

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sabun

Sejarah sabun dimulai sejak 2800 sebelum masehi (SM). Pembuatan sabun bermula dari Bangsa Babilonia yang mulai membuat sabun sejak 2800 SM. Mereka memanaskan campuran lemak hewan dengan abu. Sabun digunakan untuk membersihkan wol dan kapas yang digunakan dalam pembuatan tekstil dan digunakan untuk pengobatan. Seiring berkembangnya ilmu kimia dan pemahaman tentang bahan-bahan pembuatan sabun dan adanya teknologi modern dalam pembuatan sabun. Sabun yang awalnya hanya digunakan untuk mencuci peralatan memasak dan pengobatan. Pada pertengahan abad ke-19 sabun mandi menjadi komoditas terpisah dari sabun cuci dengan sabun yang lebih lembut, dikemas dan dijual dan tersedia untuk penggunaan pribadi. Sabun tangan cair ditemukan pada tahun 1970-an (*Soap History*, 2021).

Sabun mandi adalah garam natrium atau kalium dari minyak nabati atau lemak hewani berbentuk padat, lunak, atau cair, berbusa digunakan sebagai pembersih, dengan penambahan zat pewangi, dan bahan lainnya yang tidak membahayakan kesehatan (SNI, 1994). Kandungan utama penyusun sabun adalah asam lemak dan alkali. Asam lemak yang digunakan berupa minyak atau lemak di antaranya minyak goreng (*frying oil*), minyak kelapa (*coconut oil*), minyak sawit (*palm oil*), minyak jarak (*ricinnus oil*), lemak sapi, dll, sedangkan alkali yang biasa digunakan dalam pembuatan sabun yakni Kalium Hidroksida (KOH) atau Natrium Hidroksida (NaOH). Bahan kimia ini bersifat higroskopis (mudah menyerap air dan korosif (menyebabkan karat). Sabun dihasilkan dari proses saponifikasi, yaitu hidrolisis lemak menjadi asam lemak dan gliserol menggunakan alkali KOH/NaOH, minyak dipanaskan dengan KOH/NaOH sampai terhidrolisis sempurna.

Pada umumnya sabun dibedakan atas dua bentuk yaitu sabun padat dan sabun cair. Perbedaan utama dari kedua bentuk sabun ini adalah alkali yang digunakan dalam reaksi pembuatan sabun. Jika basa yang digunakan adalah

NaOH, maka produk reaksi berupa sabun keras (padat), sedangkan basa yang digunakan adalah KOH, maka produk reaksi berupa sabun cair (Ramdaniati, 2016). Namun, sabun cair saat ini banyak diproduksi karena penggunaannya yang lebih praktis dan bentuk yang menarik dibanding bentuk sabun lain.

Produk sabun cair mandi yang diperoleh harus memenuhi SNI, syarat mutu sabun mandi cair menurut SNI 06-3532-1994 terlihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Syarat Mutu Sabun Mandi Cair

No.	Uraian	Sabun Padat	Sabun Cair
1.	Asam lemak bebas	<2,5	<2,5
2.	Alkali bebas (%)		
	Dihitung sebagai NaOH	Maks. 0,1	Maks. 0,1
	Dihitung sebagai KOH	Maks. 0,14	Maks. 0,14
3.	Kadar air (%)	Maks. 15	>15
4.	pH	8-11	8-11

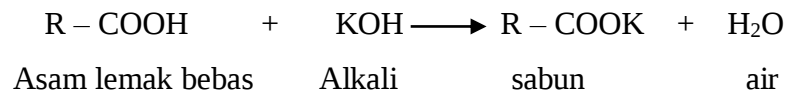
Sumber: SNI 06-3235-1994

Kelebihan sabun cair dibandingkan sabun padat yaitu mudah disimpan dan dibawa, lebih higienis dan tidak mudah rusak serta tidak mudah kotor. Sabun cair efektif untuk mengangkat kotoran larut air atau kotoran larut lemak yang menempel pada permukaan kulit.

Industri sabun terdiri dari industri detergen dan industri sabun. Perbedaan sabun dan detergen terdapat pada bahan utama pembuatannya. Bahan utama pembuatan sabun terdiri dari campuran asam lemak dan alkali, sedangkan bahan utama detergen menggunakan surfaktan dan daya cuci detergen lebih baik dibandingkan dengan sabun. Detergen terdiri dari surfaktan, *builder* dan bahan aditif lainnya. Detergen merupakan campuran senyawa kimia yang digunakan sebagai bahan pembersih dan memiliki struktur kimia yang terdiri dari ujung karbon *hidrofobik* dan ujungnya sulfat yang dapat menggemulsi lemak.

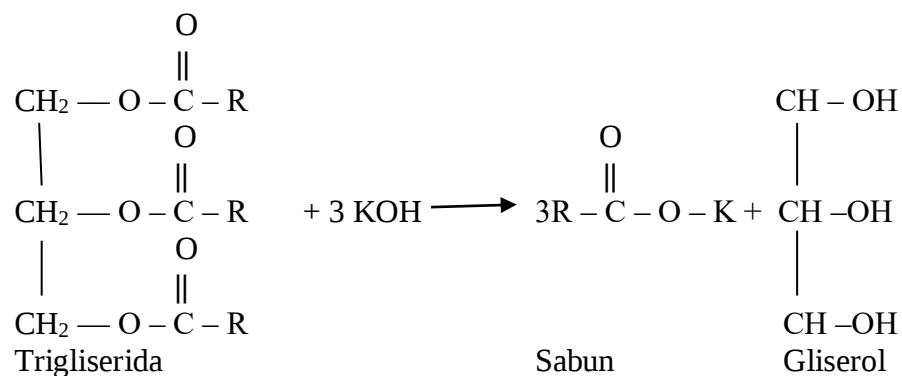
Dalam proses pembuatan sabun ada dua cara, yakni proses saponifikasi dan proses netralisasi. Sabun dihasilkan dari proses saponifikasi yang merupakan reaksi pemutusan rantai trigliserida melalui reaksi dengan NaOH maupun KOH yang akan menghasilkan produk utama berupa sabun dan juga produk samping yang berupa gliserin. Proses netralisasi merupakan proses untuk memisahkan asam lemak bebas dari minyak dengan mereaksikan asam lemak bebas tersebut dengan larutan basa atau pereaksi lainnya sehingga terbentuk sabun (*soap stock*).

Berikut reaksi netralisasi pada sabun.



2.1.1 Mekanisme Reaksi Kimia Saponifikasi

Kata saponifikasi atau *saponify* berarti membuat sabun (Latin *sapon*, = sabun dan *-fy* adalah akhiran yang berarti membuat). Nama lain dari reaksi saponifikasi adalah reaksi penyabunan. Saponifikasi merupakan proses hidrolisis basa (alkali) terhadap lemak dan minyak. Sabun terdiri dari garam asam-asam lemak. Sabun memiliki fungsi sebagai bahan pembersih. Sabun juga dapat menurunkan tegangan permukaan air, sehingga memungkinkan air untuk membasahi bahan yang dicuci dengan lebih efektif. Sabun bertindak sebagai zat pengemulsi untuk mendispersikan minyak dan sabun teradsorpsi pada butiran kotoran (Wayan, 2018). Reaksi saponifikasi sebagai berikut:

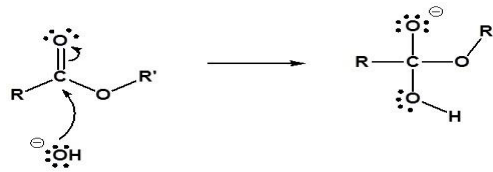


Mekanisme reaksi pembuatan sabun yakni trigliserida akan direaksikan dengan basa kuat yang akan memutus ikatan ester. Ester dapat dipecah kembali menjadi asam karboksilat dan alkohol melalui reaksi dengan air dan basa. Reaksi tersebut disebut reaksi saponifikasi. Berikut tahapan mekanisme pemutusan ikatan ester oleh basa kuat:

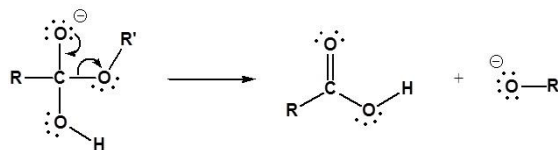
1. Ionisasi basa/ pembentukan neklofil.



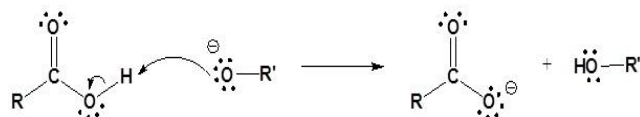
2. Ion hidroksida dari molekul alkali masuk dan melakukan serangan nukleofilik pada ester atau molekul lemak.



3. Gugus OR menjadi gugus pergi. Gugus OR mengacu pada atom oksigen yang terikat pada R, yang hanya merupakan pengganti untuk setiap molekul atau atom. Ketika gugus OR pergi menyebabkan ikatan rangkap terbentuk, sehingga menghasilkan gugus karbonil.



4. Gugus OR mengikat proton H dari asam karboksilat. Proses pelepasan proton dari molekul ini disebut deprotonasi. Setelah di deprotonasi produk akhir berupa karboksilat dan alkohol.



Reaksi pembuatan sabun atau saponifikasi yakni reaksi trigliserida dan alkali KOH menghasilkan sabun sebagai produk utama dan gliserin sebagai produk samping. Produk samping berupa gliserin memiliki nilai jual, salah satunya digunakan dalam pembuatan kosmetik sebagai bahan yang berfungsi sebagai pelembab yang sangat efektif untuk kulit. Selain itu, gliserin juga dapat menyembuhkan kulit kering, kasar, dan iritasi. Sabun dengan berat molekul rendah akan lebih mudah larut dan memiliki struktur sabun yang lebih keras. Sabun memiliki kelarutan yang tinggi dalam air, tetapi sabun tidak larut menjadi partikel yang lebih kecil, melainkan larut dalam bentuk ion. Prinsip dalam proses saponifikasi, yaitu lemak akan terhidrolisis oleh basa, menghasilkan gliserol dan sabun mentah. Proses pencampuran antara minyak dan alkali kemudian akan membentuk suatu cairan yang mengental, yang disebut *trace* (Wayan, 2018).

Jenis alkali yang umum digunakan dalam proses saponifikasi adalah NaOH, KOH, Na_2CO_3 , NH_4OH , dan etanolamin. NaOH, atau yang biasa dikenal dengan soda kaustik dalam industri sabun, merupakan alkali yang paling banyak digunakan dalam pembuatan sabun keras. KOH banyak digunakan dalam

pembuatan sabun cair karena sifatnya yang mudah larut dalam air. Na_2CO_3 (abu soda/natrium karbonat) merupakan alkali yang murah dan dapat menyabunkan asam lemak, tetapi tidak dapat menyabunkan trigliserida (minyak atau lemak).

Etanolamin merupakan golongan senyawa amin alkohol. Senyawa tersebut dapat digunakan untuk membuat sabun dari asam lemak. Sabun yang dihasilkan sangat mudah larut dalam air, mudah berbusa, dan mampu menurunkan kesadahan air. Sabun yang terbuat dari ethanalamines dan minyak kelapa menunjukkan sifat mudah berbusa tetapi sabun tersebut lebih umum digunakan sebagai sabun industri dan deterjen, bukan sebagai sabun rumah tangga (Wayan, 2018).

2.1.2 Jenis-Jenis Sabun

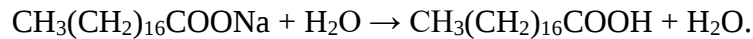
Sesuai perkembangan zaman, sabun memiliki karakteristik dari berbagai bentuk sabun yaitu:

1. Sabun cair merupakan sabun yang terbuat dari minyak kelapa, minyak zaitun, minyak jarak dan minyak lainnya menggunakan alkali KOH, berbentuk cair yang tidak mengental pada suhu kamar. Keunggulan dari sabun cair sendiri yakni lebih praktis, mudah larut dalam air sehingga hemat air, mudah berbusa menggunakan spon, lebih higienis, mengandung lebih banyak pelembab untuk kulit, dan memiliki kadar pH yang lebih rendah dibanding sabun padat.
2. Sabun keras, terbuat dari lemak netral padat dari minyak yang telah keras (minyak kelapa, minyak kelapa sawit, dll) dengan proses *hidrogenasi*, menggunakan alkali NaOH serta sukar larut dalam air. Sabun jenis ini dapat digunakan untuk segala jenis kulit dan kebutuhan. Kelebihan dari sabun padat ini adalah lebih ekonomis, lebih cocok untuk kulit berminyak, kadar pH lebih tinggi dibandingkan sabun cair, sedangkan kekurangan dari sabun padat yakni kemungkinan terkontaminasi bakteri sehingga dapat menimbulkan penyakit dan penggunaannya kurang praktis.

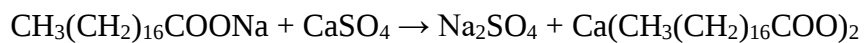
2.1.3 Sifat Sabun

Sifat-sifat sabun dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Sabun merupakan garam alkali dari asam lemak bersuhu tinggi yang akan terhidrolisis parsial oleh air yang dapat membuat larutan menjadi bersifat basa dalam air. Contohnya:



2. Sabun akan menghasilkan buih bila diaduk dalam air, tetapi tidak bisa pada air sadah. Sabun dapat menghasilkan buih jika garam-garam alkali (Mg^{2+} dan Ca^{2+}) mengendap dalam air. Contohnya:



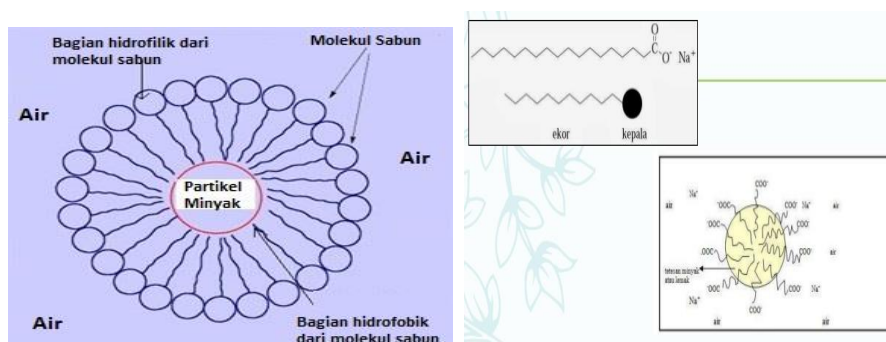
3. Sabun memiliki sifat pembersih karena sabun bersifat polar atau nonpolar.
4. Proses penghilangan kotoran
 - a. Sabun di dalam air menghasilkan busa yang akan menurunkan tegangan permukaan sehingga kain menjadi bersih dan air meresap lebih cepat ke permukaan kain.
 - b. Molekul dalam sabun yang bersifat *hidrofobik* di mana molekul pada kotoran dikelilingi dan diikat. Proses tersebut dinamakan emulsifikasi yang mana terbentuknya emulsi di antara molekul sabun dengan molekul kotoran.
 - c. Pada molekul dalam sabun yang bersifat *hidrofobik* berada di air di mana molekul pada kotoran akan keluar saat pembilasan dan kain berubah jadi bersih.

2.1.4 Kegunaan Sabun

Sabun mempunyai kemampuan untuk mengemulsi berupa kotoran berminyak yang mana dapat dibuang dengan cara pembilasan. Sabun memiliki sifat surfaktan (*surface active agent*) apabila dilarutkan dalam air akan menurunkan tegangan permukaan air, yang bersifat sebagai pembersih.

2.1.5 Mekanisme Kerja Sabun sebagai Penghilang Kotoran

Sabun terdiri dari molekul yang mempunyai rantai hidrogen $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}$ yang bertindak sebagai “ekor” alkil yang bersifat non-polar (tidak larut dalam air) dan COONa^+ sebagai “kepala” ion karboksilat yang bersifat polar (larut dalam air). Pada saat kita mencuci tangan menggunakan sabun ekor non-polar dari sabun akan menempel pada kotoran dan kepala polarannya menempel pada air. Hal tersebut menyebabkan tegangan permukaan air akan semakin berkurang, sehingga air akan menarik kotoran pada saat mencuci tangan (Rosen MJ & Kunjappu JT, 2012). Mekanisme kerja sabun dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Mekanisme Kerja Sabun

2.2 Bahan Pembuatan Sabun

Bahan pembuatan sabun terdiri dari bahan baku dan bahan pendukung. Bahan baku dalam pembuatan sabun adalah minyak atau lemak dan senyawa alkali, sedangkan bahan pendukung dalam pembuatan sabun digunakan untuk menambah kualitas produk sabun, baik dari nilai guna maupun nilai daya tarik. Bahan pendukung yang dipakai dalam pembuatan sabun cair yakni serai wangi, *Sodium Hydroxida* (NaOH), *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS), *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC), dan Asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$).

2.2.1 Bahan Baku Pembuatan Sabun

Bahan baku merupakan bahan utama yang sangat dibutuhkan untuk menghasilkan suatu produk. Dalam pembuatan sabun bahan utama yang digunakan yakni minyak dan alkali. Berikut beberapa bahan baku dalam pembuatan sabun.

1. Alkali

Senyawa alkali merupakan garam terlarut dari logam alkali seperti kalium atau natrium. Alkali merupakan bahan kimia yang bersifat basa yang akan bereaksi serta menetralkan asam. Senyawa alkali yang umum digunakan adalah KOH dan NaOH. NaOH digunakan dalam pembuatan sabun padat sedangkan KOH banyak digunakan dalam pembuatan sabun cair karena sifatnya yang mudah larut dalam air. Dalam penelitian ini digunakan alkali KOH dalam pembuatan sabun cair. Berikut beberapa senyawa alkali yang digunakan dalam pembuatan sabun.

a. Kalium Hidroksida (KOH)

Kalium Hidroksida atau *potassium hydroxida* adalah senyawa alkali berwujud padat berwarna putih, bersifat higroskopis dan korosif serta dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Kalium Hidroksida merupakan senyawa yang memiliki berat molekul 56,1 gr/mol. Senyawa KOH larut dalam air dan bersifat basa kuat, mempunyai titik leleh 406°C, titik didih 1320°C, dan densitas 1100 gr/L (25°C). Kristal KOH merupakan zat yang bersifat higroskopis sehingga harus disimpan di tempat yang tertutup rapat untuk mengurangi konsentrasi basa yang diperlukan. Kristal KOH dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Kalium Hidroksida

Dalam pembuatan sabun, penambahan KOH harus dilakukan dengan jumlah yang tepat. Apabila terlalu pekat atau berlebih, maka alkali bebas tidak berikatan dengan trigliserida atau asam lemak akan terlalu tinggi sehingga dapat menyebabkan iritasi kulit. Namun, apabila terlalu encer atau jumlahnya terlalu sedikit, maka sabun yang dihasilkan akan mengandung asam lemak bebas yang tinggi. Asam lemak bebas pada sabun dapat mengganggu proses emulsi sabun dan kotoran pada saat sabun digunakan (Kamikaze, 2002).

Sifat fisik dan kimia KOH dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Sifat Fisik dan Kimia KOH

Massa molar	56,11 g/mol
Wujud	Padatan putih
Specific gravity	2,044
Titik leleh	380 °C
Titik didih	1320 °C
Kelarutan dalam air	97 gr/L gr H ₂ O (H ₂ O = 0 °C)
Keasaman (pKa)	0

Sumber: Perry's Chemical Engineering Handbook 7th, 1997

KOH banyak digunakan dalam pembuatan sabun cair karena sifatnya yang mudah larut dalam air. Kegunaan KOH dalam pembuatan sabun cair yaitu membantu proses saponifikasi dan mempengaruhi karakteristik mutu sabun di antaranya kadar asam lemak bebas dan alkali bebas. Kadar asam lemak bebas dan alkali bebas yang tinggi menyebabkan iritasi pada kulit (Maria dkk, 2018).

b. Natrium Hidroksida (NaOH)

Natrium hidroksida atau *sodium hidroksida* merupakan jenis basa logam kaustik yang berwujud padat berwarna putih dan bersifat higroskopis. Natrium Hidroksida sangat larut dalam air dan akan melepaskan panas ketika dilarutkan. NaOH atau yang biasa dikenal dengan soda kaustik dalam industri sabun merupakan alkali yang paling banyak digunakan dalam pembuatan sabun keras. Sifat fisika NaOH dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Sifat Fisika NaOH

Karakteristik	Nilai	Satuan
Berat Molekul	40	g/mol
Titik Leleh	323	°C
Titik Didih	1390	°C
Temperatur Kritis	2546,85	°C
Tekanan Kritis	249,998	Atm
Kapasitas Panas	-36,56	Kkal/Kg. °C
Densitas	1090,41	Kg.M ³
Panas Pembentukan	-47,234	Kkalkmol
Wujud	Padat, Kristal Higroskopis	
Warna	Putih	

Sumber: Perry's Chemical Engineering Handbook 7th, 1997

Soda Kaustik (NaOH) merupakan bahan utama dalam pembuatan sabun padat dalam proses saponifikasi di mana minyak atau lemak akan diubah menjadi sabun. Tanpa adanya basa NaOH maka proses kimia sabun tidak akan terjadi. Setelah menjadi sabun maka NaOH akan terpecah menjadi unsur penyusunnya

yang netral. Konsentrasi NaOH berpengaruh terhadap kualitas sabun yang dibuat karena dapat mempengaruhi pH sabun, asam lemak bebas, alkali bebas, kadar fraksi tak tersabunkan, asam lemak sabun, dan kadar air. Tinggi rendahnya konsentrasi NaOH yang digunakan sangat berpengaruh terhadap kesempurnaan proses saponifikasi pada sabun sehingga secara tidak langsung juga akan mempengaruhi kualitas sabun yang dihasilkan (Baiq dkk, 2015).

2. Asam lemak

Asam lemak merupakan senyawa turunan dari trigliserida dan fosfolipid. Di dalam lemak ataupun minyak terdapat kandungan trigliserida dan asam lemak yang dimanfaatkan dalam proses membuat sabun. Asam lemak merupakan asam karboksilat berantai panjang yang panjangnya berbeda-beda tergantung jenisnya tetapi bukan siklik atau bercabang. Asam lemak dibagi menjadi dua golongan, yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak jenuh merupakan asam lemak yang tidak memiliki ikatan rangkap sedangkan asam lemak tak jenuh merupakan asam lemak yang memiliki satu atau lebih ikatan rangkap. Masing-masing jenis asam lemak akan memberikan sifat yang berbeda pada sabun yang terbentuk. Asam lemak rantai pendek dan ikatan tak jenuh akan menghasilkan sabun cair. Asam lemak rantai panjang dan jenuh menghasilkan sabun padat (Maytasari, 2010).

Karakteristik suatu sabun sangat dipengaruhi oleh asam-asam lemak yang digunakan. Setiap minyak memiliki jenis asam lemak yang dominan. Minyak nabati berfungsi sebagai sumber asam lemak dalam pembuatan sabun. Asam lemak yang digunakan berupa minyak atau lemak di antaranya minyak goreng (*frying oil*), minyak kelapa (*coconut oil*), minyak sawit (*palm oil*), minyak jarak (*ricinus oil*), lemak sapi, dll. Dalam penelitian ini, minyak nabati yang digunakan adalah minyak kelapa (*Virgin Coconut Oil*).

a. Minyak Kelapa (*Coconut Oil*)

Minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*) merupakan minyak yang dihasilkan dari kelapa organik yang segar dengan kualitas tinggi karena tidak mengandung kolesterol, kadar air dan asam lemak bebas kecil, serta kandungan asam laurat cukup tinggi. Kandungan antioksidan di dalam VCO sangat tinggi

seperti tokoferol yang berfungsi untuk mencegah penuaan dini dan menjaga vitalitas tubuh (Setiaji dan Surip, 2006). Di samping itu VCO pun efektif dan aman digunakan sebagai moisturizer pada kulit sehingga dapat meningkatkan hidrasi kulit. Minyak kelapa dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Minyak Kelapa

Minyak kelapa merupakan minyak nabati yang sering digunakan dalam industri pembuatan sabun. Minyak kelapa berfungsi sebagai penghasil busa dalam sabun. Minyak kelapa berwarna kuning pucat dan diperoleh melalui ekstraksi daging buah yang dikeringkan (kopra). Minyak kelapa memiliki kandungan asam lemak jenuh yang tinggi sehingga minyak kelapa tahan terhadap oksidasi yang menimbulkan bau tengik. Minyak kelapa juga memiliki kandungan asam lemak kaproat, kaprilat, dan kaprat. Komposisi asam lemak pada minyak kelapa (*Coconut oil*) dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa

Jenis Asam Lemak	Kandungan (%)
Asam Kaproat	0,2-0,8
Asam Kaprilat	6-9
Asam Kaprat	6-10
Asam Laurat	46-50
Asam Miristat	17-19
Asam Palmitat	8-10
Asam Stearat	2-3
Asam Oleat	5-7
Asam Linoleat	1-2,5

Sumber: Sciencelab, 2013

2.2.2 Bahan Pendukung dalam Pembuatan Sabun

Bahan pendukung dalam pembuatan sabun digunakan untuk menambah kualitas produk sabun, baik dari nilai guna maupun nilai daya tarik. Bahan pendukung yang dipakai dalam pembuatan sabun cair yakni serai wangi, *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS), *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC), Asam sitrat ($C_6H_8O_7$),

dan air. Berikut beberapa bahan pendukung yang digunakan dalam pembuatan sabun.

1. Serai

Tanaman serai berasal dari Asia Tenggara atau Sri Lanka. Tanaman ini tumbuh alami di Sri Lanka, dan dapat ditanam pada berbagai kondisi tanah di daerah tropis yang lembab, cukup sinar matahari dan memiliki curah hujan relatif tinggi. Tempat penyebaran tanaman serai di daerah tropis termasuk Indonesia, Malaysia, Thailand, India dan Asia Selatan. Tanaman Serai di Indonesia terutama banyak tumbuh di daerah Tasik Malaya, Bandung, Palembang, Padang, Ujung Padang dan Solo (Ketaren, 1984).

Tanaman serai dikenal dengan nama berbeda di setiap daerah. Daerah Jawa mengenal serai dengan nama sereh atau sere. Daerah Sumatera dikenal dengan nama serai, sorai atau sanger-sange. Kalimantan mengenal nama serai dengan nama belangkak, senggatau atau salai. Nusa Tenggara mengenal serai dengan nama see, nau sina atau bu muke. Sulawesi mengenal nama serai dengan nama tonti atau sare sedangkan di Maluku dikenal dengan nama hisa atau isa. Serai memiliki banyak manfaat untuk dikonsumsi, sebagai aromaterapi dan pestisida alami. Di Indonesia terdapat dua jenis tanaman serai yaitu serai dapur (*Cymbopogon citratus*) dan serai wangi (*Cymbopogon nardus*).

a. Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle)

Tanaman serai wangi sudah lama dibudidayakan di Indonesia. Serai wangi dengan nama latin *Cymbopogon nardus* L. Rendle merupakan tanaman yang berasal selatan India atau Srilanka. Serai wangi memiliki bentuk batang yang lebih ramping, dan berwarna merah keunguan serta memiliki aroma yang lebih kuat dibandingkan dengan serai dapur. Daun tanaman serai wangi lebih panjang dan lebar serta mengandung *citronella oil* yang bersifat sebagai antiseptik, antimikroba dan antijamur. Serai wangi dibudidayakan untuk menghasilkan minyak atsiri. Minyak atsiri banyak dibutuhkan pada industri kecantikan dan kesehatan, salah satunya digunakan dalam pembuatan sabun.

Menurut *Integrated Tasonomic Information System* (2005). Berikut klasifikasi serai wangi.

Kingdom : *Plantae*
 Subkingdom : *Tracheobionta*
 Super Divisi : *Spermatophyta*
 Divisi : *Magnoliophyta*
 Kelas : *Liliopsida*
 Sub Kelas : *Commelinidae*
 Ordo : *Poales*
 Famili : *Poacea*
 Genus : *Cymbopogon*
 Spesies : *Cymbopogon nardus* L. Rendle

Serai wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) adalah salah satu tanaman yang mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri bermanfaat sebagai antijamur dan antibakteri sehingga dapat dipergunakan sebagai antimikroba alami. Kandungan dari serai terutama minyak atsiri dengan komponen sitronelal 30-45%, geraniol 65-90%, sitronelol 11-15%, geranil asetat 3-8%, sitronelil asetat 2-4%, sitral, kavikol, eugenol, elemol, kadinol, kadinen, vanilin, limonen, kamfen. Komponen kimia dalam minyak serai wangi cukup kompleks. Serai wangi dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle)

Senyawa sitronelal dan geraniol yang terkandung dalam serai wangi mempengaruhi kualitas minyak, menentukan intensitas bau, harum, serta nilai harga minyak serai wangi. Serai wangi mengandung senyawa steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, alkaloid dan minyak atsiri yang mampu menghambat aktivitas bakteri, sehingga sangat cocok dijadikan bahan tambahan

antioksidan dalam pembuatan sabun. Berikut fungsi senyawa yang terkandung dalam serai wangi:

- a. Steroid atau triterpenoid memiliki fungsi sebagai antijamur, antibakteri dan antijamur.
- b. Flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba. Sebagai antioksidan flavonoid dapat mencegah oksidasi lipid dengan mengikat (mengkelat) logam-logam yang bersifat prooksidan.
- c. Saponin Saponin berfungsi sebagai pembersih dan memiliki sifat-sifat antiseptik.
- d. Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan untuk meratakan warna kulit.
- e. Alkaloid merupakan senyawa yang berkhasiat sebagai antimikroba
- f. Minyak atsiri merupakan senyawa yang berkhasiat untuk mengatasi kulit yang berminyak dan menghilangkan gatal-gatal di kulit.

2. *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS)

Sodium lauryl sulfate merupakan kristal berwarna putih susu, sedikit berbau lemak, mempunyai rumus molekul $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}$ dan berat molekul 208,38. *Sodium lauryl sulfate* bersifat surfaktan yang memiliki efek pengental dan berfungsi sebagai pembersih dan menghasilkan busa. *Sodium lauryl sulfate* merupakan salah satu surfaktan anionik yang terkandung di dalam sabun, shampo, detergen, dan bahan pembersih lainnya. *Sodium lauryl sulfate* dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 *Sodium Lauryl Sulfate*

Sifat fisik dan kimia SLS dapat dilihat pada Tabel 2.5.

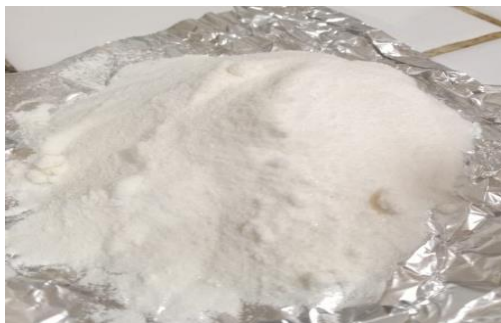
Tabel 2.5 Sifat Fisik dan Kimia <i>Sodium Lauryl Sulfate</i>	
Karakteristik	Sifat <i>Sodium Lauryl Sulfate</i>
Keadaan Fisik	Padat
Penampilan	Putih Pucat
Titik Leleh/Rentang	206°C / 402.8°F
Titik Nyala	> 150°C / > 302°F
Batas Temperatur Terendah	250°C / 482°F
pH	8.5 – 10 (1% Larutan)

Sumber: Thermofisher Scientific, 2018

3. *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC)

Carboxy Methyl Cellulose (CMC) merupakan senyawa turunan selulosa yang memiliki rumus $C_8H_{16}NaO_8$. Fungsi CMC pada proses pembuatan sabun adalah sebagai pengental, penstabil emulsi atau suspensi dan bahan pengikat (Hasibuan, 2016). Sifat-sifat CMC yaitu mudah larut dalam air dingin maupun dalam air panas, bersifat stabil dalam lemak dan tidak larut dalam pelarut organik serta zat inert (Kamal, 2010).

Carboxy Methyl Cellulose (CMC) dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. *Carboxy Methyl Cellulose*

Dalam berbagai aplikasi CMC telah banyak digunakan diantaranya bidang pangan, kimia, perminyakan, pembuatan kertas, tekstil, serta bangunan. Pemanfaatan CMC dalam industri dapat dilihat pada Tabel 2.6.

Tabel 2.6 Pemanfaatan CMC dalam Industri

Industri	Penggunaan	Fungsi
Pangan	Makanan Beku	Menghambat Pertumbuhan Kristal Es
	Topping Makanan, Minuman Sirup	Pengental
	Makanan Yang Dipanggang	Pengental, Pemberi Rasa
	Makanan Hewan	Pengikat Air, Pengental,
Farmasi	Tablet	Pengikat, Pembantu Pembutiran
	Obat Pencakar	Pengikat Air
	Obat Salep, Lotion	Penstabil, Pengental, Pembentuk Film
Kosmetik	Pasta Gigi	Pengental, Pensuspensi
	Gigi Palsu	Perekat
	Produk Gel	Pembentuk Gel, Pembentuk Film
Produk Kertas	Aditif	Pengikat, Peningkat Kekuatan
	Pelapis, Ukuran	Pengikat Air, Pengental
Perekat	Perekat Pelapis	Pengikat Air
	Dinding Tembakau	Pengikat, Pembentuk Film
Keramik	Pelapis	Pengikat
	Batang Pengelas	Pengikat, Pengental, Pelumas
Deterjen	Sabun Cuci	Antiredoposisi
Tekstil	Pelengkung	Pengukur Besar Film, Perekat

Sumber: Linda dkk, 2013

4. Asam sitrat ($C_6H_8O_7$)

Asam sitrat merupakan asam organik yang larut dalam air yang sering digunakan dalam industri pangan, kosmetik, farmasi dan lain-lain. Rumus kimia asam sitrat yakni $C_6H_8O_7$ atau $CH_2(COOH)-COH(COOH)-CH_2(COOH)$. Asam sitrat memiliki konsentrasi tinggi mencapai 8% pada sayuran dan buah, yakni pada jeruk lemon dan limau (misalnya jeruk nipis dan jeruk purut). Asam sitrat dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7. Asam Sitrat

Dalam pembuatan sabun Asam sitrat berfungsi untuk mengatur pH dan sebagai bahan pengawet. Asam sitrat mempunyai sifat kimia maupun sifat fisik, berikut sifat-sifat yang dimiliki oleh asam sitrat (Othmer, 1987):

a. Sifat Kimia

- Kontak langsung dengan asam sitrat kering atau larutan dapat menyebabkan iritasi kulit dan mata.
- Dapat digunakan sebagai pengawet dan penghilang kesadahan dalam air karena mampu mengikat ion-ion logam.
- Larutan asam sitrat bila dicampur dengan asam sulfat atau oksidasi dengan larutan potassium permanganate menghasilkan asam acetonedicarboxylic.
- Asam sitrat terdekomposisi menjadi asam oksalat dan asam asetat jika dibakar dengan potassium hydroxide atau dioksidasi dengan asam nitrit.

b. Sifat Fisik

Berikut sifat fisik asam sitrat dapat dilihat pada Gambar 2.7.

Tabel 2.7 Sifat Fisik Asam Sitrat

Parameter	Anhydrous	Monohydrate
Rumus molekul	$C_6H_8O_7$	$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$
Berat molekul	192,12	210,14
Bentuk	Kristal tidak berwarna	Kristal tidak berwarna
Spesific gravity	1,665 (20 °C)	1,542 (20 °C)
Melting point	153 °C	70-75 °C
Boiling point	Terdekomposisi pada 175 °C	Terdekomposisi pada 175°C
Proses pembentukan	Kristalisasi dari larutan panas (>36,6°C)	Kristalisasi dari larutan dingin (>36,6°C)
Kelarutan	Larut dalam air, agak larut dalam alkohol dan diethyl eter, tidak larut dalam karbon disulfida, karbon tetra klorida, kloroform, benzene dan toluene	Larut dalam air, agak larut dalam alkohol dan diethyl eter, tidak larut dalam karbon disulfida, karbon tetra klorida, kloroform, benzene dan toluene
Kelarutan di air pada 30°C	64,3 %	64,3 %
Kelarutan di air pada 70°C	76,2%	76,2 %
Struktur Kristal	Orthorombic	Orthorombic
Panas pembakaran	468,5 kcal/mol	466,6 kcal/mol

Sumber: Othmer, 1987

5. Air

Air dengan rumus kimia H_2O merupakan satu molekul air yang tersusun atas dua atom hidrogen yang terikat secara kovalen pada satu atom oksigen. Air bersifat tidak berwarna, tidak berasa, dan tidak berbau pada kondisi standar, yaitu pada tekanan 100 kPa dan suhu 273 K ($0^{\circ}C$). Air merupakan suatu pelarut yang penting, yang memiliki kemampuan untuk melarutkan banyak zat kimia lainnya. Dalam pembuatan sabun, air digunakan sebagai pelarut. Air yang digunakan adalah air suling (Aquadest).

2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang menghasilkan pigmen kuning, bersifat anaerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab terbesar penyakit kulit. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat di antaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. Infeksi pada kulit biasanya diawali dengan munculnya nanah berukuran kecil yang dapat berkembang menjadi infeksi berat yang dapat menyebar hingga otot, paru-paru dan katup jantung, yaitu endokarditis.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Ekstraksi pelarut bisa disebut ekstraksi cair-cair yaitu proses pemindahan solut dari pelarut satu ke pelarut lainnya dan tidak bercampur dengan cara pengocokkan berulang. Prinsip dasar dari ekstraksi pelarut ini adalah distribusi zat terlarut dalam dua pelarut yang tidak bercampur (Cahyani, 2014).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam jaringan tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut tertentu. Sedangkan ekstrak merupakan larutan pekat yang diperoleh dari proses mengekstraksi zat aktif dengan pelarut tertentu, selanjutnya pelarut akan diuapkan dengan proses pemekatan. Senyawa organik dipisahkan dengan cara ekstraksi

cair-cair, yaitu pemisahan zat berdasarkan perbandingan distribusi zat tersebut yang terlarut dalam dua pelarut yang tidak saling melarutkan.

Ekstraksi secara umum dapat digolongkan menjadi dua yaitu ekstraksi padat cair dan ekstraksi cair-cair. Pada ekstraksi cair-cair, senyawa yang dipisahkan terdapat dalam campuran yang berupa cairan, sedangkan ekstraksi padat-cair adalah suatu metode pemisahan senyawa dari campuran yang berupa padatan. Pada penelitian ini dilakukan cara ekstraksi cair-cair yakni menggunakan pelarut etanol. Ekstraksi cair bisa dilakukan dengan berbagai metode yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi, antara lain cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, serta cara panas yaitu refluks dan sokletasi. Pada penelitian ini dilakukan metode ekstraksi soxhlet untuk mendapatkan ekstrak serai wangi. Berikut adalah penjelasan singkat beberapa metode ekstraksi.

1. Ekstraksi cara dingin

Metode ini dilakukan tanpa pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung yang bertujuan agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak. Beberapa jenis metode ekstraksi cara dingin, yaitu:

a. Maserasi atau dispersi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut dan dengan pengadukan beberapa kali pada suhu ruangan. Sampel biasanya direndam selama 3-5 hari, sambil diaduk sesekali untuk mempercepat proses pelarutan komponen kimia yang terdapat. Maserasi dilakukan dalam botol yang berwarna gelap dan ditempatkan pada tempat yang terlindung cahaya. Ekstraksi dilakukan berulang-ulang kali sehingga sampel terekstraksi secara sempurna yang ditandai dengan pelarut pada sampel berwarna bening. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak, peralatan yang digunakan relatif sederhana, murah, dan mudah didapat. Namun metode ini juga memiliki beberapa kelemahan yaitu waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak, dan adanya kemungkinan bahwa senyawa tertentu tidak dapat diekstrak karena kelarutannya yang rendah pada suhu ruang.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Tetapi efektivitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Hasrianti dkk, 2016). Prosedur metode ini yaitu bahan direndam dengan pelarut, selanjutnya pelarut dialirkan secara terus menerus sampai warna pelarut tetap bening. Kelebihan dari metode ini yaitu tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dengan ekstrak, sedangkan kelemahan metode ini adalah jumlah pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan proses juga memerlukan waktu yang cukup lama, serta tidak meratanya kontak antara padatan dengan pelarut.

2. Ekstraksi cara panas

Metode ini dilakukan dengan cara pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung. Adanya pemanasan secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin. Beberapa jenis metode ekstraksi cara panas, yaitu:

a. Ekstraksi refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor) (Hasrianti dkk, 2016). Umumnya ekstraksi dilakukan 3-5 kali pengulangan proses pada rafinat pertama. Kelebihan metode refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat diekstrak dengan metode ini. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang banyak (Irawan, B., 2010).

b. Ekstraksi soxhlet

Sokletasi merupakan suatu cara pengekstraksian tumbuhan dengan memakai alat soklet. Pada metode ini, padatan disimpan dalam alat soxhlet dan dipanaskan, sedangkan yang dipanaskan hanyalah pelarutnya. Pelarut terdinginkan dalam kondensor, kemudian mengekstraksi padatan. Kelebihan metode soxhlet adalah proses ekstraksi berlangsung secara kontinu, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih sebentar dan jumlah pelarut yang lebih sedikit bila

dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Kelemahan dari metode ini adalah dapat menyebabkan rusaknya solute atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus.

2.5 Etanol (C_2H_5OH)

Etanol merupakan senyawa kimia dengan rumus molekul C_2H_5OH yang berwujud cairan bening, mudah menguap, dan disusun oleh molekul polar. Etanol merupakan senyawa polar yang dapat larut dalam air. Sifat polar yang dimiliki oleh etanol, membuat zat kimia ini sering digunakan sebagai pelarut obat, pengawet dalam dunia medis, desinfektan serta biasanya digunakan sebagai antidotum (senyawa yang mengurangi atau menghilangkan toksisitas) keracunan metanol dan etilen glikol.

Dalam pembuatan sabun, etanol berfungsi sebagai pelarut karena sifatnya yang mudah larut dalam air dan lemak. Selain sebagai pelarut etanol juga berfungsi sebagai pemberi efek pengawet yang dapat menghambat timbulnya ketengikan pada berbagai produk berbahan baku minyak/lemak (Setiawan, 2018). Etanol memiliki sifat fisik dan kimia, sifat kimia etanol, yaitu mudah menguap, mudah terbakar, tidak berasap dan nyala api kebiru-biruan, berat jenis lebih kecil dari berat jenis air, sedangkan sifat fisik etanol dapat dilihat pada Tabel 2.8.

Tabel 2.7 Sifat Fisik Etanol

Komponen	Sifat
Masa Molekul Relatif	46,07 G/Mol
Titik Beku	-114,1 °C
Titik Didih Normal	78,32 °C
Densitas Pada 20 °C	0,7893 G/Mol
Kelarutan Dalam Air 20 °C	Sangat Larut
Viskositas Pada 20 °C	1,17 Cp
Kalor Spesifik Pada 20 °C	0,579 Kal/G
Kalor Pembakaran Pada 25 °C	7092,1 Kal/G
Kalor Penguapan 78,32 °C	200,6 Kal/G

Sumber: Rizana, 2000

2.6 Antiseptik

Antiseptik merupakan suatu zat kimia yang memiliki kerja untuk menghancurkan mikroorganisme ataupun menghambat kerjanya, sehingga dapat mencegah terjadinya suatu infeksi. Antiseptik berbeda dengan antibiotik dan disinfektan, yaitu antibiotik digunakan untuk membunuh mikroorganisme di dalam tubuh, dan disinfektan digunakan untuk membunuh mikroorganisme pada benda mati. Hal ini disebabkan antiseptik lebih aman diaplikasikan pada jaringan hidup daripada disinfektan. Namun, antiseptik yang kuat dan dapat mengiritasi jaringan kemungkinan dapat dialih fungsikan menjadi disinfektan contohnya adalah fenol yang dapat digunakan baik sebagai antiseptik maupun disinfektan.

2.7 Analisis Sabun Cair

2.7.1 Derajat Keasaman (pH)

Derajat Keasaman (pH) merupakan singkatan dari *Power of Hydrogen* yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan. pH merupakan parameter yang sangat penting dalam pembuatan sabun, karena nilai pH menentukan kelayakan sabun untuk digunakan. Syarat standar mutu pH untuk sabun mandi berkisar antara 8-11 (SNI 1996).

Pengukuran pH dapat dilakukan dengan menggunakan kertas lakmus dan pH meter. Namun penggunaan kertas lakmus pada pengukuran pH ini kurang efektif karena sensitivitasnya kecil dan nilai pH yang terbaca merupakan nilai pendekatan. Selain itu pH meter banyak digunakan, tetapi kurang praktis dan dapat berinterferensi dengan mediumnya (Aditya, 2006).

2.7.2 Stabilitas Busa

Busa merupakan salah satu parameter yang paling penting dalam menentukan mutu produk-produk kosmetik, terutama sabun. Tujuan pengujian busa adalah untuk melihat daya busa dari sabun cair. Busa yang stabil dalam waktu lama lebih diinginkan karena busa dapat membantu membersihkan tubuh. Stabilitas busa dinyatakan sebagai ketahanan gelembung sabun untuk mempertahankan ukuran atau ketahanan pecahnya lapisan film dari gelembung.

Stabilitas busa setelah 5 menit busa harus mampu bertahan antara 60-70% dari volume awal (Rinaldi, 2021).

2.7.3 Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen. Pengukuran kadar air pada suatu bahan perlu dilakukan karena air dapat mempengaruhi kualitas dan daya simpan sabun yang dibuat, serta mempengaruhi kelarutan sabun dalam air pada saat digunakan (Widiyanti, 2009). Syarat standar mutu kadar air untuk sabun mandi cair adalah 15% (SNI 1994). Semakin banyak air yang terkandung dalam sabun maka akan semakin meningkatkan daya tengik sabun (Nugroho, 2017).

2.7.4 Asam Lemak Bebas

Asam lemak bebas adalah jumlah asam lemak yang berada dalam sabun yang belum bereaksi dengan alkali (senyawa natrium atau senyawa trigliserida). Tingginya asam lemak bebas pada sabun dapat mengurangi efisiensi proses pembersihan kotoran berupa minyak atau lemak pada saat sabun digunakan. Pada saat sabun digunakan, sabun tersebut tidak langsung menarik kotoran (minyak), tetapi akan menarik komponen asam lemak bebas yang masih terdapat dalam sabun, sehingga mengurangi daya membersihkan sabun tersebut. Trigliserida apabila bereaksi dengan air maka menghasilkan gliserol dan asam lemak bebas (Zulkifli dkk, 2014).

Sabun cair yang berkualitas baik mempunyai kandungan asam lemak yakni <2,5%. Acuan pengujian kadar ALB dilakukan sesuai dengan SNI 06-3532-1994.

2.7.5 Alkali Bebas

Alkali bebas merupakan residu yang tidak bereaksi pada pembentukan sabun dan tidak diikat sebagai senyawa. Alkali bebas dalam sabun tidak boleh lebih dari 0,1%, karena pada sabun cair alkali KOH yang digunakan mempunyai sifat yang keras dan dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Acuan pengujian kadar ALB dilakukan sesuai dengan SNI 06-3532-1994.

Alkali bebas akan semakin menurun akibat lamanya pengadukan dan akibat rasio air/sabun. Hal ini karena 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 (Kamikaze, 2002).

2.7.6 Organoleptik

Sifat organoleptik adalah sifat bahan yang berupa tanggapan manusia terhadap penampilan fisik sabun dengan menggunakan indera yaitu indera penglihatan, pembau dan perasa. Uji organoleptik sabun mandi cair yang diuji di antaranya adalah warna, bau dan bentuk. Organoleptik produk dapat mempengaruhi minat konsumen. Pengujian organoleptik sabun cair dilakukan dengan metode hedonik untuk mengukur tingkat kesukaan terhadap produk dengan menggunakan lembar penilaian. Berikut beberapa kriteria penilaian terhadap kesukaan sabun cair:

1. Bentuk : Sabun harus terdapat dalam bentuk cair atau lunak yang homogen.
2. Bau : Bau sabun harus sesuai dengan *fragrance* yang ditambahkan.
3. Warna : Warna sabun dapat diatur dengan zat pewarna sesuai keinginan produsen.

2.7.7 Uji Bakteri

Uji bakteri bertujuan untuk mengetahui kemampuan sabun mandi cair dalam menghambat pertumbuhan bakteri sebagai antiseptik. Uji bakteri menggunakan media agar dengan menggoreskan sampel sabun cair, sabun kemasan dan tanpa sabun secara zig-zag di atas media agar. Peralatan yang digunakan dalam uji bakteri harus disterilkan terlebih dahulu. Kemudian media agar yang telah dibuat dimasukkan ke dalam cawan petri. Goreskan tangan yang kotor pada permukaan media agar dengan pola zig-zag untuk perkembangbiakan bakteri kemudian disimpan di inkubator. Pertumbuhan bakteri diamati selama tiga hari dengan suhu dipertahankan 24-25°C.