan larutan telah basa. Larutan dipindahkan ke corong pemisah 500 ml, diekstrak tiga kali dengan masing – masing 50 ml petroleum eter, kemudian dicuci lapisan petroleum eter tiga dengan 30 ml larutan campuran air – etanol, dan

dicuci dua kali dengan masing – masing 30 ml air suling. Larutan yang didapat dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat sampai tidak ada lapisan air, lalu disaring menggunakan kertas saring ke dalam erlenmeyer 300 ml yang telah diketahui bobotnya. Erlenmeyer dibiarkan dalam desikator sampai suhu ruang dan sesekali udara kering dialirkan ke dalam erlenmeyer untuk menghilangkan sisa petroleum eter sampai bau petroleum eter hilang, lalu ditimbang sampai bobot tetap. Kadar bahan yang larut dalam petroleum eter dihitung menggunakan persamaan :

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

Keterangan :

- Cpe : bahan yang larut dalam petroleum eter (%)
 A : jumlah yang terekstraksi dalam petroleum eter (g)
 S : bobot contoh (g)

c. Penentuan total bahan aktif

$$\text{kandungan total bahan aktif} = \text{Cet} - \text{Cpe}$$

Keterangan :

- Cet : bahan yang larut dalam etanol (%)
 Cpe : bahan yang larut dalam petroleum eter (%)

3. Alkali Bebas atau Asam Lemak Bebas

Pada prinsipnya yaitu titrasi filtrat hasil bahan tidak larut pada alkohol dengan larutan standar asam apabila dengan indikator fenolftalein sifatnya basa ataupun dilakukan titrasi memakai larutan standar alkali apabila jika dipergunakan indikator fenolftalein pada larutan mempunyai sifat asam.

Rumus :

$$Alkali\ bebas = \frac{40 \times V \times N}{b} \times 100$$

Keterangan :

- N : Normalitas HCl yang dipakai

V : Volume HCl yang dipakai (ml)

b : Berat sampel (mg)

40 : berat ekuivalen NaOH

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

Keterangan :

N : Normalitas KOH yang dipakai

V : Volume KOH yang dipakai (ml)

b : berat sampel (mg)

282 : berat ekuivalen asam oleat ($C_{18}H_{34}O_2$)

4. Cemaran Mikroba : Angka Lempeng Total (ALT)

Sebanyak 25 ml sampel diukur dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer atau yang berisi 225 larutan pengencer hingga diperoleh pengenceran 1 : 10 dikocok dan dilanjutkan dengan pengenceran yang diperlukan. Sebanyak 1 ml dari masing – masing pengenceran di pipet ke dalam cawan petri steril secara simplo. Sebanyak ± 15 ml media NA yang telah dicairkan suhu 45°C dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama dituang ke dalam setiap cawan petri, lalu digoyangkan dengan hati – hati (diputar dan digoyangkan ke depan dan ke belakang serta ke kanan dan ke kiri) hingga contoh tercampur merata. Pemeriksaan blanko dikerjakan dengan mencampurkan air pengencer dengan perbenihan untuk setiap sampel yang diperiksa. Campuran dalam cawan petri dibiarkan hingga memadat, kemudian semua cawan petri dimasukkan dengan posisi terbalik ke dalam inkubator dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 – 48 jam. Pertumbuhan koloni dihitung pada setiap cawan yang mengandung 25 – 250 koloni setelah 48 jam. Angka lempeng total dihitung dalam 1 g atau 1 ml. Sampel dengan mengalikan jumlah rata – rata koloni pada cawan dengan faktor pengenceran yang digunakan (sesuai).

3.7.Uji Antibakteri

3.7.1. Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Peremajaan dilakukan pada biakan murni yang terdapat dalam cawan petri. Kemudian bakteri uji diinokulasikan dengan cara masing-masing satu ose ke dalam media agar miring NA lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengerajan dilakukan dengan kondisi steril dalam *Laminar Air Flow* (LAF) (Zulfa, 2016).

3.7.2. Pengamatan Gram Bakteri Uji

Dilakukan secara mikroskopis pada bakteri uji yang berusia 24-48 jam. Kaca objek dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70% dan dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak, dibiarkan hingga dingin. Siapkan preparat dengan meneteskan aquadest ke atas kaca objek, ambil bakteri yang sudah diremajakan menggunakan ose dan sebarkan pada aquadest. Kering dan anginkan dengan melewatkannya 2-3 kali kaca objek di atas nyala api spirtus dengan tujuan untuk mematikan sel-sel. Lakukan pewarnaan, preparat diteteskan larutan kristal violet selama 1 menit, lalu cuci dengan air mengalir. Kemudian preparat diteteskan lugol selama 1 menit, lalu cuci dengan air mengalir. Selanjutnya preparat ditetesi alkohol 96% sampai tidak ada lagi pewarnaan yang terbawa oleh alkohol selama 10 detik, lalu cuci dengan air mengalir. Setelah itu, preparat diteteskan larutan safranin selama 45 detik, lalu cuci dengan air mengalir. Preparat yang sudah dilakukan pewarnaan dikeringkan, lalu tutup dengan kaca penutup dan diamati dengan mikroskop cahaya mulai dari perbesaran 400x hingga 1000x. Diamati bentuk dan warna koloni bakteri.

3.7.3. Pembuatan Suspensi Uji

Pembuatan suspensi *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan cara menginokulasikan beberapa ose koloni bakteri uji yang sudah diremajakan ke dalam larutan NaCl fisiologis 0.9% sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*. kekeruhan disetarakan dengan Mc. Farland NO. 3 yaitu setara dengan 10^8 sel bakteri/mL lalu diencerkan hingga diperoleh angka pengenceran 10^7 CFU/mL.

3.7.4. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian dilakukan dengan metode difusi sumuran pada masing-masing variasi formulasi sabun cair, menggunakan media MHA steril yang sudah dibuat ke dalam cawan petri dibiarkan hingga memadat, kemudian dibuat sumuran menggunakan sedotan steril pada media MHA. Pada setiap sumuran diisi dengan sediaan sabun cair konsentrasi 3 %, 6 %, sabun cair tanpa ekstrak isolat PLC4 sebagai kontrol negatif dan sabun komersil dettol sebagai kontrol positif kemudian sabun cair sebanyak 20-25 μL menggunakan mikropipet. Kemudian cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C.

3.8. Analisis data

Berdasarkan data yang diperoleh dari beberapa formula hasil evaluasi berupa pH, tinggi busa, stabilitas busa, viskositas dan bobot jenis dianalisis secara deskriptif sedangkan dari hasil uji aktivitas antibakteri sediaan sabun cair isolat PLC4 dilakukan analisis secara statistik dengan analisa varian satu arah (*one way ANOVA*) kemudian dilanjutkan dengan *post hoc LSD* (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda secara signifikan dari hasil pengujian. Data yang memiliki nilai signifikan dilakukan uji lanjutan uji *paired sample T – test*.

BAB IV

PEMBAHASAN

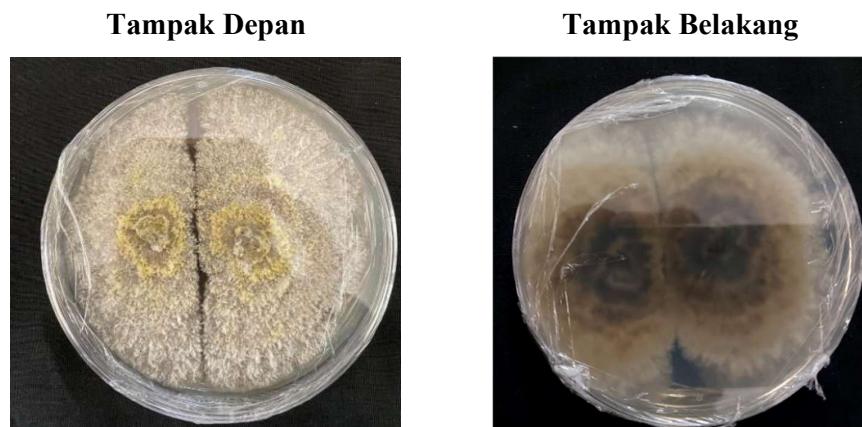
4.1 Determinasi Tanaman Ubi Kayu

Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Koleksi Biota, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia dan Herbarium Depokensis (UIDEP), DKI Jakarta, dapat diketahui bahwa tanaman ubi kayu memiliki nama spesies (*Manihot esculenta* Crantz.). Hasil uji determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.2 Hasil Karakteristik Kapang Endofit PLC4

Kapang endofit isolat PLC4 dilakukan peremajaan dalam media PDA untuk ditumbuhkan kembali agar didapatkan jenis kapang yang masih aktif dan tidak mengandung kontaminasi. Uji karakterisasi kapang endofit PLC4 dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Hasil pengamatan yang dilakukan setelah 7 hari peremajaan, didapatkan hasil pengamatan makroskopis dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.

a) Pengamatan Makroskopis

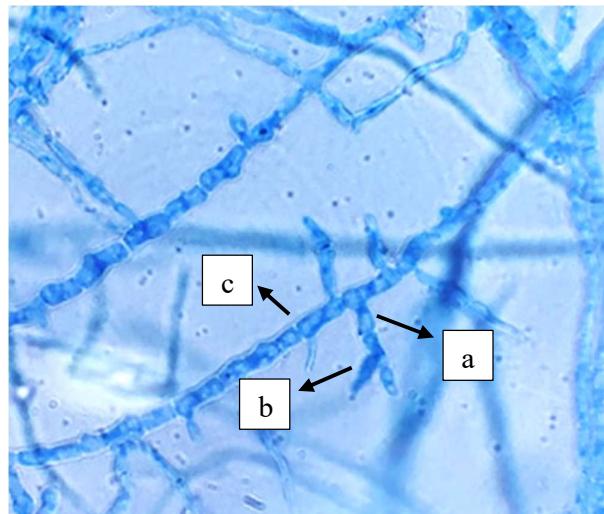


Permukaan koloni berbentuk beludru, bergelombang seperti karang, warna permukaan koloni putih kecoklatan dengan sedikit kuning dan bentuk tepi tidak teratur

Permukaan berwarna coklat kehijauan dengan tekstur permukaan datar dan bentuk tepi tidak teratur

Gambar 4. 1 Karakteristik makroskopis kapang endofit PLC4

b) Pengamatan Mikroskopis



Keterangan :

- a. Sporangium
- b. Sporangiospor
- c. Hifa bersepta

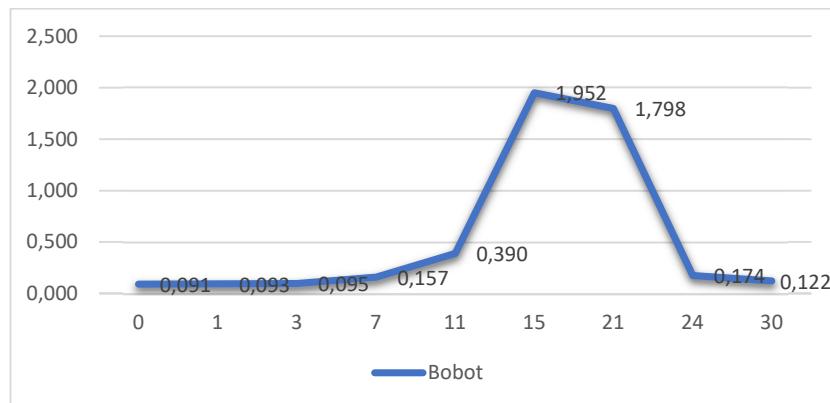
Gambar 4. 2 karakteristik mikroskopis kapang endofit PLC4

Karakteristik mikroskopis pada isolat PLC4 salah satunya dapat dilihat memiliki hifa bersepta/bersekat yang menjadi salah satu penentu pada divisi kapang (Bahri *et al.*, 2022). Kapang dapat dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan bentuknya dibedakan menjadi dua macam hifa, yaitu hifa tidak bersepta dan hifa bersepta. Hifa yang tidak bersepta merupakan ciri jamur yang termasuk Phycomycetes (jamur tingkat rendah). Hifa ini merupakan sel yang memanjang, bercabang-cabang, terdiri atas sitoplasma dengan banyak inti (soenositik). Hifa yang bersepta merupakan ciri dari jamur tingkat tinggi, atau yang termasuk Eumycetes (Suryani & Taupiqurrahman, 2021).

4.3 Hasil Kurva Pertumbuhan Kapang Endofit PLC4

Setiap mikroba memiliki pertumbuhan yang berbeda, yaitu fase pertumbuhan dalam bentuk kurva tergantung pada keadaan laju kultur seperti hal nya kapang endofit. Proses kurva pertumbuhan dilakukan sebelum proses fermentasi dilakukan. Hal ini dilakukan untuk melihat peningkatan jumlah sel yang dilakukan selama 30 hari. Peningkatan jumlah sel dilakukan dari hasil pengukuran bobot massa yang dilakukan pada media cair air rebusan ubi kayu menggunakan metode fermentasi

secara statis pada suhu ruang. Pengukuran bobot biomassa dilakukan setiap 3 hari, miselium kapang yang tumbuh pada media cair disaring menggunakan kertas saring whatman no 1. Kemudian dikeringkan di dalam oven selama 1 jam dengan suhu 105 °C dan bobot miselium kering kemudian ditimbang. Bobot tersebut ditentukan dengan menghitung selisih antara kertas saring kering dengan kertas saring yang memiliki miselium.



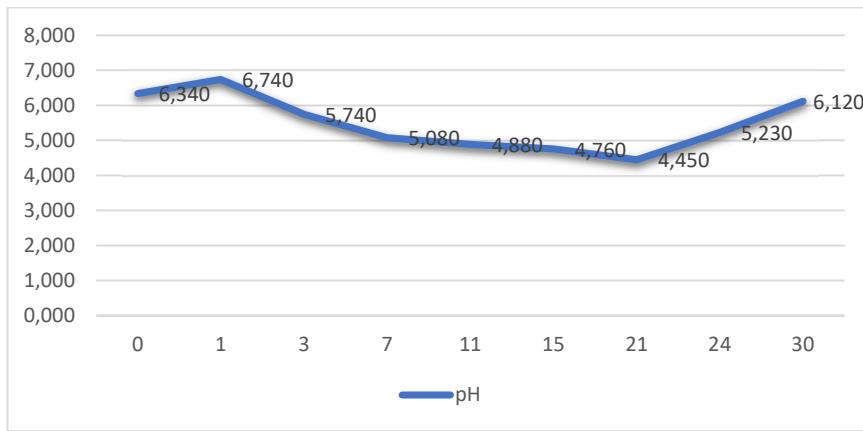
Gambar 4. 3 Hasil pertumbuhan bobot miselium kapang endofit Isolat PLC4

Berdasarkan **Gambar 4.3** hasil kurva pertumbuhan isolat kapang endofit PLC4 dimulai dari hari 0-7 merupakan fase lag. Pada hari ke 11-15 merupakan fase eksponensial (fase log). Pada hari ke 15-21 merupakan fase stasioner dan pada hari ke 21-30 merupakan fase kematian. Isolat PLC4 mengalami fase lag (adaptasi), fase log (eksponensial) pada fase ini terjadi penambahan jumlah sel yang banyak, aktivitas sel yang meningkat sehingga kurva akan menanjak, pada fase stasioner jumlah sel yang bertambah dan yang mati relatif seimbang, sehingga kurva pada fase ini merupakan garis lurus horizontal, banyak senyawa metabolit sekunder yang terbentuk pada fase ini sedangkan fase kematian bentuk kurva mengalami penurunan dikarenakan adanya penurunan jumlah sel yang sudah tidak mengalami pembelahan sehingga jumlah sel yang mati akan lebih banyak dari pada sel yang masih hidup.

4.4 pH Kurva Pertumbuhan Kapang Endofit Isolat PLC4

Nilai pH pada hari ke-0 sebesar 6,34 dan mengalami kenaikan kenaikan nilai pH pada hari ke-1 sebesar 6,74 pada kondisi ini merupakan nilai pH optimum untuk kapang endofit dapat tumbuh namun cenderung menurun pada hari ke- 3 sebesar 5,74

hingga hari ke-21 dengan nilai pH 4,45 yaitu berada pada kondisi asam. Fermentasi dengan waktu yang cukup lama dapat mempengaruhi kondisi pH semakin lama waktu fermentasi maka kadar keasamannya semakin tinggi, sehingga derajat keasaman (pH) pada fermentasi isolat PLC4 semakin meningkat. Dalam proses fermentasi akan dihasilkan asam-asam yang mudah menguap, diantaranya asam laktat, asam asetat, asam formiat, asam butirat dan asam propionat. Asam asam tersebut dihasilkan dari perombakan glukosa dan alkohol (Devindo *et al.*, 2021).



Gambar 4. 4 Hasil pengukuran pH pertumbuhan kapang endofit isolat PLC4

Suhu yang digunakan dalam proses fermentasi akan mempengaruhi mikroba yang berperan dalam proses fermentasi, suhu optimal dalam proses fermentasi yaitu 35°C-40°C. Derajat aerobiosis adalah merupakan faktor utama dalam pengendalian fermentasi, oksigen harus dibatasi oleh karena itu proses fermentasi ditutup menggunakan kapas dan kassa steril agar tercipta suasana fermentasi anaerob (Devindo *et al.*, 2021).

4.5 Hasil Fermentasi Kapang Endofit PLC4

Proses fermentasi dilakukan selama 21 hari dalam kondisi statis dengan menggunakan media air rebusan ubi kayu, proses fermentasi dilakukan secara aseptis dengan cara menginokulasikan kapang endofit isolat PLC4 sebanyak 9 lempeng ke dalam media cair ubi kayu, kemudian diinkubasi selama 21 hari pada suhu ruang. Pada hasil fermentasi akan membentuk miselium berupa lapisan putih diatas permukaan media yang makin lama menebal. Lapisan yang menebal karena adanya penambahan jumlah dan massa sel.



Keterangan :

- a : Lapisan Biomassa
 b : Lapisan Supernatan

Gambar 4. 5 Hasil fermentasi kapang endofit isolat PLC4

Berdasarkan Gambar 4.6 terbentuk dua lapisan yaitu lapisan biomassa dan lapisan supernatan. Lapisan biomassa tumbuh di permukaan media fermentasi dan terdapat hifa pada media. Media fermentasi berubah seiring pertumbuhan kapang endofit isolat PLC4. Hal ini terjadi karena adanya proses metabolisme kapang yang menyebabkan perubahan substrat pada media (Gandjar *et al.*, 2006)

Lapisan supernatan merupakan lapisan yang memisahkan antara komponen seluler atau senyawa larut dari biomassa. Umumnya, supernatan dapat mengandung metabolit sekunder atau senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan dapat dianalisis lebih lanjut untuk berbagai tujuan, seperti pengujian aktivitas antibakteri atau analisis fitokimia lebih lanjut (Sari & Moulina, 2020).

4.6 Ekstraksi Hasil Fermentasi Kapang Endofit PLC4

Hasil fermentasi kapang endofit PLC4 membentuk 2 lapisan yaitu biomassa dan supernatan. Ekstraksi dilakukan bertujuan untuk menarik senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan. Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etil asetat untuk supernatan kemudian di *rotary evaporator* untuk mendapatkan hasil ekstrak kental. Hasil ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4. 1 Ekstrak Etil Asetat PLC4

Isolat Kapang Endofit	Pelarut Etil Asetat (L)	Hasil Ekstrak (g)	Keterangan
PLC4	3	2	Berbentuk cairan berwarna hijau kecoklatan berbau khas

**Gambar 4. 6 Hasil Ekstrak Supernatan Isolat PLC4**

Ekstraksi dilakukan menggunakan bagian supernatan dengan metode ekstraksi cair – cair / *Liquid – liquid extraction* menggunakan corong pisah yang berfungsi untuk memisahkan komponen suatu campuran yang memiliki bobot jenis berbeda agar tidak saling bercampur, dimana zat yang akan diekstraksi adalah metabolit sekunder yang larut dalam fase air dan pelarut etil asetat, pelarut etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semipolar sehingga yang dapat digunakan untuk ekstraksi karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol dan triterpenoid yang dihasilkan oleh isolat PLC4 (Putri *et al.*, 2013) keunggulan metode ekstraksi cair – cair / *Liquid – liquid extraction (LLE)* Pelarut organik yang dipergunakan dapat didaur ulang, sehingga dapat terus digunakan sehingga metode ini bermanfaat ganda (Putranto, 2009).

4.7 Hasil Analisis Metabolit Sekunder secara GC-MS

Berdasarkan penelitian Fikriyyah (2023) telah dilakukan uji skrining fitokimia isolat PLC4 yang di fermentasi pada media ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) dengan kondisi statis dan didapatkan hasil skrining fitokimia

ekstrak menggunakan pelarut etil asetat mengandung senyawa alkaloid, tanin dan steroid/triterpenoid menunjukkan hasil yang positif sedangkan senyawa flavonoid dan saponin menunjukkan hasil yang negatif. Selanjutnya hasil ekstrak supernatan isolat PLC4 dianalisis menggunakan GC-MS bertujuan untuk mengetahui komponen kimia penyusun ekstrak.

Karakterisasi menggunakan instrumen GC-MS yang merupakan gabungan dua instrumen yaitu kromatografi gas yang berfungsi untuk pemisahan komponen-komponen dalam suatu campuran dan spektrofotometri massa yang berfungsi mendeteksi molekul penyusun melalui pengukuran massa. Secara umum mekanisme kerja kedua instrumen yaitu proses pemisahan oleh kromatografi gas menghasilkan puncak – puncak pada kromatogram yang diterima oleh detektor spektrofotometri massa dalam bentuk molekul. Molekul ditembak dengan berkas elektron dari sumber elektron dan diubah menjadi ion – ion bermuatan positif bertenaga tinggi yang kemudian dibelokan, hingga terdeteksi berdasarkan massanya dalam spektrum massa.

Berdasarkan hasil identifikasi GC-MS metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat PLC4 mengacu pada *database NIST Library*, terdapat 17 senyawa pada ekstrak etil asetat. Dari senyawa – senyawa ini dipilih senyawa dengan *quality* (% kemiripan) di atas 90% yang tergolong metabolit sekunder dapat dilihat pada **Tabel 4.2**. Hasil uji analisis GC-MS dapat dilihat pada Lampiran 3.

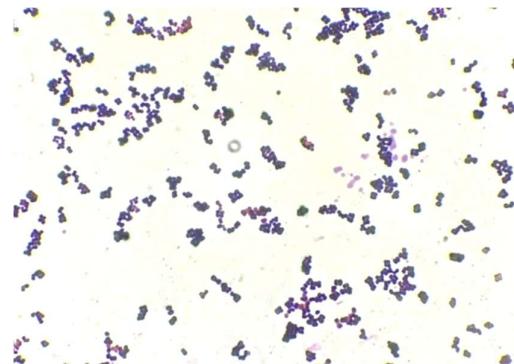
Tabel 4. 2 Data Hasil Analisa GC-MS

No	Waktu Retensi	Per센 Area (%)	Senyawa	Golongan
1.	3,101	7,90	<i>o-Xylene</i>	Hidrokarbon aromatik
2.	3,204	22,28	<i>Ethanol, 2-butoxy</i>	Eter
3.	3,783	1,37	<i>Benzene, 1 ethyl-3-methyl</i>	Toluena
4.	3,893	10,53	<i>Mesitylene</i>	Hidrokarbon aromatik
5.	3,997	3,65	<i>Benzene, 1-ethyl-2 methyl</i>	Toluena
6.	4,169	2,64	<i>Benzene, 1,2,3,-trimethyl</i>	Toluena
7.	4,397	1,67	<i>1,2,4-Triazol-4-amine, N-(2-thienylmethyl)</i>	Toluena
8.	27,793	1,28	<i>Tritetracontane</i>	Asam lemak
9.	33,061	1,88	<i>Tricosane,</i>	Asam lemak
10.	33,564	2,61	<i>Tetracosane</i>	Asam lemak
11.	34,012	1,14	<i>Nonahexanecontanoic acid</i>	Minyak Atsiri
12.	34,171	1,68	<i>Pentacosane</i>	Asam lemak
13.	34,447	1,75	<i>1-Decanol, 2-hexyl</i>	Alkohol Lemak
14.	34,598	3,04	<i>Carbonic acid, eicosyl vinyl ester</i>	Asam ester
15.	34,715	3,88	<i>Bis (2-ethylhexyl) phthalate</i>	Asam ptalat
16.	35,391	2,60	<i>Eicosane</i>	Asam lemak
17.	35,957	1,68	<i>Octacosane</i>	Terpenoid

Berdasarkan Tabel 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak supernatan isolat PLC4 Memiliki 17 senyawa metabolit sekunder dan menunjukkan 3 puncak dengan kelimpahan tertinggi mempunyai persentase area 22,28% yaitu *Ethanol*, 2 *Butoxy* yang menunjukkan sebagai senyawa dominan. Puncak kedua dengan persentase area 10,53% oleh *Mesitylene* dan puncak ketiga dengan persentase area sebesar 7,90 % oleh *O-Xylene*. *O-Xylene* merupakan golongan hidrokarbon aromatik yang secara luas digunakan dalam industri dan teknologi medis sebagai pelarut (Rengganis *et al.*, 2017).

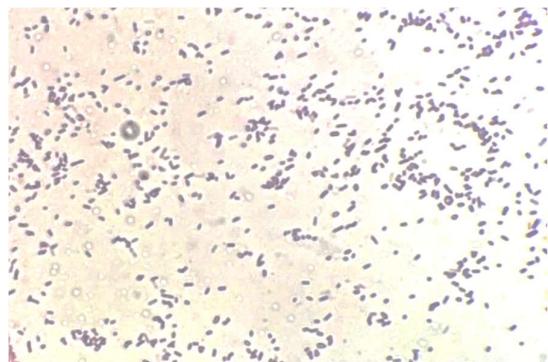
4.8 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Uji

Hasil pewarnaan bakteri dilakukan dengan pewarnaan Gram bakteri dan diamati menggunakan mikroskop. Pewarnaan Gram bakteri bertujuan untuk mengetahui kelompok Gram positif dan Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada **Gambar 4.8**



Gambar 4. 7 Hasil Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus*
(Perbesaran 1000x)

Koloni *Staphylococcus aureus* menunjukkan warna ungu yang menandakan ciri bakteri Gram positif dengan sel berbentuk bulat dan bergerombol seperti susunan buah anggur. Koloni *Escherichia coli* menunjukkan warna merah yang menandakan ciri bakteri Gram negatif, dengan sel berbentuk batang merah atau pink. Hasil pewarnaan Gram *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4. 8 Hasil Pewarnaan Gram *Escherichia coli*
(Perbesaran 1000x)

Pewarnaan Gram merupakan penentuan karakter bakteri berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan negatif. Lapisan dinding sel bakteri Gram positif akan memberikan warna biru atau violet ketika diberikan pewarnaan Gram. Hal ini disebabkan karena bakteri ini mempunyai kandungan lipid yang lebih rendah, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terhidrasi akibat dari perlakuan alkohol. Dinding sel terdehidrasi menyebabkan ukuran pori – pori sel menjadi lebih kecil dan daya permeabilitas berkurang sehingga zat warna biru atau violet kristal yang merupakan zat warna tidak dapat keluar dari sel dan sel akan tetap berwarna biru atau ungu (Hasbi *et al.*, 2024). Berbeda dengan kelompok bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis, akibatnya saat cat utama dibilas dengan alkohol warnanya menjadi hilang dan terikat warna dengan cat tandingan safranin sehingga warnanya menjadi merah muda (Hasbi *et al.*, 2024).

4.9 Hasil Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan ini sebelum dilakukan proses pembuatan sediaan basis sabun cair dilakukan pengujian terhadap 8 sediaan sabun cair komersil untuk penentuan kontrol positif melalui uji antibakteri dengan metode sumuran. Dari ke-8 sampel uji diantara nya sabun Pada uji pendahuluan digunakan beberapa konsentrasi sabun cair ekstrak supernatan isolat PLC4. Konsentrasi yang digunakan adalah 0,5%, 1 %, 2%, 3% dan 6% . Pada pengujian yang dilakukan setelah 1x24 jam pembuatan sabun cair ekstrak supernatan isolat PLC4 dengan variasi konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 3%, dan 6% diperoleh data evaluasi fisik organoleptik yang hampir sama. Sabun cair berupa basis yang diperoleh

berwarna putih dengan gambaran viskositas sangat cair sebagai kontrol negatif tanpa pemberian pewarna. sedangkan sabun cair dengan variasi konsentrasi ekstrak 0,5%, 1%, 2%, 3% dan 6% memiliki organoleptik sangat cair dengan bau khas isolat kapang endofit PLC4 memberikan warna khas coklat muda hingga coklat tua.

Tabel 4. 3. Hasil Organoleptik Pendahuluan

Sampel	Bentuk	Bau	Warna
F0	Terbentuk basis sabun cair sangat encer,	Khas basis sabun	Putih susu
F1	Terbentuk sabun cair, sangat encer	Khas Isolat PLC 4	Coklat muda
F2	Terbentuk sabun cair, sangat encer	Khas Isolat PLC4	Coklat tua
F3	Terbentuk sabun cair, sangat encer	Khas Isolat PLC4	Coklat tua pekat
F4	Terbentuk sabun cair, sangat encer	Khas Isolat PLC4 pekat	Coklat tua pekat
F5	Terbentuk sabun cair, sangat encer	Khas Isolat PLC4 pekat	Coklat tua pekat
C+	Sabun cair, kental	Khas Sabun Dettol	Orange

Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (sabun dengan penambahan ekstrak 0,5%), F2 (Sabun dengan penambahan ekstrak 1%), F3 (sabun dengan penambahan ekstrak 2%), F4 (sabun dengan penambahan ekstrak 3%), F5 (sabun dengan penambahan ekstrak 6%), C+ (kontrol positif dettol)

Tujuan pendahuluan ini adalah untuk menentukan konsentrasi manakah yang digunakan dan mengetahui konsentrasi manakah yang memberikan daya hambat secara optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Setelah dilakukan uji pendahuluan menggunakan metode difusi sumuran pada konsentrasi ekstrak 0,5%, 1%, 2%, 3% dan 6% yang dilakukan secara duplo dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4. 4. Hasil Uji Pendahuan

Sampel	Hasil Pengukuran DDH (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
F0	$8,81 \pm 0,318$	$8,14 \pm 0,374$
F1	$6,18 \pm 1,456$	$7,59 \pm 1,909$
F2	$9,84 \pm 0,268$	$5,77 \pm 2,199$
F3	$10,68 \pm 0,212$	$5,77 \pm 2,043$
F4	$20,31 \pm 0,042$	$15,05 \pm 0,551$
F5	$22,31 \pm 0,183$	$17,65 \pm 1,26$
C+	$12,42 \pm 0,473$	$11,66 \pm 0,31$

Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (sabun dengan penambahan ekstrak 0,5%), F2 (Sabun dengan penambahan ekstrak 1%), F3 (sabun dengan penambahan ekstrak 2%), F4 (sabun dengan penambahan ekstrak 3%), F5 (sabun dengan penambahan ekstrak 6%), C+ (kontrol positif dettol)

Berdasarkan data statistik uji signifikansi antar variabel F0 sampai F5 diperoleh nilai sigfinikansi F0 – F3 tidak signifikan karena nilai ($P>0,05$) sedangkan F4 dan F5 dikatakan signifikan karena nilai ($P<0,05$) sehingga F4 dan F5 digunakan sebagai uji lanjutan formula.

Adapun dalam tahap uji lanjutan terhadap kedua formula perlu ditambahkan sejumlah *fragrance* dikarenakan semakin tinggi nilai konsentrasi ekstrak maka akan semakin memberikan aroma ekstrak yang sangat kuat, sehingga membuat aroma sabun tidak dapat diterima oleh pengguna.

4.10 Formulasi Sediaan Sabun Cair Isolat PLC4

Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan penelitian ini memiliki bahan aktif ekstrak isolat PLC4 sebagai gen antibakteri pada formula sabun cair yang dihasilkan dari hasil fermentasi dengan pemanfaatan media ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz). Selama 21 hari. Selanjutnya hasil fermentasi dilakukan proses penyaringan dan ekstraksi menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat.

Pada penelitian ini, bahan – bahan dasar untuk membuat sediaan sabun cair berupa surfaktan primer dan sekunder, serta bahan aditif lainnya. Surfaktan

merupakan bahan utama dalam pembuatan sabun cair yang berfungsi sebagai deterensi dan pembersihan kulit. Surfaktan yang dipilih untuk pembuatan sediaan sabun cair ini adalah *Sodium Cocoyl Isethionate* (SCI). SCI merupakan contoh surfaktan anionik yang umum digunakan pada produk kulit dan rambut serta memiliki manfaat membersihkan dengan lembut tanpa iritasi. Surfaktan anionik memiliki kapasitas pembersihan tertinggi di antara jenis surfaktan yang lain, tetapi secara umum dianggap sebagai bahan pengiri tasi yang kuat pada kulit. Oleh karena itu surfaktan anionik sering dikombinasikan dengan surfaktan amfoterik yang dikenal sebagai surfaktan sekunder (Anggraini *et al.*, 2024). Dalam penelitian ini SCI dikombinasikan dengan surfaktan sekunder berupa *cocamidopropyl betaine* (CAPB) yang bersifat amfoterik dan cocamide DEA yang bersifat nonionik dengan tujuan untuk meningkatkan kombatibilitas SCI terhadap kulit sekaligus untuk meningkatkan busa dengan daya deterjensi yang lebih baik. Selain itu, surfaktan amfoterik umumnya digunakan sebagai penstabil busa (Barel *et al.*, 2001).

Bahan aditif yang digunakan diantaranya *Triethanolamine* (TEA) yang digunakan sebagai *buffer* dan *Citric acid* yang digunakan sebagai pengatur pH dalam kondisi asam untuk mendapatkan nilai pH sesuai dengan yang dipersyaratkan oleh SNI yaitu 4,0 – 10,0 (SNI, 2017). Dalam penelitian ini *Sodium chloride* (NaCl) digunakan sebagai agen pengental karena berpengaruh terhadap viskositas sabun cair yang akan dihasilkan, semakin tinggi konsentrasi NaCl yang digunakan, maka viskositas sabun cair akan cenderung meningkat juga (Sriwulan *et al.*, 2023).

Bahan aditif selanjutnya yang perlu ditambahkan adalah *DMDM hydantoin* humektan atau agen pembasah. Humektan dibutuhkan untuk mengikat air dari udara yang lembab sekaligus mempertahankan kandungan air dalam sediaan sehingga sifat fisik dan stabilitas sediaan selama penyimpanan dapat dipertahankan (Sriwulan *et al.*, 2023). Selain itu, secara tidak langsung humektan juga mampu mempertahankan kelembapan kulit karena penggunaan surfaktan dapat membuat lapisan kulit terangkat dan membuat kulit kering (Kautsari *et al.*, 2023).

Glyceryl stearate merupakan senyawa kimia yang umum digunakan dalam formulasi kosmetik sebagai bahan tambahan yang dapat melembabkan karena

merupakan pengemulsi alami yang berasal dari gliserin nabati dan asam stearate. Dalam produk sabun cair digunakan sebagai penstabil campuran atau emulsifier (Sriwulan *et al.*, 2023).

Dalam penelitian ini terdapat 3 formula dengan 2 formula ditambahkan konsentrasi ekstrak sebesar 3% dan 6% sedangkan 1 formula digunakan sebagai kontrol negatif pengujian. Dari ketiga formula tersebut, dilakukan evaluasi stabilitas fisik sediaan dan dilakukan uji mutu fisik sediaan berdasarkan standar mutu SNI 2588-2017. Evaluasi stabilitas sediaan bertujuan untuk mengetahui kualitas sabun cair isolat PLC4 setelah proses pembuatan. Dari hasil evaluasi stabilitas sediaan dapat dipilih konsentrasi ekstrak yang menghasilkan sediaan terbaik dalam memberikan sifat fisika kimia sabun cair. Selanjutnya dilakukan uji antibakteri terhadap sediaan sabun cair isolat PLC4 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang umum terdapat pada lingkungan.

4.11 Uji Stabilitas Fisik Sabun Ekstrak Isolat PLC4

Pemeriksaan stabilitas sabun cair dilakukan secara *cycling test* menggunakan metode *freeze and thaw* yang bertujuan untuk mengetahui stabilitas fisik sabun cair apakah terjadi pemisahan fase selama proses penyimpanan pada perubahan suhu ekstrem. Hasil uji *cycling test* sabun cair dijelaskan sebagai berikut:

1) Hasil Uji Organoleptik *Cycling test*

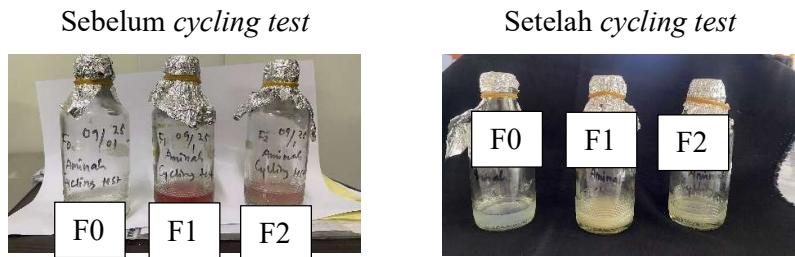
Pemeriksaan organoleptik bertujuan untuk mengetahui stabilitas fisik pada bentuk, warna dan bau sabun setelah dilakukan *cycling test* (Kemenkes, 2020). gambar sabun cair sebelum dan setelah dilakukannya *cycling test* dapat dilihat pada Gambar. Hasil Pemeriksaan uji organoleptik sabun cair dapat dilihat pada **Tabel 4.5**.

Tabel 4. 5 Hasil Uji Organoleptik Selama *Cycling test*

Parameter	Sampel	Sebelum <i>Cycling test</i>	Setelah <i>Cycling test</i>
Bentuk	F0	Cair	Cair
	F1	Cair	Cair
	F2	Cair	Cair
Bau	F0	Khas	Khas
	F1	Khas	Khas

	F2	Khas	Khas
Warna	F0	Putih susu	Bening
	F1	Merah muda pekat	Coklat keruh
	F2	Merah muda keruh	Coklat bening

Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (Sabun dengan konsentrasi 3%), F2 (Sabun dengan konsentrasi 6%)



Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (Sabun dengan konsentrasi 3%), F2 (Sabun dengan konsentrasi 6%)

Gambar 4.9 Sediaan sabun mandi cair sebelum dan setelah dilakukannya *Cycling test*

Berdasarkan hasil pengamatan organoleptik yang tertera pada **Tabel 4.5** terjadi perbedaan F0 dengan F1 dan F2, dimana F0 menghasilkan sabun yang berbentuk cair, berwarna transparan, dan berbau khas. Sedangkan F1 menghasilkan sabun yang berbentuk cair dan mengalami perubahan warna dari merah muda pekat menjadi coklat yang merupakan warna dasar isolat PLC4 sedangkan pada F2 juga menghasilkan sabun berbentuk cair dengan mengalami perubahan warna dari merah muda keruh menjadi coklat bening mengikuti warna asal dari kapang endofit isolat PLC4. Yang artinya ketiga sabun tersebut tidak stabil karena mengalami perubahan warna sabun cair saat penyimpanan.

2) Pemeriksaan pH *Cycling test*

Pemeriksaan uji pH sabun cair setelah *Cycling test* dilakukan untuk mengetahui pengaruh bahan-bahan yang digunakan dalam formula sabun cair terhadap kestabilan sabun cair yang sesuai dengan persyaratan (Widya Kautsari *et al.*, 2023).

Tabel 4. 6 Hasil Uji pH Sabun Cair Setelah *Cycling test*

Sampel	Rata – rata uji nilai pH		Syarat
	Sebelum <i>Cycling test</i>	Setelah <i>Cycling test</i>	
F0	8,97±0,115	8,7±0,163	Berdasarkan SNI 2017 syarat pH sabun diantara 4,0 – 10,0
F1	8,93±0,098	8,58±0,060	
F2	8,89±0,066	8,36±0,124	
C+	8,93±0,068	8,88±0,100	

Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (Sabun dengan konsentrasi 3%), F2 (Sabun dengan konsentrasi 6%)

Berdasarkan Tabel 4.6 Hasil pengukuran nilai pH yang didapatkan dari ketiga sabun sebelum dan sesudah dilakukannya *cycling test* mengalami penurunan nilai pH hal ini dapat disebabkan karena surfaktan mengalami hidrolisis. Beberapa jenis surfaktan seperti surfaktan non-ionik atau yang berbasis ester dapat mengalami hidrolisis pada suhu tinggi atau fluktuasi suhu (Sriwulan *et al.*, 2023). Reaksi hidrolisis dapat menghasilkan senyawa asam, seperti asam lemak bebas yang dapat menurunkan nilai pH selama proses *cycling test*. Namun hasil perubahan tersebut masih sesuai dengan persyaratan pH, yaitu dalam rentang 4,0 – 10,0 (SNI, 2017).

3) Hasil Uji Homogenitas *Cycling test*

Pemeriksaan uji homogenitas sabun mandi cair setelah *cycling test* dilakukan untuk mengetahui bahan yang terdapat dalam susunan sabun cair terdispersi merata. Sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat butiran-butiran kasar (Widya Kautsari *et al.*, 2023).

Tabel 4. 7 Hasil Uji Homogenitas Setelah *Cycling test*

Sampel	Uji Homogenitas	
	Sebelum <i>Cycling test</i> (Hari ke 0)	Setelah <i>Cycling test</i> (Hari ke 12)
F0	Homogen	Homogen
F1	Homogen	Homogen
F2	Homogen	Homogen

Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (Sabun dengan konsentrasi 3%), F2 (Sabun dengan konsentrasi 6%).

Hasil uji homogenitas setelah *cycling test* selama 6 siklus, ketiga formula sabun cair memenuhi persyaratan uji homogenitas karena menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butir – butir kasar (Kautsari *et al.*, 2023).

4) Hasil Uji Tinggi Busa dan Stabilitas Busa *Cycling test*

Pengukuran tinggi dan stabilitas busa pada sabun mandi cair bertujuan untuk mengetahui kemampuan sabun mandi cair menghasilkan busa ketika dilakukan pengocokan serta stabilitas busa yang dihasilkan (Kautsari *et al.*, 2023). Perhitungan serta gambar pengujian tinggi busa dan stabilitas busa sabun mandi cair dapat dilihat pada Lampiran 5. serta hasil pemeriksaan uji tinggi busa dan stabilitas busa dapat dilihat pada Tabel. 4.8.

Tabel 4. 8. Hasil Uji Tinggi dan Stabilitas Busa Sabun cair

Sampel	Rata -rata tinggi busa (cm)				Syarat	
	Sebelum <i>Cycling test</i> (hari ke 0)		Setelah <i>Cycling test</i> (hari ke 12)			
	0 menit	5 menit	0 menit	5 menit		
F0	10,9±0,793	9,5±0,896	9,1±0,208	7,2±0,251	Berdasarkan (SNI, 1996) syarat tinggi busa sabun yang baik yaitu 1,3 – 22 cm.	
F1	11,1±0,964	9,9±0,814	9,2±0,200	7,6±0,200		
F2	11,4±0,404	10,0±0,776	9,2±0,152	7,8±0,300		
C+	12,7±1,939	10,7±1,078	13,4±1,069	10,7±1,078		

Keterangan : Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (sabun dengan penambahan ekstrak 0,5%), F2 (Sabun dengan penambahan ekstrak 1%), C+ (kontrol positif dettol)

Tabel 4. 9. Hasil Uji Stabilitas Tinggi Busa Sabun

Sampel	Rata – rata Stabilitas Tinggi Busa (%)		Syarat
	Sebelum <i>Cycling test</i> (Hari ke 0)	Setelah <i>Cycling test</i> (Hari ke 12)	
F0	87,37±2,610	79,54±1,010	Berdasarkan SNI 1996 syarat stabilitas tinggi busa yang baik yaitu diatas 70%
F1	89,51±0,511	82,66±3,975	
F2	87,95±3,785	84,52±4,620	
C+	84,71±18,62	80,20±12,25	

Keterangan : Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (sabun dengan penambahan ekstrak 0,5%), F2 (Sabun dengan penambahan ekstrak 1%), C+ (kontrol positif dettol)

Berdasarkan Tabel 4.8 dan Tabel 4.9 Hasil pengukuran nilai tinggi busa dan stabilitas busa yang didapatkan dari ketiga sabun sebelum dan sesudah dilakukannya *cycling test* mengalami penurunan nilai tinggi busa hal ini dapat disebabkan karena surfaktan mengalami degradasi karena adanya perubahan suhu dan tekanan selama proses *cycling test* yang menyebabkan perubahan struktur surfaktan. Namun hasil perubahan tersebut masih sesuai dengan persyaratan tinggi busa sabun yang baik yaitu 1,3 – 22 cm (SNI, 1996). Hal ini juga berpengaruh pada persentase stabilitas busa yang dihasilkan selama proses *cycling test* namun masih dalam rentang persyaratan yaitu stabilitas busa yang baik diatas 70% sehingga seluruh sampel uji dinyatakan memenuhi syarat sesuai dengan SNI 1996.

5) Hasil Uji Bobot Jenis *Cycling test*

Bobot jenis merupakan perbandingan relatif antara massa jenis suatu zat dengan massa jenis air murni pada volume dan suhu yang sama (SNI, 1996) Pengukuran bobot jenis bertujuan untuk menentukan mutu dan melihat kemurnian dari suatu senyawa. Hasil pengujian bobot jenis selama *cycling test* dapat dilihat pada Tabel 4.10.

Tabel 4. 10. Hasil Uji Bobot Jenis *Cycling test*

Sampel	Rata – rata bobot jenis (g/ml)		Syarat
	Sebelum <i>Cycling test</i> (Hari ke 0)	Setelah <i>Cycling test</i> (Hari ke 12)	
F0	1,017±0,001	1,067±0,025	
F1	1,019±0,004	1,029±0,012	
F2	1,018±0,002	1,025±0,011	
C+	1,102±0,003	1,103±0,013	Menurut (SNI, 1996) rentang bobot jenis sabun cair yang baik adalah 1.01 – 1.1 g/ml

Keterangan : Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (sabun dengan penambahan ekstrak 0,5%), F2 (Sabun dengan penambahan ekstrak 1%), C+ (kontrol positif dettol).

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai rata-rata bobot jenis sebelum *cycling test* untuk sediaan F0 dengan nilai rata-rata 1,017 g/ml, sediaan F1 dengan nilai rata-rata 1,019 g/ml, F2 dengan nilai rata-rata 1,018 g/ml. dan C+ dengan nilai rata – rata 1,102 sedangkan setelah dilakukan *cycling test* cenderung mengalami kenaikan bobot jenis yaitu untuk F0 sebesar 1,067 g/ml, F1 sebesar 1,029 g/ml, F2 sebesar 1,025 g/ml dan C+ sebesar 1,103 g/ml karena adanya perubahan suhu dan tekanan selama proses *cycling test* sehingga menyebabkan adanya penyerapan uap air (higroskopisitas) terhadap surfaktan (Septiana *et al.*, 2016) Menurut SNI (1996) rentang bobot jenis sabun cair yang baik adalah 1.01 – 1.1 g/ml. dengan demikian, bobot jenis sabun cair pada penelitian ini telah memenuhi syarat sesuai dengan standar dan diharapkan dapat mudah dibersihkan dengan air mengalir karena memiliki bobot jenis yang mendekati bobot jenis air.

6) Hasil Uji Viskositas *Cycling test*

Pengujian Viskositas dilakukan bertujuan untuk mengetahui konsistensi sediaan yang dihasilkan apakah stabil dan sesuai dengan persyaratan atau tidak (Widya Kautsari *et al.*, 2023). Hasil pemeriksaan uji viskositas sabun cair dapat dilihat pada Tabel 4.11

Tabel 4. 11 Hasil Uji Viskositas

Sampel	Rata – rata nilai viskositas (cPs)		Syarat
	Sebelum <i>Cycling test</i> (Hari ke 0)	Setelah <i>Cycling test</i> (Hari ke 12)	
F0	454,67±1,154	111,67±1,154	Berdasarkan SNI
F1	456,00±1,732	222,34±2,309	1966 syarat nilai
F2	494,34±2,309	250,67±1,154	viskositas
C+	12,539±1,154	12,492±0,577	diantara 500 – 20000 cP.

Keterangan : Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (sabun dengan penambahan ekstrak 0,5%), F2 (Sabun dengan penambahan ekstrak 1%), C+ (kontrol positif dettol).

Berdasarkan Tabel 4.11 terjadi penurunan nilai viskositas pada keadaan sebelum *cycling test* dan sesudah *cycling test*. hal ini dapat disebabkan karena adanya pengaruh suhu dan waktu selama penyimpanan yang menyebabkan formula uji kemungkinan mengalami degradasi atau perubahan struktur selama penyimpanan surfaktan (Kautsari *et al.*, 2023), adapun komposisi bahan yang digunakan pada kontrol positif mengandung surfaktan atau bahan tambahan yang berfungsi sebagai pengental dan stabilisator sedangkan pada tiap formula uji hanya menggunakan formula dasar yang memiliki komposisi yang lebih sederhana sehingga viskositasnya lebih rendah.

Berdasarkan hasil pemeriksaan uji viskositas dapat disimpulkan bahwa formula uji tidak memenuhi syarat karena tidak berada dalam rentang persyaratan yakni diantara 500 - 20000 cPs (SNI, 1996). sedangkan kontrol positif memenuhi syarat karena berada dalam rentang persyaratan.

4.12 Uji Mutu Fisik Sabun Ekstrak Isolat PLC4 Berdasarkan SNI

Telah dilakukan uji mutu berdasarkan SNI 2588-2017 dapat dilihat pada Tabel 4.12

Tabel 4. 12 Hasil Uji Evaluasi Berdasarkan SNI 2588-2017

No	Parameter	Syarat	Hasil		
			F0	F1	F2
1.	pH	4,0 – 10,0	8,50	8,80	8,97
2.	Uji Total Bahan Aktif	Min. 10	13,48	11,67	10,80
3.	Alkali Bebas (dihitung sebagai Ethanol)	Max 0,5	0,24	0,02	0,41
4.	Alkali Bebas (dihitung sebagai NaOH)	Max. 0,05	0,02	0,01	0,03
5.	Asam Lemak Bebas (dihitung sebagai asam oleat)	Max 0,05	0,93	0,54	0,85
6.	Angka Lempeng Total (ALT)	Max 1×10^3	N/A	N/A	N/A

Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (Sabun dengan konsentrasi 3%), F2 (Sabun dengan konsentrasi 6%).

Hasil uji evaluasi mutu sabun berdasarkan SNI 2588-2017 dari ketiga formulasi yang terdiri dari formula 0-2 telah memenuhi persyaratan yang berlaku.

1) pH

Derajat keasaman atau nilai pH merupakan parameter yang sangat penting bagi uji mutu sabun cair. Dari hasil uji evaluasi pengujian menggunakan pH meter didapatkan hasil pH relatif mengalami kenaikan tiap formula, ini dikarenakan formula uji mengandung ekstrak, namun berdasarkan nilai pH yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa sabun cair memenuhi syarat berdasarkan SNI 2588-2017 karena masuk ke dalam rentang nilai pH sebesar 4,0 – 10,0 (SNI, 2017).

2) Uji Total Bahan Aktif

Pengujian total bahan aktif adalah pengujian terhadap bahan yang larut dalam etanol dikurangi dengan bahan yang larut dalam petroleum

eter. Bahan aktif seperti surfaktan anionik, ionik, kationik, dan amfoterik, maupun bahan selain bahan aktif selain bahan organik yang tidak bereaksi seperti seperti parfum, lemak, alkanomida, asam lemak bebas dan wax dapat larut dalam etanol. Bahan selain bahan aktif dapat terlarut juga dalam petroleum eter (SNI, 2017). Bahan aktif yang diukur adalah jumlah senyawa dalam sabun yang tidak tersabunkan. Syarat % fraksi massa total bahan aktif sesuai dengan SNI 2017 adalah minimal 10%. Dapat dilihat pada Tabel 4.12 bahwa formula F0, F1 dan F2 sesuai dengan spesifikasi SNI 2017 karena % fraksi massa total bahan aktif lebih dari 10%. Tinggi nya bahan larut dalam etanol menunjukkan bahwa jumlah bahan aktif bersifat polar yang terlarut lebih banyak. Selain itu, kelarutan yang tinggi antara sabun yang mengandung bahan aktif ekstrak supernatan isolat PLC4 dalam pelarut etil asetat dapat terjadi karena sifatnya menjadi lebih polar. Selanjutnya yaitu hasil kelarutan bahan dalam petroleum eter yang merupakan pelarut non polar sehingga dapat melarutkan bahan-bahan dalam sabun yang tidak ikut bereaksi seperti asam lemak bebas, lemak alkanolamida, wax parfum dan sebagainya (SNI, 2017).

Dapat diamati berdasarkan Tabel 4.12 F0 memiliki kadar total bahan aktif tertinggi sebesar 13,48 dan F2 memiliki kadar total bahan aktif terendah sebesar 10,80. Artinya, F0 memiliki lebih banyak kandungan senyawa aktif yang larut etanol dan senyawa yang tidak tersabunkan dibandingkan dengan F2.

3) Uji Bahan Aktif Tidak Larut Etanol

Pengujian bahan yang tidak larut etanol memiliki prinsip pelarutan sabun dalam etanol, penyaringan, dan penimbangan residu yang tidak larut (SNI, 2017) Pengujian bahan tak larut dalam etanol dilakukan untuk mengetahui jumlah bahan tak larut dalam etanol yang terdapat dalam sabun tersebut. Adanya kandungan bahan tak larut ini disebabkan oleh perbedaan kepolaran antara bahan yang sifatnya non polar dengan etanol yang bersifat polar (Fanani *et al.*, 2020).

Tujuan lainnya adalah untuk melihat seberapa banyak lemak sebagai bahan yang tak larut dalam etanol, karena etanol dan lemak memiliki kepolaran yang berbeda dan etanol larut dalam air karena memiliki kepolaran yang sama sehingga jika kadar bahan yang tak larut dalam etanol tinggi maka tinggi pula kadar lemak yang ada pada sabun begitupun sebaliknya

Dapat diamati pada Tabel 4.12 bahwa ketiga formula sesuai dengan syarat SNI 2017 karena kadar bahan tidak larut etanol tidak lebih dari 0,5 % fraksi massa. Namun F0 dan F2 memiliki nilai % fraksi massa lebih besar dibandingkan dengan F1, hal ini kemungkinan dapat disebabkan karena proses pembuatan beberapa bahan yang kurang larut pada etanol bahkan praktis tidak larut. Salah satunya bahan NaCl NaCl sukar larut dalam etanol dan *Cocamide DEA* yang larut dalam sebagian etanol (Rowe *et al.*, 2009). Sehingga pada proses filtrasi bahan-bahan ini dapat tertahan pada kertas saring. Bobot kertas saring akan meningkat, sehingga % fraksi massa bahan aktif tidak larut etanol memiliki nilai yang tinggi (Fanani *et al.*, 2020).

4) Alkali bebas dan Asam Lemak bebas

Sabun dapat dinyatakan mengandung kadar alkali bebas apabila pada saat larutan sabun didalam etanol netral ditambahkan phenolptalein warnanya berubah menjadi merah muda, namun apabila larutan tidak berubah menjadi warna merah muda maka yang dilakukan adalah uji kadar asam lemak bebas yang dihitung sebagai asam oleat.

Asam lemak bebas merupakan asam yang tidak terikat sebagai senyawa dengan natrium ataupun trigliserida (lemak netral). Kadar asam lemak tidak boleh tinggi karena akan memicu ketengikan sehingga mengurangi umur simpan sabun. Adanya asam lemak bebas didalam sabun dapat mengurangi daya ikat sabun terhadap kotoran minyak, lemak ataupun keringat (Fanani *et al.*, 2020).

Berdasarkan Tabel 4.12 hasil uji alkali bebas pada sediaan sabun cair didapatkan hasil yaitu, F0 0,02%, F1 0,01% dan F2 0,03% memenuhi

syarat mutu SNI 2017 tidak lebih dari 0,05%, sedangkan pada uji alkali asam lemak diperoleh hasil pada F0 0,93%, F1 0,54% dan F2 0,85% sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua uji memenuhi syarat sesuai SNI 2017 karena nilai tidak lebih dari 0,05% (SNI, 2017).

5) Angka Lempeng Total

Angka Lempeng Total (ALT) merupakan salah satu cara untuk menentukan jumlah mikroorganisme dalam sampel secara tidak langsung. Metode ALT lebih akurat dibandingkan dengan cara langsung melalui pengamatan di bawah mikroskop. Metode ALT berdasarkan anggapan bahwa setiap sel yang hidup akan berkembang menjadi satu koloni yang muncul pada cawan dan merupakan indeks bagi mikroorganisme dalam sampel dapat hidup.

Angka lempeng total (ALT) merupakan angka yang menunjukkan jumlah bakteri mesofil dalam tiap-tiap 1 mL atau 1 g sampel yang diperiksa. Prinsip dari ALT adalah menghitung pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel ditanamkan pada lempeng media yang sesuai dengan cara tuang kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 35-37 °C.

Dapat diamati pada Tabel 4.12 bahwa seluruh formula telah dilakukan uji ALT yang dilakukan secara triplo didapatkan hasil N/A (*Not Applicable*) tidak terdeteksi sehingga dapat disimpulkan bahwa formula menunjukkan keadaan higienis sehingga memenuhi syarat sesuai dengan SNI 2017 yaitu tidak lebih dari 1×10^3 (SNI, 2017).

4.13 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji Aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui apakah sabun cair ekstrak supernatan isolat PLC4 sebesar 3% dan 6% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Pada perlakuan uji antibakteri formulasi sabun cair dilakukan dengan 4 kelompok perlakuan. Kontrol positif sabun dettol, kontrol negatif basis sabun cair, formula 1 konsentrasi 3% dan formula 2 konsentrasi 6%.c

Tabel 4. 13. Hasil Uji Antibakteri Sabun Cair Isolat PLC4

Sampel	Rata – rata daya hambat (mm)			
	Sebelum <i>Cycling test</i>		Setelah <i>Cycling test</i>	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
F0	11,65±3,20	12,03±2,37	10,55±2,45	9,75±1,26
F1	12,20±2,32	14,64±3,02	12,25±2,15	11,12±1,53
F2	14,34±3,71	18,87±5,77	14,95±2,45	13,00±1,63
C+	14,09±2,30	17,74±4,80	12,40±2,05	10,63±0,65

Keterangan : Keterangan : F0 (Basis sabun tanpa ekstrak), F1 (sabun dengan penambahan ekstrak 0,5%), F2 (Sabun dengan penambahan ekstrak 1%), C+ (kontrol positif dettol).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumuran. Cawan petri berisi agen bakteri diletakkan pada media agar tersebut. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dari daerah bening yang 3 mengelilingi piringan tersebut. Metode ini dilakukan dengan cara zat antibakteri dituang ke dalam lubang sumuran yang telah dibuat (Saptowo *et al.*, 2022).

Menurut Masykuroh & Puspasari (2022) kekuatan antibakteri terbagi menjadi empat kategori yaitu daya hambat lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm) dan sangat kuat (>20 mm). Dalam penelitian ini dilakukan pengujian daya hambat sebelum dan sesudah *cycling test* untuk melihat perbandingan daya hambat yang dihasilkan. Berdasarkan Tabel 4.12 pada keadaan sebelum *cycling test* bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki nilai rata – rata daya hambat lebih rendah dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli* dan termasuk kedalam kategori kuat. Sedangkan pada keadaaan setelah *cycling test* mengalami penurunan nilai daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh suhu dan tekanan selama proses *cycling test* sehingga menyebabkan adanya penurunan degradasi oksidatif pada rantai polimer surfaktan yang menyebabkan penurunan daya antibakteri (Sriwulan *et al.*, 2023). Adapun nilai daya hambat antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* lebih rendah dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dikarenakan *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri Gram negatif sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dimana memiliki struktur dinding sel yang berbeda dapat berperan sebagai sensitivitas bakteri agen antibakteri (Lestari *et al.*, 2020).

Escherichia coli sebagai bakteri Gram negatif, memiliki dinding sel yang lebih kompleks dan berlapis-lapis, terdiri dari lipoprotein, lipopolisakarida, dan lapisan peptidoglikan struktur multilapis ini membuat senyawa antibakteri lebih sulit menembus sel. lapisan luar lipopolisakarida pada *E. coli* berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif antibakteri (Suryani & Taupiqurrahman, 2021). *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram positif, memiliki dinding sel yang relatif lebih sederhana dengan lapisan peptidoglikan yang tebal dan sedikit lipid. Dinding sel *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida/asam teikoat yang bersifat polar dan larut dalam udara, memfasilitasi transpor ion positif dan membuat dinding sel lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri. Perbedaan struktur dinding sel ini menyebabkan *Escherichia coli* lebih resisten terhadap beberapa senyawa antibakteri dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* (Prayitno & Hidayati, 2017).

Pada F0 sebagai kontrol negatif memiliki nilai daya hambat dikarenakan kandungan sabun cair mengandung surfaktan primer dan surfaktan sekunder. Surfaktan dapat memberikan nilai daya antibakteri karena sifat fisikokimia yang mempengaruhi membran sel bakteri. Surfaktan dapat berinteraksi dengan membran sel mikroorganisme karena memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik. Adsorpsi surfaktan pada membran sel dapat meningkatkan fluiditas membran, menyebabkan membran tersebut pecah dan mengakibatkan kematian mikroorganisme (Septiana *et al.*, 2016).

Kontrol positif mengandung zat aktif *sodium lauryl sulfat* dan *cocoamidopryl betaine* yang berperan sebagai surfaktan, *sodium lauryl sulfat* dapat merusak membran sel bakteri dengan mengganggu lipid bilayer. Kerusakan ini menyebabkan kebocoran komponen intraseluler, yang berakhir pada kematian sel (Tivani *et al.*, 2021) sedangkan *cocoamidopryl betaine* dapat berinteraksi dengan membran sel bakteri, mengubah permeabilitasnya. Ini memungkinkan komponen penting di dalam sel keluar yang dapat menyebabkan kematian sel. Ketika digunakan bersama dengan *sodium lauryl sulfat* maka dapat meningkatkan efektivitas antibakteri melalui efek sinergis,

dimana kedua surfaktan bekerja merusak membran sel secara lebih efektif (Lestari *et al.*, 2020).

Berdasarkan data statistik terdapat perbedaan yang signifikan pada daya hambat bakteri *Escherichia coli* sebelum dan sesudah *cycling test* dengan nilai signifikansi 0,002 ($P<0,05$). Sedangkan daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki perbedaan yang tidak signifikan dengan nilai signifikansi 0,485 ($P>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa suhu dan tekanan selama proses *cycling test* dapat berpengaruh terhadap nilai daya hambat antibakteri yang dihasilkan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi sabun dapat memberikan nilai daya hambat yang kuat. Namun dapat menurunkan nilai daya hambat setelah dilakukan proses *cycling test* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

BAB V **KESIMPULAN**

5.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil penelitian menggunakan GC-MS yang dilakukan pada ekstrak supernatan isolat PLC4 yang difermentasi menggunakan media ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) selama 21 hari diperoleh 17 senyawa metabolit sekunder diantaranya Hidrokarbon aromatik, Eter, Asam Lemak, Minyak Atsiri, Alkohol Lemak, Asam Ptalat, Asam Ester dan Terpenoid. dan berdasarkan hasil pengujian didapatkan 3 senyawa metabolit sekunder yang memiliki persen area tertinggi yaitu *Ethanol*, *2-butoxy* sebesar 22,28%, *Mesitylene* sebesar 10,53 % dan *o-Xylene* sebesar 7,90 %.
2. Sediaan sabun cair ekstrak supernatan isolat PLC4 dibuat dengan metode *hot process* dengan formula berupa *Sodium Cocoyl Isethionate*, *Cocamide DEA*, *Cocamidopropyl betaine*, *Triethanolamine*, *Sodium Chloride*, *DMMD hydantoin*, *Citric acid*, *Glyceryl stearate* dan *Aquades* dengan penambahan konsentrasi ekstrak sebesar 3% dan 6%.
3. Berdasarkan hasil pengujian antibakteri sediaan sabun cair ekstrak supernatan isolat PLC4 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh
4. Berdasarkan evaluasi stabilitas mutu dan mutu sediaan berdasarkan SNI 2017 terhadap ketiga formula uji maka dapat disimpulkan bahwa seluruh formula uji telah sesuai dengan standar SNI 2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Angelica Pitoy, N., Yudistira, A., & Wewengkang, D. (2019). Uji Antimikroba Ekstrak Dan Fraksi Tunikata Didemnum Molle Terhadap Pertumbuhan Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Dan Candida albicans Yang Dikoleksi Di Selat Lembeh Bitung. *Pharmacon* , 8(2), 275–283.
- Anggraini, S. I., Sholih, M. G., & Zahra, A. A. (2024). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Cleansing Stick dengan Kombinasi Sodium Cocoyl Isethionate dan Cocamidopropyl Betaine sebagai Surfaktan. *Jurnal Integrasi Kesehatan & Sains*, 6(2), 112–118. <https://doi.org/10.29313/jiks.v6i2.13713>
- Aziz, M. R. R. S. (2017). Uji Aktifitas Antibakteri Fungi Endofit Dari Buah Tanaman Nangka Muda Artocarpus heterophyllus Lamk) Terhadap Staphylococcus aureus, Shigella dysentriæ dan Escherichia coli. *Skripsi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah*.
- Bahri, S., Amelia, P., Hardini, A., Ramadhan, F., & Azmi Muhammad, A. (2021). Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Kulit Batang Tanaman Kayu Jawa (Lannea coromandelica (Hout.) Merr.) terhadap Bakteri Streptococcus mutans dan Shigella dysenteriae. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* , 10(1), 41–48.
- Bahri, S., Amelia, P., Ningrum, R. K., Manalu, R. T., & Hamada, F. R. (2022a). Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tangkai Daun Tanaman Kayu Jawa (Lannea coromandelica). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 15(1), 121–129. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v15i1.17973>
- Bahri, S., Amelia, P., Ningrum, R. K., Manalu, R. T., & Hamada, F. R. (2022b). Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tangkai Daun Tanaman Kayu Jawa (Lannea coromandelica). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 15(1), 121–129. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v15i1.17973>
- Bahri, S., Christy, T., Setiawan, Y. N., Septianingsih, V., Iksan, M., Triutami, F., Noviyanti, A., Andini, P. P. U., & Ramadhan, F. (2023). Uji Antimikroba Ekstrak Kapang Endofit RLC 5 Akar Tanaman Kayu Jawa (Lannea coromandelica (Houtt.) Merr.). *Pharmaceutical Journal Of Indonesia* , 9(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.21776/ub.pji.2023.009.01.10>
- Barel, A. O. ., Paye, Marc., & Maibach, H. I. . (2001). *Handbook of cosmetic science and technology*. Marcel Dekker.
- Basavaraju, M., & Gunashree, B. S. (2023). Escherichia coli : An Overview of Main Characteristics . In *Escherichia coli - Old and New Insights*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.105508>

- Chastelynna, A. J. (2016). *Uji Aktivitas Sabun Cair Ekstrak Daun Jati (Tectona grandis L.f.) Sebagai Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Universitas Negeri Semarang.
- Darmapatni, K. A. G., Basori, A., Ni, D., & Suaniti, M. (2016). Pengembangan Metode GC-MS Untuk Penetapan Kadar Acetaminophen Pada Spesimen Rambut Manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(3), 255–256.
- Depkes. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* (Depkes, Ed.; 1st ed.). Departemen Kesehatan RI.
- Devindo, Septianora Zulfa, C., Attika, C., Handayani, D., & Fevria, R. (2021). Pengaruh Lama Fermentasi Dalam Pembuatan Tape. *Universitas Negeri Padang*, 01(2021), 600–607. <https://doi.org/10.24036/prosemnasbio/vol1/74>
- Fanani, Z., Panagan, A. T., & Apriyani, N. (2020). Uji Kualitas Sabun Padat Transparan dari Minyak Kelapa dan Minyak Kelapa Sawit dengan Antioksidan Ekstrak Likopen Buah Tomat. *Jurnal Penelitian Sains*, 3(1), 108–118.
- Fatonah, N. S., Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., Abdilah, A., Dita, L., & Fadillah, M. F. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Escherichia coli Pada Formulasi Sediaan Sabun Cair Mandi Probiotik dengan Metode Bioteknologi Kombucha Bunga Telang (Clitoria ternatea L). *Agribios : Jurnal Ilmiah*, 20.
- Fikriyyah, A. (2023). *Uji Antifungi Ekstrak Kapang Endofit PLC 4 Menggunakan Media Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz.) Terhadap Candida albicans dan Trichopyton rubrum* [Skripsi]. Institut Sains dan Teknologi Nasional.
- Gakuubi, M. M., Ching, K. C., Munusamy, M., Wibowo, M., Liang, Z. X., Kanagasundaram, Y., & Ng, S. B. (2022). Enhancing the Discovery of Bioactive Secondary Metabolites From Fungal Endophytes Using Chemical Elicitation and Variation of Fermentation Media. *Frontiers in Microbiology*, 13(June). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.898976>
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W., & Oetari, A. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan* (1st ed.). Yayasan Obor Indonesia.
- Hafsari, A. R., & Asterina, I. (2013). Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dari Tanaman Obat Surian (Toona Sinensis). *Jurnal Istek*, 7(2), 175–191.
- Hambali, E., Suryani, A., Rivai, M., & Permadi, P. (2019). *Teknologi Surfaktan dan Aplikasinya* (D. M. Nastiti, Ed.; Edisi Revisi, Vol. 1). PT Penerbit IPB Press.

- Hartati, S. R., Danial, M., & Salempa, P. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt) Merr). *Jurnal Chemica*, 22(1), 84–93.
- Haryati, S. D., Darmawati, S., & Wilson, W. (2017). *Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (Persea americana Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas aeruginosa*.
- Hasbi, N., Riezka Rahim, A., Sulaksmana Sandhi Parwata, W., Dara Ayunda, R., Farris, A., Fikar Raihan, A., & Azim Billah, M. (2024). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Feses Bayi Secara Fenotipik. *LPPM Universitas Mataram*, 6.
- Indriyani, N. (2020). *Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Sabun Cair Ekstrak Terpurifikasi Biji Pinang (Areca catechu L) Terhadap Propionibacterium acnes* [Skripsi]. Universitas Ngudi Waluyo.
- Irmayanti, P. Y., Wijayanti, N. P. A. D., & Arisanti, C. I. S. (2014). *Optimasi Formula Sediaan Sabun Mandi Cair dari Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia Mangostana Linn.)*. 2(2), 237–242.
- Kautsari, F. W., Kirana, P. K. C., & Hernowo, B. (2023). Formulasi dan Uji Mutu Fisik Sediaan Sabun Padat Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Kesehatan Madani Medika*, 14(02), 243–250.
- Kemenkes. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi VI* (Kementerian Kesehatan Indonesia, Ed.; 6th ed., Vol. 1). Kementerian Kesehatan Indonesia.
- Khoiriyah, A., Sumardi, & Busman, H. (2022). Identifikasi dan Petogenesitas *Escherichia coli* dari Swab Kloaka Ayam. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 10(3), 323–332. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.23960/jipt. v10i3.p323-332>
- Lestari, G., Noptahariza, R., Rahmadina, N., Farmasi, A., & Bengkulu, A.-F. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Formulasi Sabun Cair Ekstrak Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Cendikia Journal of Pharmacy*, 4(2), 95. <http://cjp.jurnal.stikescendekiautamakudus.ac.id>
- Magharaniq, U., Purwanto, S., Pasaribu, F. H., Bintang, M., Si, S., & Pascasarjana, S. (2014). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry*, 1(1), 51–57. <http://biokimia.ipb.ac.id/>
- Mahardhika, W. A., Dion, R., Fa’iq, M., Naufal, Q., Ramadhany, W., Arina, D., & Lunggani, T. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Kapang Filopan serta Serasah Daun di Lingkungan Laboratorium Biologi Universitas Diponegoro Dengan Metode Contact Plate. *Bioma*, 23(1), 6–10.

- Masykuroh, A., & Puspasari, H. (2022). Aktivitas Antibakteri Nano Partikel Perak (NPP) Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Keladi Sarawak Alocasia macrorrhizos Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *BIOMA : Jurnal Biologi Makassar*, 7(1), 76–86. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Melliawati, R., & Sunifah. (2017). Mikroba Endofit dari Tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L.) Sebagai Penghasil Antimikroba *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* , 16(1), 69–83.
- Moningka, M. V, Pareta, D., & Patalangi, N. (2020). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair Ekstrak Daun Pala Myristica fragrans Houtt. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 3(2), 17–26.
- Noviasari, S., Kusnandar, F., Setiyono, A., & Budijanto, S. (2017). Karakter Fisik, Kimia dan Sensori Beras Analog Berbasis Bahan Pangan Non Beras. *Pangan*, 26(1), 1–12.
- Nurdin, E., & Nurdin, G. M. (2020). Perbandingan Variasi Media Alternatif dengan Berbagai Sumber Karbohidrat Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Bionature* , 21(1), 1–5.
- Prayitno, T. A., & Hidayati, N. (2017). *Pengantar Mikrobiologi* (1st ed.). Media Nusa Creative .
- Putranto, A. M. H. (2009). Metoda Ekstraksi Cair-Cair sebagai Alternatif untuk Pembersihan Lingkungan Perairan dari Limbah Cair Industri Kelapa Sawit. *Jurnal Fisika FLUX*, 6, 158–172.
- Putri, S. K., Wahyuni, S., & Fajarna, F. (2022). Penggunaan ubi kayu putih sebagai media alternatif kultur *Candida albicans*. *Jurnal SAGO Gizi Dan Kesehatan*, 4(1), 44. <https://doi.org/10.30867/gikes.v4i1.1053>
- Putri, Warditiani, & Larasanty. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 56–60.
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis dan Kajian Risiko* (Vol. 1). IPB Press.
- Rengganis, A. P., Yulianto, A., & Yulianti, I. (2017). Pengaruh Variasi Konsentrasi Arang Ampas Kopi terhadap Sifat Fisika Tinta Spidol Whiteboard Info Artikel. *Jurnal MIPA*, 40(2), 92–96. <http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/JM>
- Restiani, R., Indriyani Roslim, D., & Herman. (2014). Karakter Morfologi Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Hijau dari Kabupaten Pelalawan. *JOM FMIPA*, 1(2), 619–623.

- Riadi, L. (2013). *Teknologi Fermentasi* (L. Riadi, Ed.; 1st ed., Vol. 1). Graha Ilmu.
- Rieger, M. M. . (2009). *Harry's cosmeticology* (M. M. Reiger, Ed.; 8th ed., Vols. 1–2). Chemical Publishing.
- Rinaldi, R., Fauziah, F., & Mastura, R. (2021). Formulasi dan Uji Daya Hambat Sabun Cair Ekstrak Etanol Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 3(1), 45–57. <https://doi.org/10.33759/jrki.v3i1.115>
- Riski, K., Fakhrurrazi, & Abrar, M. (2017). Isolasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Ikan Asin Talang-Talang (*Scomberoides commersonianus*) di Kecamatan Leupung Kabupaten Aceh Besar. *Jimvet*, 01(3), 366–374.
- Rodiah, S. A., Fifendy, M., & Indriati, G. (2022). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Beringin (*Ficus Benjaminia* L .) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* secara in Vitro. *Serambi Biologi*, 7(4), 318–325.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (R. C. Rowe, P. J. Sheskey, & M. E. Quinn, Eds.; 6th ed., Vol. 6). Pharmaceutical Press .
- Saptowo, A., Supriningrum, R., Supomo, dan, & Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda, S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (*Embeliaborneensis* Scheff) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *AI Ulum Sains Dan Teknologi*, 2(7), 93–97.
- Sari, M., & Moulina, M. A. (2020). Pengaruh Variasi Waktu Perendaman Sampel dan Jumlah Pelarut Homogenasi Terhadap Persentase Kestrak Protein Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *AGRITEPA*, VII(1), 2407–1315.
- Septiana, E., Hadriyanto, W., & Nari Ratih, D. (2016). Pengaruh suhu dan Penambahan Surfaktan pada Daya Antibakteri Sodium Hipoklorit Terhadap *Enterococcus faecalis*. *Jurnal Ked Gi*, 7(2), 48–53.
- SNI. (1996). *Sabun Mandi Cair*. SNI 06-4085-1996. www.bsn.go.id
- SNI. (2017). *Sabun Cair Pembersih Tangan*. SNI 2588 : 2017; Badan Standardisasi Nasional. www.bsn.go.id
- Sonbay, F. R. (2016). *Formulasi Sediaan Sabun Cair Ekstrak Daun Kirinyuh (Chromolaena Odorata L. R. M. King dan H. Rob.) Terhadap Uji Aktivitas Antibakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli* [Skripsi]. Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta .
- Sriwulan, Anggraini, S. D., Nurfitria, N., & Febriyantiningrum, K. (2023). Karakteristik dan Efektivitas Formula Sabun Cuci Tangan Cair Handmade dalam Menurunkan Angka Kuman. *Bioscientist: Jurnal*

- Suhaili, R., Ardi, L. P., Salim, E., & Efdi, M. (2020). Analisis GC-MS ekstrak tanaman terfermentasi (ETT) dari kulit buah jengkol (*Pithecellobium jiringa* Prain). *Chempublish Journal*, 5(1), 36–45. <https://doi.org/10.22437/chp.v5i1.7957>
- Suryani, Y., & Taupiqurrahman, O. (2021). *Mikrobiologi Dasar* (1st ed., Vol. 1). LP2M UIN SGD Bandung .
- Tivani, I., Amananti, W., & Rima Putri DIII Farmasi, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 7(1), 86–91.
- Tuhenay, W. (2018). Pengaruh Lama Rebusan Terhadap Kandungan Zat Besi Daun Singkong Varietas Mangi (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Mitra Pendidikan*, 2(2), 191–204.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Internal ISTN Periode Ganjil 2024/2025. Kami ucapan terimakasih kepada Ketua Retorat Institut Sains dan Teknologi Nasional Serta Dekan, Kaprodi, Sekretaris Prodi dan Seluruh Pranata Laboratorium Prodi Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional yang telah membantu dalam mensukseskan penelitian ini hingga tahap akhir.