# BAB III

# METODEPENELITIAN

## 3.1 RancanganPenelitian

Penelitian ini adalah *True Experimental* dan rancangan penelitian yang digunakanyaitu metode *Posttest Only Control Group Design* dimana hasil penelitian diamatisetelahperlakuanselesai.Penelitianinimeliputipembuatansimplisia,pembuatanekstrak,pembuatannanoekstrak,pengujianskriningfitokimia,pembuatansabunpadat nanoektrak, karakterisasi mutu fisik sabun padatnanoekstrak dan uji aktivitasantibakterisabunpadatektraketanolbonggolnanas terhadap *Staphylococcusaureus*.

### 3.1.1 VariabelPenelitian

Padapenelitianiniterdapatduavariabelyaituvariabelbebasdanvariabelterikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah simplisia bonggol nanas, ekstrakbonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr), nanopartikel ekstrak bonggol nanas, danvariasi konsentrasi nanopartikel ekstrak bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)sediaansabunpadat.Sedangkanvariabelterikatdalampenelitianiniadalahkarakterisasi fisik simplisia bonggol nanas, senyawa metabolit sekunder, karakterisasinanopartikelekstrakbonggolnanas,karakterisasimutufisiksediaansabunpadatnanopartikelekstrakbonggolnanasdanaktivitasantibakterisediaansabunpadatekstraketanoldan nanoekstrakbonggolnanas.

### 3.1.2 ParameterPenelitian

Parameter penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut, Parameter simplisiabonggol nanas : Makroskopik, Mikroskopik, Penetapan Kadar Air, Penetapan Kadar

Sari Larut Dalam Air, Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol, Penetapan KadarAbuTotal,danPenetapanKadarAbuTidakLarutAsam.Parameterskriningfitokimia ekstrakbonggolnanas:Senyawaalkaloid,flavonoid,saponin,tannin,dansteroid/triterpenoiddanglikosida.Parameterkarakterisasinanopartikelekstrakbonggol nanas : Ukuran partikel dan morfologi nanopartikel. Parameter karakterisasimutu fisik sediaan sabun padat nanopartikel ekstrak bonggol nanas : Organoleptis, ujistabilitas,ujidayabersih,pH,Ujikekerasan.Parameteraktivitasantibakteri:Diameter daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Karakteristik mutusabun padat menurut SNI 2016 : kadar air, bahan tak larut dalam etanol, asam lemakbebas

## 3.2 JadwaldanLokasiPenelitian

### 3.2.1 JabwalPenelitian

WaktupenelitianiniakandilaksanakanpadabulanDesember-Mei2024.

### 3.2.2 LokasiPenelitian

Pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak skrining fitokimia akan dilakukan diLaboratorium Botani, formulasi sediaan sabun cair akan dilakukan di LaboratoriumFarmasetika, karakterisasi mutu fisik sediaan sabun cair dan *Ultrasonic Homogenizer*akan dilakukan di laboratorium kimia.Pengujian aktivitasantibakteri akan dilakukandi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan.Pengujian ukuran partikel dan morfologi nanopartikel akan dilakukan di LaboratoriumNanomedicineUniversitasSumateraUtara.

## 3.3 Bahan

Bahan-bahanyangakandigunakanpadapenelitianiniadalahekstrakbonggolnanas, Virgin Coconat Oil, NaOH 30%, aquadest, Gliserin, Asam stearat, etanol 96%,Cocona-DEA,Minyaklemon,MediaMHA,NaCl0,9%,bakteri*Staphylococcusaureus*.

## 3.4 Peralatan

Peralatan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah homogenizer, ultrasonichomogenizer, mikroskop, objek glass, cawan petri, pipet tetes, alat-alat gelas, blender(Philips),penangas air, rak tabung reaksi, neraca analitik, pH meter, hot plate, porselin, lampuBunsen, kawat ose,jangka sorong,TEM (*Transmission Electron Microscope*) danPSA (*ParticelSizeAnalizer*).

## 3.5 PengumpulandanPembuatanSampel

### 3.5.1 PengumpulanSampelTumbuhan

Sampel yang digunakan adalah Bonggol Nanas *(Ananas comosus* (L.) Merr),yang didapat dari salah satu penjual rujak di kota Medan. Metode pengambilan sampeldilakukan dengan cara Purposive. Sampel diambil pada satu tempat atau daerah sajadantidakmembandingkan dengandaerah lain.

### 3.5.2 PenyiapanSimplisiaBonggolNanas

Bonggol nanas *(Ananas comosus* (L.) Merr) masing-masing dicuci dengan airmengalir, lalu ditiriskan dan dipotong kecil-kecil kemudian ditimbang sebagai beratbasah. Kemudian dikeringkan dalam oven simplisia pada suhu 40-50o C. Kemudiandilakukan sortasi untuk memisahkan kotoran dan benda asing. Bonggol nanas yangsudah kering ditimbang dan dihaluskan menggunakan blender dan dimasukkan kedalamwadah yang tertutup(Fitri, 2023).

## 3.6 KarakterisasiSimplisia

### 3.6.1 PemeriksaanMakroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan terhadap simplisia bonggol nanas *(Ananascomosus* (L.)Merr)dengancaramemperhatikanwarna,bentuk,baudanukurannya.

### 3.6.2 PemeriksaanMikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia bonggol nanas*(Ananascomosus*(L.)Merr)dengancarasampelserbuksimplisiabonggolnanasdiletakkan diatas kaca objek, dan ditetesi dengan kloralhidrat ditutup dengan *coverglass*,lakukanviksasisampaijernihkemudiandiamatidibawahmikroskop.

## 3.7 PenetapanKadarAir

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode azeotropi (destilasi toluen). Alatterdiridarilabualasbulat500mL,alatpenampungdanpendingin,tabungpenyambungdan penerima10 mL.

1. **PenjenuhanToluene**

Sebanyak 200 mL toluene dan 2 mL *aquadest* dimasukkan ke dalam labu alasbulat, dipasang alat penampung dan pendingin, kemudian didestilasi selama 2 jam.Destilasi dihentikandandibiarkandinginselama30menit,kemudianvolumeairdalamtabung penerimadibacadengan ketelitian 0,05mL.

1. **PenetapanKadarAirSimplisia**

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama, dimasukkanke dalam labu alas bulat yang berisi toluen jenuh tersebut, lalu dipanaskan hati-hatiselama 15 menit. Setelah toluen mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes untuk tiapdetik sampai sebagian besar air terdestilasi, kemudian kecepatan destilasi dinaikkansampai 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian dalam pendingin dibilasdengantoluen.Destilasidilanjutkanselama5menit,kemudiantabungpenerimadibiarkan mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna,volumeairdibacadenganketelitian0,05mL.Selisihkeduavolumeairyangdibacasesuaidengankandunganairyangterdapatdalambahanyangdiperiksa.Kadarairdihitungdalampersen (v/b)(DepkesRI, 1995).

Kadarair=(𝑣𝑜𝑙𝑢𝑚𝑒𝑎𝑖𝑟𝑎𝑘ℎ𝑖𝑟−𝑣𝑜𝑙𝑢𝑚𝑒𝑎𝑖𝑟𝑎𝑤𝑎𝑙)× 100%

beratsimplisia

###

### 3.7.1 PenetapanKadarSariLarutDalamAir

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 100 mL kloroform P (2,5mL kloroform dalam 100 mL *aquadest*) selama 24 jam menggunakan labu tersumbatsambil sesekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam dandisaring.20mLfiltratdiuapkansampaikeringdalamcawanpenguapkemudiandipanaskan pada suhu 105˚C dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar sariyang larut dalam air dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara(Depkes, 1989).

KadarSariLarutDalamAir=𝐵𝑒𝑟𝑎𝑡𝑠𝑎𝑟𝑖 ×FP×100%

Bobotsimplisia

### 3.7.2 PenetapanKadarSariLarutDalamEtanol

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mLetanol (96%) dalam labu tersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertamadankemudiandibiarkanselama18jam.Kemudiandisaringuntukmenghindaripenguapanetanol,kemudiandiuapkan20mLfiltrathinggakeringdalamcawanpenguap kemudian dipanaskan pada suhu 105˚C hingga diperoleh bobot tetap. Kadardalam persen sari yang larut dalam etanol 96% dihitung terhadap bahan yang telahdikeringkandiudara(Depkes, 1989).

KadarSariLarutDalamEtanol= 𝐵𝑒𝑟𝑎𝑡𝑠𝑎𝑟𝑖×FP×100%

Bobotsimplisia

### 3.7.3 PenetapanKadarAbu Total

Sebanyak 2 gram serbuk simplisia ditimbang dengan seksama, lalu dimasukkanke dalam krus porselin yang telah dipijarkan dan ditara (ditimbang sampai bobot tetap)kemudian krusdipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, pemijaran dilakukanpada suhu 600˚C selama 3 jam kemudian didinginkan dan ditimbang hingga diperolehbobottetap.Kadarabudihitungtehadapbahanyangtelahdikeringkan(Depkes,1989).

KadarAbuTotal= 𝐵𝑒𝑟𝑎𝑡Abu×FP×100%

Bobotsimplisia

### 3.7.4 PenetapanKadarAbuTidakLarutAsam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total, didinginkan dengan 25 mLasamkloridaencer,adukselama5menit,bagianyangtidaklarutdalamasamdikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, kemudian dicuci dengan airpanas, residu dan kertas saring dipijarkan pada suhu 600˚C selama 3 jam kemudiandidinginkan dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu tidak larut dalamasamdihitungterhadap bahanyangtelah dikeringkandiudara(Depkes,1989).

KadarAbuYangTidakLarutAsam=𝐵𝑒𝑟𝑎𝑡𝑠𝑎𝑟𝑖×100%

Bobotsimplisia

## 3.8 PembuatanEkstrakBonggolNanas

Metodeyangdigunakanuntukmendapatekstrakbonggolnanasadalahmetodemaserasidenganmenggunakanpelarutetanol96%.Serbuksimplisiasebanyak10 bagian (500g) dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangkan 75 bagian (3750 ml)cairan penyari etanol lalu ditutup sambil diaduk sesekali dan dibiarkan selama 5 hariampasnya di serkai, dan diperas. Ampasnya kemudian dicuci dengan cairan penyarietanol secukupnya hingga diperoleh 100 bagian (5 Liter) maserat. Maserat kemudiandipindahkankedalambejanatertutup,dibiarkanditempatsejuk,terlindungdaricahayaselama2hari,dandisaring.Maseratlaludipekatkandenganalatrotaryevaporatorlalu ditimbang(Depkes, 1979).

%rendemen=Beratekstrakkentaletanolx100%

beratsimplisiakering

## 3.9 PembuatanNanopartikelEkstrakBonggolNanas

Ekstrak bonggol nanas diaduk dengan homogenizer dengan kecepatan 1.700 rpmselama 1 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam *ultrasonic homogenizer* selama 1 jam(Rosani,2023).

## 3.10 PembuatanLarutanPereaksi

### 3.10.1 PembuatanLarutanBouchardat

Sebanyak 4 gram kalium iodida dilarutkan dalam 20 mL *aquadest*, kemudianditambahkan sedikit demi sedikit 2 gram iodium dan dicukupkan dengan *aquadest*hingga100 mL(Depkes, 1989).

### 3.10.2 LarutanPereaksiMayer

Sebanyak1,36gramraksa(II)klorida,dilarutkandalam60mLaquadest,kemudianpadawadahyanglainditimbangsebanyak5gramkaliumiodidalaludilarutkandalam10mLaquadest.Kedualarutandicampurkandanditambahkanaquadesthinggadiperoleh larutan 100 mL (Depkes,1989).

### 3.10.3 LarutanPereaksiDragendorff

Sebanyak 8 g bismut (II) nitrat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 20 mLasam nitrat pekat. Pada wadah lain ditimbang sebanyak 27,2 gram kalium iodida laludilarutkandalam50mLaquadest.Kemudiankedualarutandicampurkandandidiamkan sampai memisah sempurna. Larutan yang jernih diambil dan diencerkandenganaquadesthingga100mL(Depkes, 1989).

### 3.10.4 LarutanPereaksiMolish

Sebanyak3gramalfa-naftolditambahkanbeberapatetesetanolkemudiandilarutkandalamasamnitrat0,5 Nhingga100 mL(Depkes, 1989).

### 3.10.5 LarutanPereaksiAsamKlorida2N

Sebanyak 17 mL asam klorida pekat diencerkan dalam *aquadest* hingga 100 mL(Depkes, 1989).

### 3.10.6 Larutan PereaksiAsamSulfat2N

Sebanyak5,4mLasamsulfatpekatdiencerkandengan*aquadest*hingga100mL(Depkes, 1989).

### 3.10.7 LarutanPereaksiNatriumHidroksida2N

Sebanyak 8 gram pellet natrium hidroksida dilarutkan dalam aquadest hingga100mL(Depkes, 1989)**.**

### 3.10.8 LarutanPereaksiLiberman-burchard

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

### 3.10.9 LarutanPereaksiBesi(III)Klorida

Sebanyak 1 gram besi (III) klorida dilarutkan dengan *aquadest* hingga 100 mL(Depkes, 1989).

### 3.10.10 LarutanPereaksiTimbal(II)Asetat0,4M

Sebanyak15,17gramtimbal(III)asetatdilarutkandalamaquadestbebaskarbondioksidahingga100 mL (Depkes,1989)**.**

## 3.11 SkriningFitokimiaEkstrakdanNanoekstrakBonggolNanas

### 3.11.1 PemeriksaanAlkaloid

Ekstrakditimbangsebanyak0,5gramkemudianditambahkan1mLasamklorida dan 9 mL aquadest, dipanaskan air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring.Filtratdipakaiuntuk percobaan berikut:

1. Diambil3tetesfiltrat,laluditambahkan2tetespereaksimayer,reaksipositifditandaidenganterbentuknyaendapanberwarnaputihatau kuning.
2. Diambil3tetesfiltrat,laluditambahkan2tetespereaksibouchardat,reaksipositifditandaidenganterbentuknyaendapan berwarnacoklatsampaihitam.
3. Diambil3tetesfiltrat,laluditambahkan2tetespereaksidragendorff,reaksipositifditandaidenganterbentuknyaendapanwarnamerahatau jingga.

Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau paling sedikit dua atau tigadari percobaan. Perlakuan diulangi terhadap nanoekstrak bonggol nanas. (Depkes RI,1995).

### 3.11.2 PemeriksaanFlavonoid

Ekstrak 10 gram ditimbang kemudian ditambahkan 100 mL air panas, didihkanselama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, filtrat yang diperoleh kemudiandiambil5mLlaluditambahkan0,1gramserbukMgdan1mLHClpekatdan2mL

amil alkohol, dikocok, dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warnamerah,kuningjinggapadalapisanamilalcohol.Perlakuandiulangiterhadapnanoekstrakbonggolnanas(DepkesRI, 1995).

### 3.11.3 PemeriksaanTanin

Ekstrakditimbang0,5gramsampeldisaridengan10mL*aquadest*,lalufiltratnya diencerkan dengan *aquadest* sampai tidak berwarna. Diambil 2 mL larutanlalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Terjadinya warna biruatauhijaukehitamanmenunjukkanadanyatannin.Perlakuandiulangiterhadapnanoekstrakbonggolnanas(DepkesRI, 1995)**.**

### 3.11.4 PemeriksaanSaponin

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksidan ditambahkan aquadest panas sebanyak 10 mL, didinginkan kemudian dikocokkuat-kuat selama 10 detik, timbul busa/buih yang mantap tidak kurang dari 10 menitsetinggi 1-10 cm. Ditambahkan 1 tetes larutan asam klorida 2N, bila busa tidak hilangmenunjukkan adanya saponin. Perlakuan diulangi terhadap nanoekstrak bonggol nanas(Depkes, 1989).

### 3.11.5 PemeriksaanSteroid/Triterpenoid

Ekstrak ditimbang sebanyak 1gram sampel dimaserasi dengan 20 mL *n-*heksanaselama2jam,laludisaring.Filtratdiuapkandalamcawanpenguap.Padasisaditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Terjadinyawarna ungu menunjukkan adanya triterpenoid atau warna hijau menunjukkan adanyasteroid.Perlakuandiulangiterhadapnanoekstrakbonggolnanas(Depkes,1989).

### 3.11.6 PemeriksaanGlikosida

Ekstrak ditimbang sebanyak 3 g, kemudian disari dengan 30 mL campuran 7 mLbagian etanol 96% dan 3 bagian aquadest ditambah dengan 10 ml HCL 2N. Direfluksselama 30 menit, didinginkan dan disaring. Diambil 20 mL filtrat ditambahkan 25 mLaquadest dan 25 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, lalu didiamkan selama 5 menitdan disaring. Filtrat disari dengan 20 mL campuran 3 bagian kloroform dan 2 bagianisopropanol dilakukan berulang sebanyak tiga kali. Kumpulkan sari air diuapkan padatemperatur tiidak lebih dari 50˚C. Sisanya dilarutkan dalam 2 mL metanol. Kemudiandiambil 0,1 mL larutan percobaan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diuapkan dipenangas air. Pada sisa ditambahkan 2 mL air dan 5 tetes pereaksi molish. Kemudiansecara perlahan ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung, jikaterbentukcincinungupadabataskeduacairanmenunjukkanadanyaglikosida.Perlakuandiulangiterhadap nanoekstrakbonggolnanas(Depkes, 1989).

## 3.12 KarakterisasiNanopartikelEkstrakBonggolNanas

### 3.12.1 UjiUkuranPartikel

Pengujian dilakukan dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) dengantipe *Dynamic Light Scattering*. Sebanyak 10 mL sediaan diambil dan ditempatkan kedalam kuvet. Kuvet harus dibersihkan terlebih dahulu agar tidak mempengaruhi hasilanalisis. Kuvet yang telah diisi dengan sediaan kemudian dimasukan ke dalam sampelholder dan dilakukan analisis oleh instrumen. Data yang diperoleh yaitu ukuranpartikel(Rosani, 2023)

## 3.13 Formulasabunpadat

Penelitianinimenggunakanvariasikonsentrasiekstraketanoldannanoekstrakbonggolnanasyang dapatdilihatpadatabeldibawahini:

Tabel 3. 1Pembuatan FormulaSabun Padat

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No | Namabahan | Fungsi | Formulasi(g) |
| F0 | F1 | F2 |
| 1 | Ekstraketanolbonggolnanas | Zataktif | - | - | 12,5 |
| 2 | Nanoekstrakbonggolnanas | Zataktif | - | 1,25 | - |
| 3 | Virgincoconatoil | Sumberasamlemak | 10 | 10 | 10 |
| 4 | Asamstearat | Pengerassabun | 7,5 | 7,5 | 7,5 |
| 5 | NaOH 30% | Sumberalkali | 10 | 10 | 10 |
| 6 | Gliserin | Humektan | 18 | 18 | 18 |
| 7 | Gula | Humektan | 7,5 | 7,5 | 7,5 |
| 8 | Cocona-Dea | Pembusa | 2 | 2 | 2 |
| 9 | Minyaklemon | Parfum | qs | qs | qs |
| 10 | Etanol96% | Pelarut | 25 | 25 | 25 |
| 11 | Aquadest(ad) | Pelarut | 100 | 100 | 100 |

Keterangan:

F0 (Blanco) : Tanpa ekstrak bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)F1 : Formula sabun padat mengandung 1,25% nanoekstrak bonggol nanasF2:Formulasabunpadatmengandung12,5%ekstrak bonggolnanas

### 3.13.1 ProsedurPembuatanDasarSabunpadat

Menyiapkanbahandanalatyangakandigunakanuntukpembuatansabunpadat. Menimbang bahan sesuai formulasi. Membuat larutan gula , mencampurkangula 7,5 gram dan aquadest 10 ml dicairkan diatas hotplat sampai larut. Kemudiandipanaskan VCO pada suhu 60-70ᵒC, ditambahkan asam stearat sampai larut, setelahitu masukkan NaOH 30% diaduk cepat sampai terbentuk saponifikasi aduk hinggahomogen, lalu tambahkan bahan lain ( gula, gliseri, etanol, cocodea,aquadest ) adukhinggaterbentukmassasabun,setelahsediaansudahlarutseluruhnyaterakhir tambahkan minyak lemonkedalam massa sabundiaduk hingga homogen (massa sabunpadat) (ayu dkk, 2022).

### 3.13.2 Pembuatan Sabun PadatEkstrak BonggolNanas DanNanoekstrak

Ekstrakbonggolnanasdannanoekstrakyangdigunakanpadapenelitianinidengan berbagai variasi konsentrasi yaituF0 (Blanko), F1 1,25% nanoekstrak, F212,5% ekstrak dimana sediaan sabun padat pada nanoekstrak dan ditambahkan dengandasarsabun padatdapatdilihatpadatabel3.2 berikut.

Tabel 3. 2FormulaSediaan Sabun Padatnanoekstrak BonggolNanas

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Komposisi(%) | Formulasi(g) | Basissabun (g) |
| F0(Blanko) | 0 | 100 |
| F1(nanoekstrak1,25) | 1,25 | 81,25 |
| F2(Ekstrak12,5) | 12,5 | 92,5 |

### 3.13.3 ProsedurSabunPadatEkstrakBonggolNanasdanNanoekstrak

Massadasarsabunpadat(M1)ditambahkanEkstrakBonggolNanasdanNanoekstrak dengan masing-masing konsentrasi yaitu 0% (F0), 1,25% nanoekstrak(F1) dan 12,5% ekstrak (F2) ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk sampaicampuran merata, kemudian dimasukkan kedalam cetakan sabun ditunggu selama 2jampadasuhu ruangan sampaimengeras.

## 3.14 KarakteristikFisikSediaanSabunPadat

### 3.14.1 UjiOrganoleptis

Pengamatanyangdilakukanmeliputipengamatanwarnasecaravisual,pengamatan baumencium dari sediaan, bentukdengan cara melihat sediaan yangdihasilkan,warnadengan caramelihatwarnadarisediaan(Aminudin, 2019).

### 3.14.2 Uji pH

Sabun dihaluskan terlebih dahulu kemudian ditimbang sebanyak 1 g dimasukanke dalam beaker glass. Campuran tersebut ditambahkan aquades sebanyak 10 mL dandiaduk hingga larut. Dicelupkan pH indikator ke dalam larutan sabun dan diamatinilainya. Nilai pH harus sesuai dengan persyaratan yaitu 8– 11 (Aisyah & Sulanjari,2020).

### 3.14.3 UjiStabilitasBusa

Pengujiankestabilanbusadilakukandengancaramemasukan1gsabunkedalam tabung reaksi yang berisi 10 mL aquadest, kemudian dikocok selama 20 detik.Busa yang terbentuk diukur tingginya menggunakan penggaris (tinggi busa awal).Tinggibusadiukurkembalisetelah5menit(tinggibusaakhir) (Rinaldi,2021).

### 3.14.4 UjiKekerasan

Kekerasansabun diuji dengan menggunakan hardness tester. Sabun denganukuran1x1cmdiletaskanpadahardnesstestersecaravertikal.Hardnesstesterdiputarsampaimenembusbagiansabun.Skalakekerasanyangterlihatdicatat(Tomi,2018).

### 3.14.5 UjiDayaBersih

Evaluasidayabersihsabundilakukandenganmenggunakanpengukurankekesatan sabun oleh responden. Responden dalam penelitian ini adalah 9 orang sehat.Setiap responden diberikan 4 sampel sabun yang terdiri dari Formula 0, Formula 1,Formula2.Pengujiandilakukandengancaramengotoritanganrespondenmenggunakanminyakdenganluasarea5x5cmkemudiandibersihkandenganmenggunakansampelsabunyangdiberikan.Kekesatantanganrespondendievaluasi dandinilaidenganrentangnilai1-5dimanasemakintingginilaimakatingkatkekesatanjugasemakin tinggi(Saputri,2022).

## 3.15 PembuatanMedia

### 3.15.1 SterilisasiAlat

Sebelum menggunakan alat-alat maka terlebih dahulu dicuci bersih dan dibilasdenganairmengalir.Alat-alatyangterbuatdarigelasdibungkusdengankertasperkamen dan disterilkan dengan menggunakan oven suhu 180°C selama1 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan panas lampu spiritus selama 30 detik. Alat-alat karet danplastik yang tidak tahan pemanasan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°Cselama15menit(Retnaningsih, 2019).

### 3.15.2 PembuatanLarutanNaCl0,9%

Sebanyak 0,9 g Natrium klorida (NaCl) dilarutkan dengan 100 mL aquadestsedikit demi sedikit kedalam labu ukur 100 mL sampai homogen, dimasukkan dalamerlenmeyerdan disterilkan dalamautoklafpadasuhu121°C selama1menit.

### 3.15.3 PembuatanStandarKekeruhan MacFarland 0,5

Siapkan larutan Barium klorida (BaCl₂) 1% sebanyak 0,05 mL. Campurkandengan larutan Asam Sulfat (H₂SO₄) 1% sebanyak 9,95 mL. Kocok larutan hinggahomogendan terlihatkeruh (Retnaningsih, 2019).

### 3.15.4 PembuatanMediaPeremajaanBakteri(AgarMiring)

MHAditimbangsebanyak9,5gram(38g/L),Kemudiandilarutkankedalam250mLaquadest.Mediadipanaskansampaimendidihagartercampurdengansempurna. Disterilisasi di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121º C. Tungguhingga agak dingin sekitar 40-45ºC. Tuang media steril ke dalam tabung reaksi untukmembuatagarmiring (Retnaningsih, 2019).

## 3.16 DayaHambatAktivitasAntibakteriStaphylococcusaureus

### 3.16.1 PeremajaanBakteri*Staphylococcusaureus*

Bakteri *Staphylococcusaureus*diambil dengan menggunakan Ose steril darikultur murninya. Lalu diinokulasikan dalam media agar miring, Diinkubasi dalaminkubatorpadasuhu 37ºC selama1x 24jam(Retnaningsih,2019).

### 3.16.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Padat TerhadapStaphylococcus Aureus

Uji aktivitas antibakteri sediaan sabun padat ekstrak bonggol nanas dilakukandengan metode difusi agar modifikasi Kirby-Bauer. Sebanyak 15 ml media MHA cairdimasukkan kedalam cawan petri. Suspensi bakteri *staphylococcus aureus* diambildengankapaslidisteril(cottonbudsteril),laludigoreskanmeratapadaseluruhpermukaan media MHA. Kertas cakram steril berisi sediaan sabun padat yang sudahdibuat denganberbagaimasing-masingkonsentrasi yaitukonsentrasiF0(0%),F1(1,25%), F2 (12,5%), selanjutnya tempelkan di atas media agar MHA. Kontrol negatifyaituFormula0(Blanko).Pembandingsabunpadatdetoloriginal.Kemudiandiinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu diukur zonahambatyangterbentukdisekitarcakrammenggunakanjangkasorong.Ditandaidenganzonabening disekitar cakram(Gunawan,2021).

### 3.16.3 IdentifikasiBakteridengan MetodePewarnaan

Gram Ambil 1-2 tetes aquadest steril diletakkan di atas kaca objek, koloni bakteridi ambil satu Ose dari media diletakkan di atas aquadest steril dan sebarkan hinggamerata, biarkan olesan tersebut kering karena udara. Setelah olesan benar-benar keringkemuadian lewatkan kaca objek tersebut beberapa kali di atas nyala api sampai kacaobjekterasaagakpanasbiladitempelkanpadapunggungtangan.Kemudianditetesi dengan larutankristal ungu(gramA), dandidiamkan selamasatumenit, kemudiancuci menggunakan aquadest pada botol semprot dan dikeringkan. Selanjutnya ditetesidengan larutan iodium (gram B) dan dibiarkan selama 2 menit, dicuci menggunakanaquadest pada botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan larutan etanol95% (gram C) selama 30 detik, dicuci menggunakan aquadest pada botol semprot dandikeringkan. Setelah itu ditetesi dengan larutan safranin (gram D) atau zat penutup dandidiamkanselama30detik,kemudiandicucimenggunakanaquadestpadabotolsemprot dan dikeringkan. Selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop padapembesarankuat(Waluyo, 2010).

## 3.17 KarakteristikMutuMenurutSNI2016

### 3.17.1 UjiKadarAir

Timbang cawan porselinyang telah dikeringkan dalam oven pada suhu (105 ±2)ºC selama 30 menit (b0), timbang (5 ± 0,01) g contoh uji ke dalam cawan porselindiatas (b1), panaskan dalam oven pada suhu (105 ± 2) ºC selama 1 jam, dinginkandalamdesikatorsampaisuhuruanglalu ditimbang(b2),Ulangicarakerjahurufcdand

sampaibobottetap.

Kadarair=𝑏1−𝑏2×100%

𝑏1

Keterangan:

b1 : bobot uji sebelum pemanasan

b2:bobotujisetelahpemanasan

### 3.17.2 UjiBahanTakLarut Dalam Etanol

Larutkan(5±0,01)gcontohuji(b1)dengan200mLetanolnetralkedalamerlenmeyertutupasahdanpasangkanpendingintegak,panaskandiataspenangasair sampai sabun terlarut seluruhnya, Keringkan kertas saring atau cawan gooch dalamoven pada suhu (100-105) ºC selama 30 menit, Biarkan kertas saring atau cawanGooch dingin, Timbang kertas saring atau cawan Gooch, Ulangi cara kerja b sampai dsampai bobot tetap (b0), Tempatkan kertas saring atau cawan Gooch pada corong diatas labu erlenmeyer yang sudah dirangkai dengan pompa vakum, Saat sabun terlarutseluruhnya, tuang cairan ke kertas saring atau cawan Gooch, Lindungi larutan darikarbondioksidadanasapasamselamaprosesdenganmenutupnyamenggunakanpendingin tegak, Cuci bahan yang tak larut dalam erlenmeyer pertama dengan etanolnetral, Tuang cairan cucian tadi ke kertas saring atau cawan Gooch, Cuci residu padakertas saring atau cawan Gooch dengan etanol netral sampai seluruhnya bebas sabun;Simpan filtratnya, Keringkan kertas saring atau cawan Gooch serta residu dalam ovenpada suhu (100- 105) ºC selama 3 jam, Biarkan dingin, Timbang kertas saring ataucawanGooch tersebut(b2).

Keterangan:

Bahantaklarutdalametanol:𝑏2−𝑏1×100%

𝑏0

b0:bobotkertassaringkosong

b1:bobotujisampel

b2:bobotkertassaringresidu

### 3.17.3 UjiAlkaliBebas /UjiAsamLemakBebas

Panaskanfiltratdaripenentuanbahantaklarutdalamalkohol(Subpasal6.4),saathampirmendidih,masukkan0,5mLindikatorfenolftalein1%,Jikalarutantersebut bersifat asam (penunjuk fenolftalein tidak berwarna), titrasi dengan larutanstandar KOH sampai timbul warna merah mudayang stabil, Jika larutan tersebutbersifatalkali(penunjukfenolftaleinberwarnamerah),titrasidenganlarutanstandar HClsampaiwarnamerahtepathilang.HitungmenjadiNaOHjikaalkaliataumenjadiasamoleatjikaasam.

Alkalibebas:0,205×𝑉×𝑁×100%

 b

Keterangan:

V = KOH0,1N

N = Normalitas

KOHW = Beratsampel

0,205 = Beratsetaraasamlaurat