

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Hakekat penelitian eksperimen (*experimental research*) adalah meneliti pengaruh perlakuan terhadap perilaku yang timbul akibat perilaku. Menurut Hadi (2012) penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan dari suatu perlakuan yang diberikan secara sengaja oleh peneliti. Sejalan dengan hal tersebut, penelitian eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan dengan melakukan manipulasi yang bertujuan untuk mengetahui akibat manipulasi terhadap perilaku individu yang diamati. Penelitian eksperimen pada prinsipnya dapat didefinisikan sebagai metode sistematis guna membangun hubungan yang mengandung fenomena sebab akibat (*casual-effect relationship*) (Sukardi 2011:179).

Selanjutnya, metode eksperimen adalah metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan (Sugiyono 2011:72). Berdasarkan definisi dari beberapa ahli tersebut, dapat dipahami bahwa penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian suatu treatment atau perlakuan terhadap subjek penelitian. Jadi penelitian eksperimen dalam pendidikan adalah kegiatan penelitian yang bertujuan untuk menilai pengaruh suatu perlakuan atau treatment pendidikan terhadap tingkah laku siswa atau menguji hipotesis tentang ada-tidaknya pengaruh tindakan jika dibandingkan dengan tindakan lain.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun teh hijau (*Camellia Sinensis*) sebelum dan setelah diformulasikan kedalam sediaan gel *hand sanitizer*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 500 gram daun teh hijau (*Camellia Sinensis*).

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

##### **3.2.1 Waktu Penelitian**

Waktu yang digunakan peneliti untuk penelitian ini dilaksanakan sejak tanggal dikeluarkannya ijin penelitian yaitu bulan Maret-Mei 2022, 1 bulan pengumpulan data dan 1 bulan pengolahan data yang meliputi penyajian dalam bentuk skripsi dan proses bimbingan berlangsung.

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

Tempat pelaksanaan penelitian ini adalah Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, gelas kimia, batang pengaduk, gelas ukur, cawan petri, timbangan analitik, cawan porselin, *laminar air flow* (LAF), mortar, pipet tetes, pipet ukur, mortar, pH meter, prompipet, stamper, erlenmayer, autoclaf, termometer, ose, corong gelas, bola hisap, batang pengaduk, pembakar spirtus, piknometer.

**Tabel 3.** Nama alat, ukuran alat, dan merek alat penelitian

Nama Alat	Ukuran	Merek
Gelas kimia	50 ml; 100 ml; 250 ml	Pyrex
Gelas ukur	100 ml	Iwaki
Batang pengaduk kaca	20 cm	Rrc
Spatula stainless	15 cm	Stainless laon
Cawan petri	Ukuran 18 mm x 95 mm	Anumbra
Pipet ukur	10 ml	Pyrex
Pipet tetes	10 cm	OneMed
Cawan porselin	100 ml	Haldenwanger
Mikropipet	1 ml	Dragon Lab
Stamper dan alu	Diameter 10 cm	-
Piknometer	50 ml	Pyrex
Pembakar spiritus	250 ml	-
Ose bulat	-	-
Erlenmayer	100 ml; 250 ml	Pyrex
Oven listrik	53 L	Memmert Uf110
Grinder	-	-
Hot plate	-	Thermo Scirtific
Waterbath	-	Memmert
pH meter	-	EUTECH
Neraca analitik	-	Pioneer

Laminar air flow (LAF)	-	Horizontal
Inkubator	-	Memmert
Lemari es	-	Sharp
Colony counter	-	-

### 3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, aquades, Carbomer 940, daun teh hijau (*Camellia Sinensis*), Nutrient agar, Muller Hinton Agar, propilen glikol, NaCl 0,9%, etanol 70%, Gliserin, Metilparaben, TEA (trietanolamin).

**Tabel 4.** Nama bahan, ukuran bahan, dan merek bahan penelitian

<b>Nama Bahan</b>	<b>Jumlah</b>	<b>Merek</b>
Aquades	5 L	Smart Lab
Ethanol 70%	4 L	Pure
Gliserin	50 ml	Emsure
TEA	10 ml	Merck
Metilparaben	10 gram	Ueno
Propilen glikol	30 ml	Usp Grade
Nutrient agar	10 gram	HIMEDIA
Mueller hinton agar	18 gram	HIMEDIA

### 3.4 Variabel Penelitian

Setiap kegiatan penelitian tentu memusatkan perhatiannya pada beberapa fenomena atau gejala utama dan pada beberapa fenomena lain yang relevan. Menurut Sugiyono (2011), bahwa variabel penelitian merupakan suatu atribut atau sifat nilai dari orang, objek, atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Adapun variabel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah dua variabel, yaitu:

1. Variabel terikat atau *dependent variabel* (Y) adalah variabel penelitian yang diukur untuk mengetahui besarnya efek atau pengaruh variabel lain. Besar efek tersebut diamati dari ada tidaknya, timbul hilangnya, besar mengecilnya, atau berubahnya variasi yang tampak sebagai akibat perubahan pada variabel lain termaksud. Pada penelitian ini variabel

terikatnya yaitu efektivitas antibakteri ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap bakteri *E.coli*.

2. Variabel bebas atau *independent variabel* (X) yaitu suatu variabel yang variasinya mempengaruhi variabel lain. Dapat pula dikatakan bahwa variabel bebas adalah variabel yang pengaruhnya terhadap variabel lain ingin diketahui. Variabel ini dipilih dan sengaja dimanipulasi oleh peneliti agar efeknya terhadap variabel lain tersebut dapat diamati dan diukur. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu massa ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*).
3. Variabel kontrol yaitu variabel yang dikendalikan sehingga pengaruh bebas terhadap variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kontrol dalam penelitian yaitu media bakteri, formulasi, dan bahan penyusun gel *hand sanitizer*.

### **3.5 Sampel dan populasi penelitian**

#### **3.5.1 Populasi**

Sampel adalah sebagian dari populasi yang diambil sebagai sumber data dan dapat mewakili seluruh populasi. Metode pengambilan sampel dalam penelitian adalah pengambilan sampel acak sistematis (*Systematic Random Sampling*), pengambilan sampel pada teknik ini menetapkan sampel awal secara acak kemudian sampel selanjutnya dipilih secara sistematis berdasarkan pola tertentu. Pola umum dari teknik ini adalah mengambil bilangan kelipatan dari jumlah anggota populasi dengan jumlah sampel yang akan diambil. Sampel dalam penelitian ini adalah simplisia daun teh hijau (*Camellia sines*) yang didapatkan dari petani teh di Wlingi Blitar.

Subjek penelitian adalah teh hijau (*Camellia sines*) yang telah dikeringkan terpilih dengan menggunakan teknik *Systematic sampling*, namun dengan pertimbangan kualitas fisik dari simplisia teh hijau (*Camellia sines*). Sehingga peneliti akan mencari dan memilah produsen atau petani dari simplisia teh hijau (*Camellia sines*) yang memiliki kualitas yang baik. Dari teknik sampel sistematis didapatkan satu merek produk simplisia teh hijau (*Camellia sines*) dari petani di Wlingi Blitar.

#### **3.5.2 Sampel**

Populasi didefinisikan sebagai kelompok subjek yang hendak dikenai generalisasi hasil penelitian. Populasi juga didefinisikan sebagai keseluruhan

subjek penelitian. Adapun populasi dari penelitian ini adalah simplisia teh hijau (*Camellia sines*) yang diperoleh dari petani seberat 2000 gram.

### 3.5.3 Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini *non-probability sampling* dimana pengambilan sampel berdasarkan *quota sampling* yang terlebih dahulu jumlah sampel yang akan digunakan. Pada penelitian ini akan membutuhkan jumlah sampel simplisia teh hijau sebanyak 2000 gram.

### 3.5.4 Kriteria Sampel

Sampel teh hijau harus memenuhi kriteria pemilihan sampel. Sampel diambil dengan cara petikan kasar yaitu pucuk burung dengan beberapa daun tua. Tanaman teh hijau diambil yang telah berumur 2-4 tahun.

## 3.6 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional adalah suatu definisi mengenai variabel yang dirumuskan berdasarkan karakteristik-karakteristik variabel tersebut yang dapat diamati. Adapun definisi operasional dari variabel-variabel yang ada pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 5.** Definisi Operasional

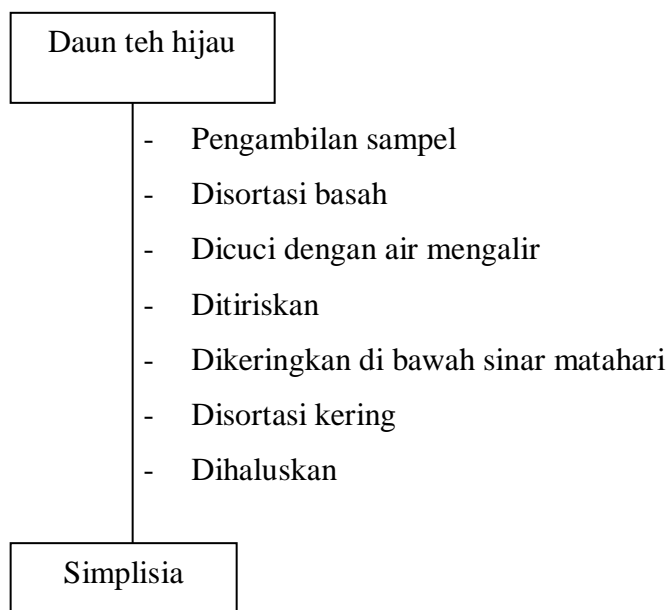
No.	Variabel	Definisi operasional	Cara ukur	Hasil ukur	Skala ukur
1	Efektivitas ekstrak daun teh hijau ( <i>Camellia sinensis</i> )	Efektivitas ekstrak daun teh hijau ( <i>Camellia sinensis</i> ) yaitu kemampuan ekstrak dapat membunuh bakteri <i>E.coli</i> .	Percentage kill	Hasil Percentage Kill yang baik adalah $\geq 90\%$ hal ini berarti sediaan yang diuji mampu membunuh bakteri dengan baik.	Rasio

2	Formulasi sediaan gel hand sanitizer ekstrak daun teh hijau ( <i>Camellia sinensis</i> )	Formulasi sediaan gel hand sanitizer ekstrak daun teh hijau ( <i>Camellia sinensis</i> ) adalah kombinasi antara pencampuran ekstrak daun teh hijau ( <i>Camellia sinensis</i> ) dengan bahan-bahan penyusun gel <i>hand sanitizer</i> .	-	F1, F2, F3	-
---	--	--	---	------------	---

### 3.7 Metode Penelitian (Prosedur Penelitian)

#### 3.7.1 Preparasi Sampel

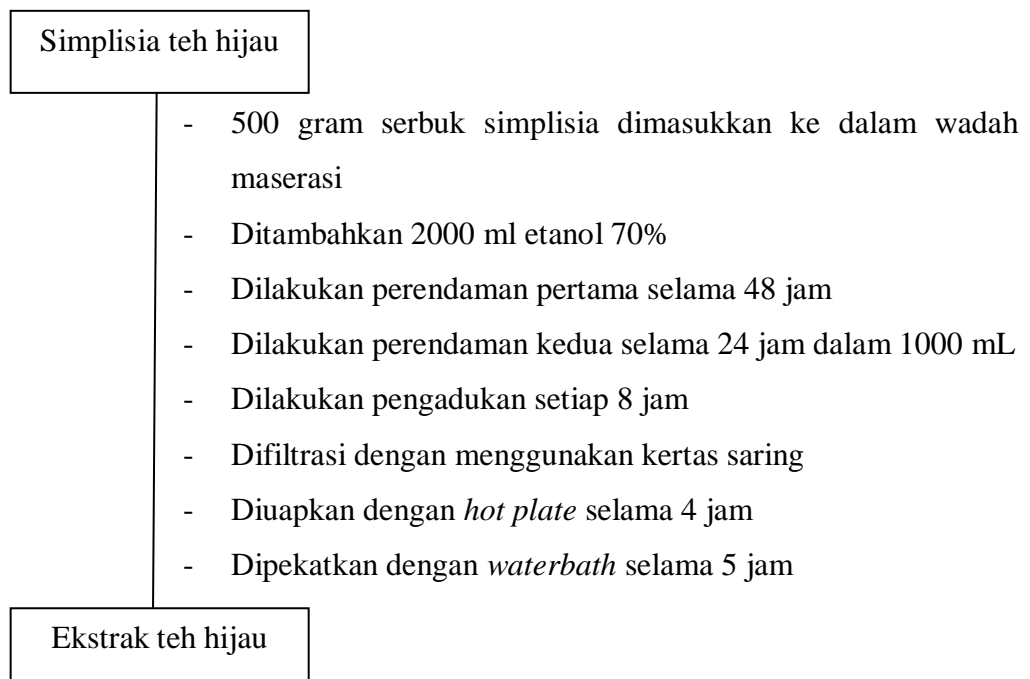
Sampel yang digunakan yaitu daun teh hijau dibeli langsung dari petani kebun teh hijau yang berada di Kota Blitar. Sampel yang telah diperoleh kemudian dilakukan sortasi basah, kemudian dicuci dengan air mengalir, dan ditiriskan. Sampel kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari langsung. Setelah sampel kering kemudian dilakukan sortasi kering. Simplisia teh hijau yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan grinder.



### 3.7.2 Pembuatan Ekstrak

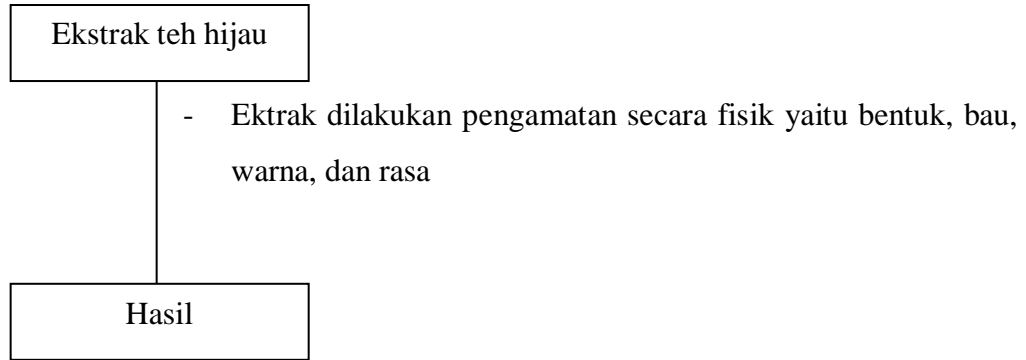
Pembuatan ekstrak daun teh hijau dilakukan di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang. Ekstrak dilakukan dengan cara maserasi bertingkat. Simplisia daun teh hijau dihaluskan dengan cara diremas-remas, digerus dengan diblender sampai menjadi potongan yang lebih kecil. Kemudian ditimbang sebanyak 500 gram, selanjutnya dimasukkan ke dalam toples kaca dan di rendam dengan pelarut 2000 ml etanol 70% selama 2 hari (2x24 jam). Setiap 8 jam dilakukan pengadukan. Setelah 2x24 jam dilakukan penyaringan dan residu simplisia direndam atau dimaserasi kembali dengan 1000 mL etanol 70% selama 1x24 jam. Selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring dan filtrate dikumpulkan ditempatkan dalam botol gelap. Hasil penyaringan diupkan dalam panci infusa diatas *hot plate* selama 4 jam dalam suhu 70°C dengan rotasi pemutaran 150 rpm. Filtrate kemudian dipekatkan sampai terbentuk ekstrak kental menggunakan *waterbath* selama 5 jam dengan suhu 70°C di dalam cawan porselin (Sorbareeyah, 2015). Ada pun rumus untuk menghitung rendemen yaitu:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{ekstrak kental (gram)}}{\text{serbuk daun sirsak (gram)}} \times 100\%$$



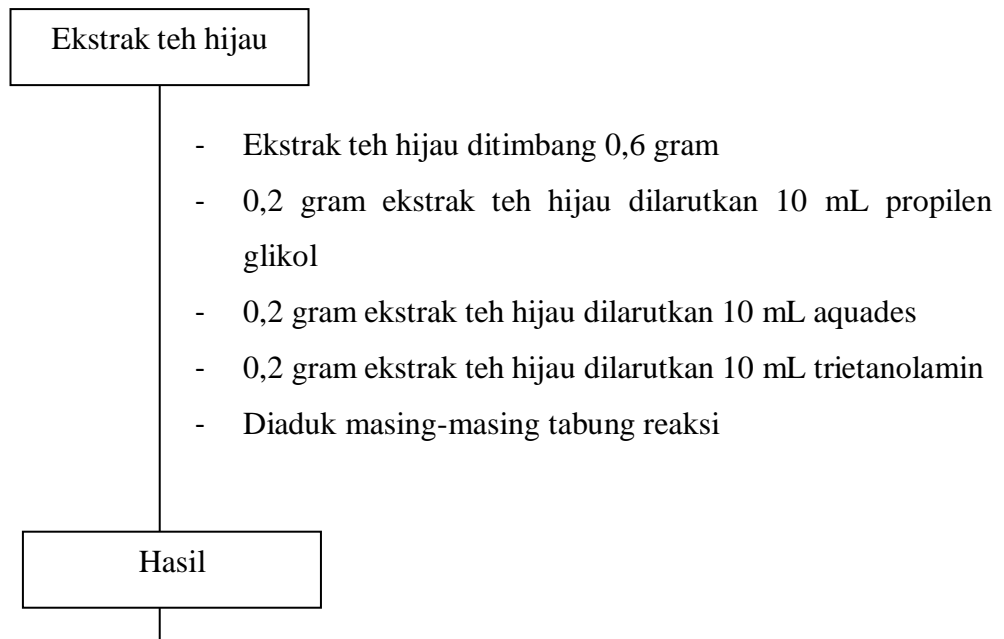
### 3.7.3 Uji Organoleptik Ekstrak

Uji organoleptik dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kekhususan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak yang diuji (Depkes, 2000).



### 3.7.4 Uji Kelarutan Ekstrak

Uji kelarutan dilakukan dengan menggunakan beberapa variasi larutan yaitu propilen glikol, ethanol 96%, aquades. Uji kelarutan ini dilakukan dengan menimbang 0,2 gram sampel per larutan uji dan dilarutkan dalam 10 mL propilen glikol, 10 mL ethanol 96%, 10 mL aquades. Kemudian dilarutkan selama 1 menit. . setelah itu dilihat kelarutan ekstrak pada masing-masing larutan.



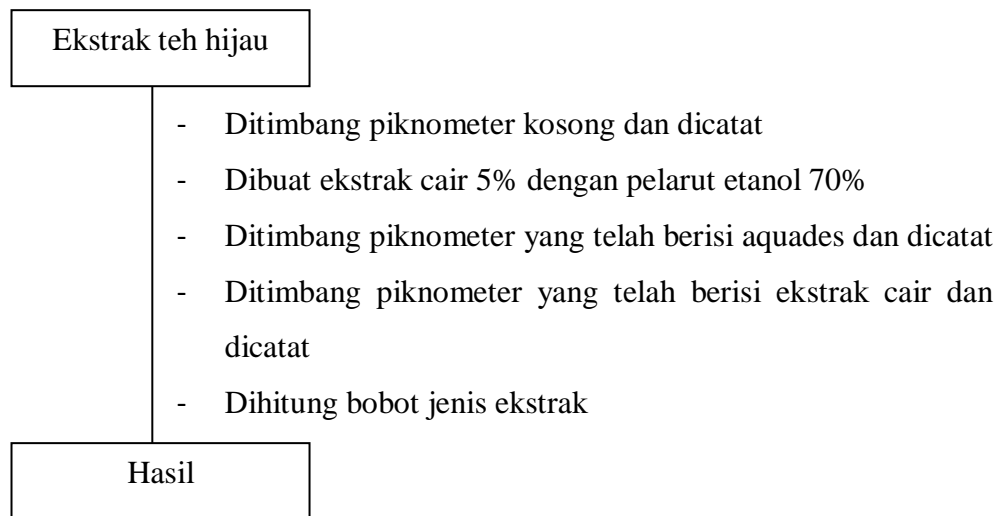
### 3.7.5 Uji Bobot Jenis Ekstrak

Penetapan bobot jenis ekstrak dilakukan dengan cara menimbang piknometer dalam keadaan kosong. Selanjutnya piknometer diisi penuh air dan ditimbang. Kerapatan air dapat ditentukan. Piknometer dikosongkan dan diisi penuh dengan ekstrak dan ditimbang. Selanjutnya bobot jenis ekstrak dapat ditetapkan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Bobot jenis ekstrak} = \frac{\text{kerapatan ekstrak}}{\text{kerapatan air}}$$

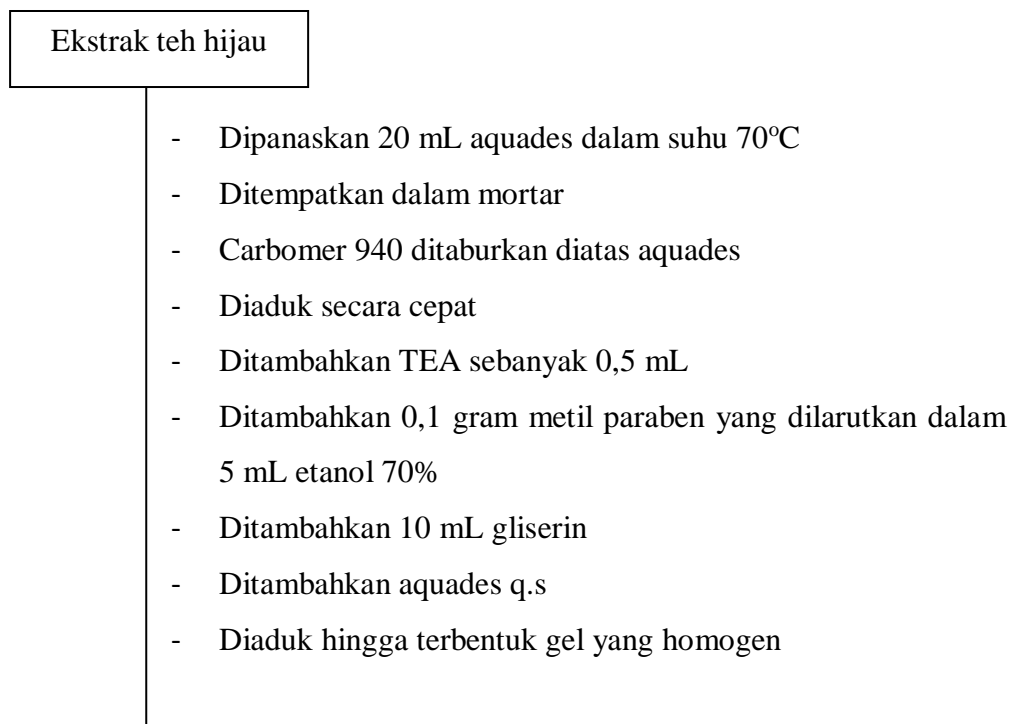


(Depkes, 2000).



### 3.7.6 Pembuatan Gel Hand Sanitizer

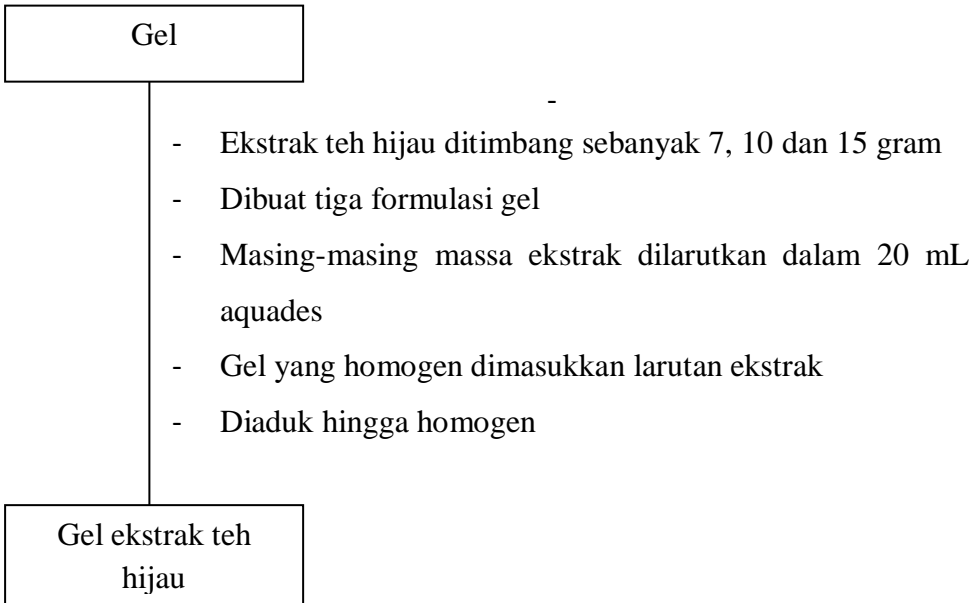
Pada pembuatan gel *hand sanitizer* formulasi diambil dari Shu (2013). Pembuatan gel *hand sanitizer* menurut Shu (2013), disiapkan mortar dan stamper. Kemudian carbomer 940 ditimbang sebanyak 2 gram dan ditaburkan diatas aquades 20 mL yang telah dipanaskan pada suhu 70°C. Carbomer 940 yang sudah ditaburkan diaduk cepat di aduk cepat di dalam mortar sampai terbentuk massa gel dan ditambahkan TEA sebanyak 0,5 mL. Metil paraben ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan dalam alcohol 70% sebanyak 5 mL, dimasukkan ke dalam mortar, diaduk sampai homogen. Selanjutnya gliserin sebanyak 10 mL ditambahkan ke dalam mortar, diaduk sampai homogen hingga membentuk gel.



Hasil

**3.7.7 Pembuatan Gel Hand sanitizer Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*)**

Pada pembuatan gel *hand sanitizer* ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) formulasi diambil dari Shu (2013). Prosedur yang dilakukan sama dengan proses pembuaatan gel *hand sanitizer* sebelumnya. Pembuatan gel *hand sanitizer* menurut Shu (2013), gel yang telah dibuat kemudian ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) ditimbang sebanyak 7, 10, dan 15 gram kemudian dilarutkan masing-masing ke dalam aquades sebanyak 20 mL dan diaduk sampai larut. Ekstrak daun teh hijau yang sudah larut dimasukkan ke dalam mortar, dicampur sampai homogen dan digerus sampai terbentuk gel dan diaduk sampai homogen.



**Tabel 6.** formula dasar gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun teh hijau (*Camellia sinensis*) yang telah dimodifikasi.

Nama bahan	Satuan	Penimbangan bahan			Fungsi
		F1	F2	F3	
Ekstrak Teh	Gram	7	10	15	Bahan

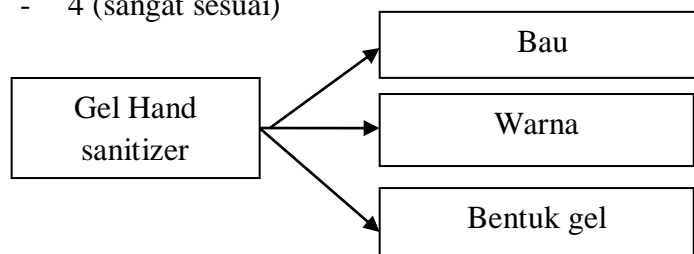
Hijau					aktif
Carbomer 940	Gram	2	2	2	Basis gel
TEA	mL	0,5	0,5	0,5	Alkalizing
Metilparaben	Gram	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Gliserin	mL	10	10	10	Emmoliet
Alkohol	mL	10	10	10	Pelarut
Aquades	mL	q.s	q.s	q.s	Pelarut

### 3.7.8 Uji Fisik-kimia Gel Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*)

#### a. Uji organoleptik

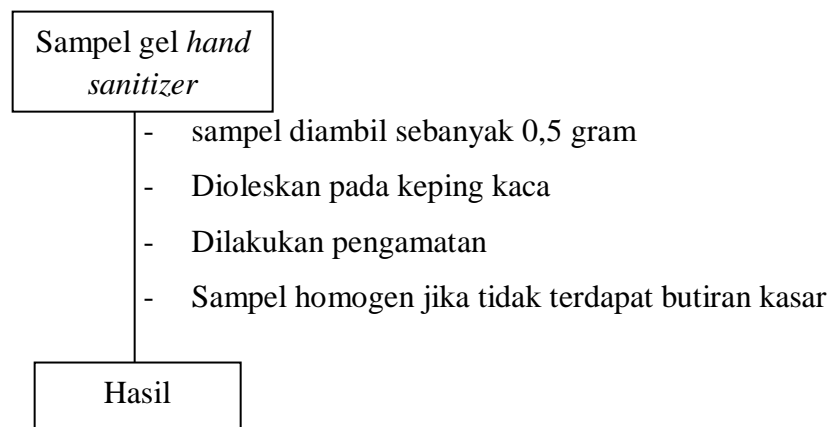
Uji organoleptis dilakukan secara visual terhadap sediaan gel, meliputi warna, bau, dan bentuk gel, mudah dioleskan, dan tidak mengandung butiran-butiran kasar. Skala penilaian yaitu 1-4 sebagai berikut:

- 1 (tidak sesuai)
- 2 (kurang sesuai)
- 3 (sesuai)
- 4 (sangat sesuai)



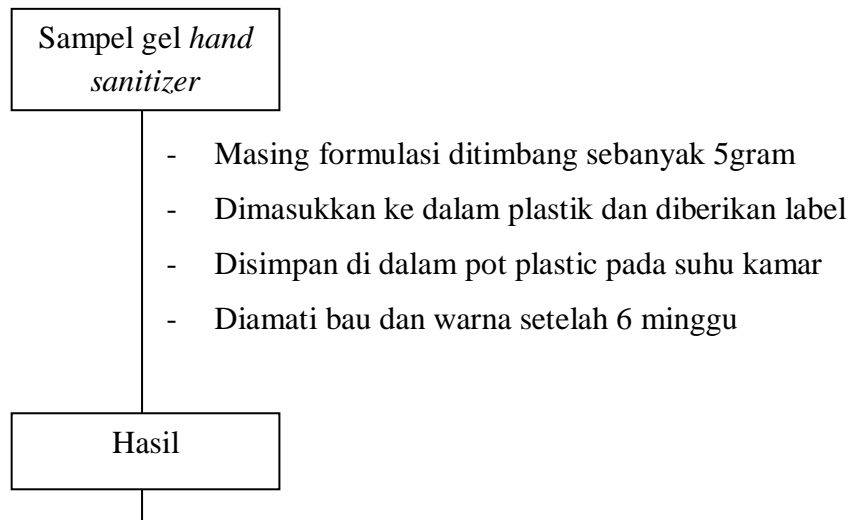
#### b. Uji homogenitas

Menurut SNI-06-2588-1922, bahwa pemeriksaan homogenitas sediaan dapat dilakukan dengan cara gel dioleskan pada keping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar.



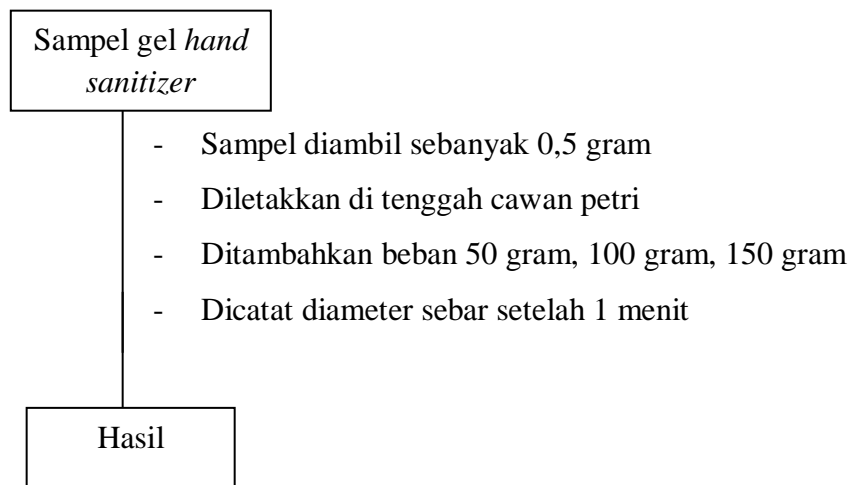
**c. Uji stabilitas**

Uji stabilitas dilakukan dengan masing-masing formula sediaan dimasukkan ke dalam pot plastik sebanyak 5 gram . Pengamatan dilakukan pada saat sediaan telah selesai dimasukkan kedalam pot plastik dan diamati selama 6 minggu dengan interval pengamatan setiap minggunya. Pengujian fisik Hand Sanitier yang telah dibuat meliputi pengamatan bau dan warna selama 6 minggu.



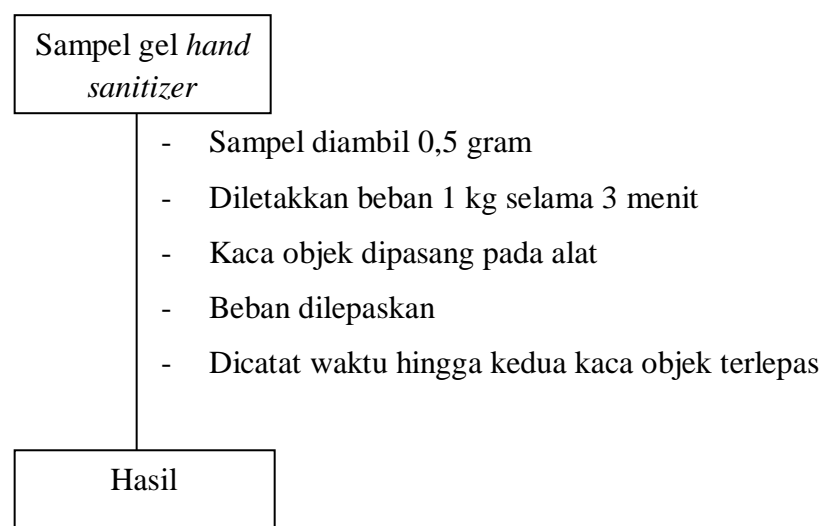
**d. Uji daya sebar**

Uji homogenitas dilakukan dengan cara gel dengan massa 0,5 gram diletakkan di tengah cawan petri yang telah ditemeli dengan kertas millimeter blok. Penyebaran gel diukur dengan diameter gel yang menyebar dari dua sisi setelah dibiarkan selama 1 menit. Kemudian pengukuran diameter gel dimulai tanpa beban, selanjutnya ditambahkan beban 50 gram, 100 gram, 150 gram, hingga memperoleh daya sebar yang konstan dan dicatat diameter penyebaran gel setelah 1 menit kemudian. Uji daya sebar sediaan semi padat termasuk gel yang baik yaitu 5 cm -8 cm (SNI-06-2588-1922).



**e. Uji Daya Lekat**

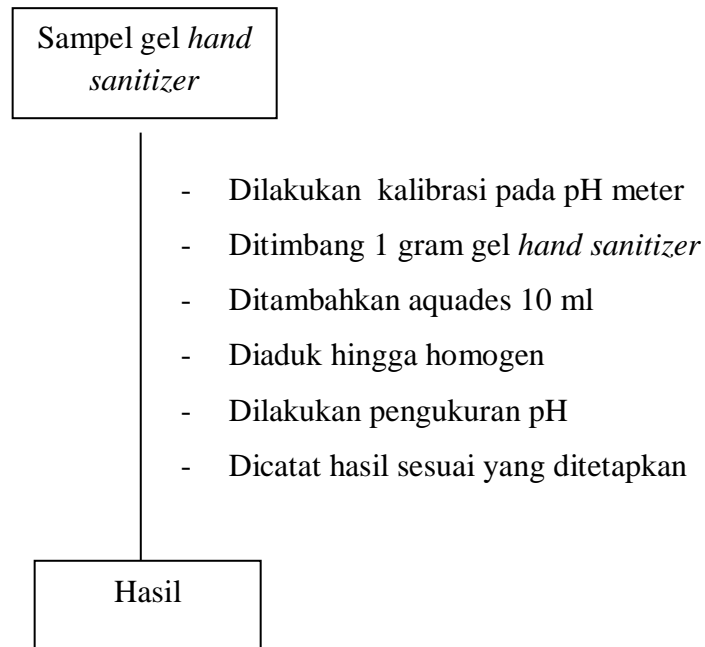
Uji daya lekat dilakukan dengan menggunakan kaca objek yang telah diketahui luasnya yaitu gel diletakkan diatasnya secukupnya. Kemudian diletakkan beban 1 kg selama 5 menit diatas kaca objek yang telah diletakkan gel tersebut. Dipasang kaca objek pada alat. Beban dilepaskan seberat 100 gram dan dicatat waktunya hingga kedua kaca objek terlepas. Syarat uji daya lekat yang baik pada sediaan gel adalah lebih dari 10 detik (SNI-06-2588-1922).



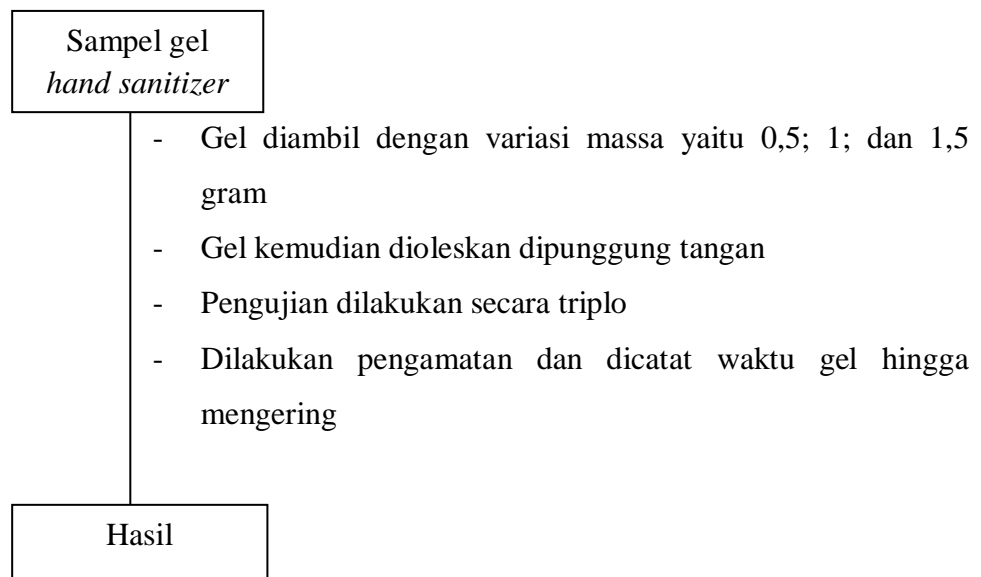
**f. Uji pH**

Uji pH dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 1 gram gel, kemudian aquades sebanyak 10 mL dengan pH 7 ditambahkan, lalu

dilakukan pengadukan. Setelah homogen dilakukan pengukuran pH dengan cara memasukkan pH meter yang telah dikalibrasi, kemudian dibiarkan beberapa saat sehingga didapat pH yang tetap. pH yang sesuai dengan kulit normal manusia yaitu 4,5-6,5 (SNI-06-2588-1922).



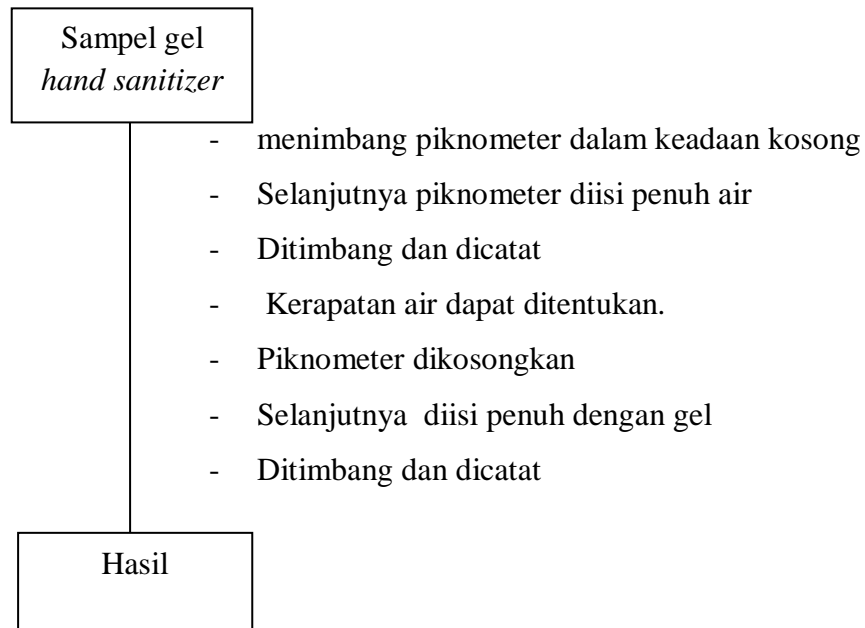
#### g. Uji Waktu Kering



#### h. Penetapan Berat Jenis (Densitas)

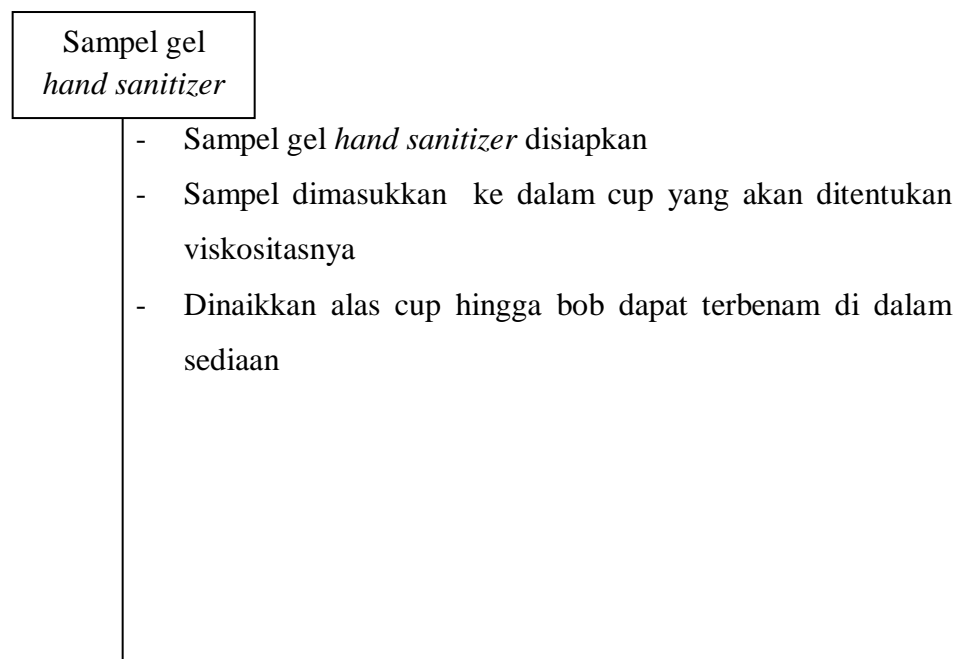
Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan piknometer dimana bobot zat per volume gel dibandingkan dengan bobot air pada volume yang sama pada suhu kamar, maka BJ menurut batasan lama adalah kerapatan atau density. Berat jenis gel rata-rata yaitu  $> 0,88$  gr/ml (SNI-06-2588-1922)

$$\text{Bobot jenis gel} = \frac{\text{kerapatan Gel}}{\text{kerapatan air}}$$



#### i. Uji Viskositas

Pada uji viskositas menggunakan alat untuk mengukur viskositas gel yaitu viscometer stromer. Viskositas gel yang baik sebesar 2000 - 4000 cps (SNI-06-2588-1922).



- Diberikan beban 200 – 650 dengan kelipatan 50 sehingga terdapat 10 beban setiap satu sampel formulasi gel
- Dilepaskan kunci rem sehingga beban turun dan mengakibatkan bob berputar
- Dicatat waktu yang dibutuhkan sampai *rotation* menunjukkan angka 25
- Dibuat kurva alir dengan RPM sebagai sumbu tegak dan berat beban sebagai sumbu datar

Hasil

**3.7.9 Uji Efektivitas Antibakteri Gel Hand Sanitizer Ektrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*)**

**a. Sterilisasi alat dan bahan**

Alat-alat dan bahan yang akan digunakan sebelumnya dicuci, dibungkus, dan diseterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, pipet volume selanjtnya dimasukkan ke dalam oven (pemanasan kering) dan disterilkan pada suhu 180°C selama 1 jam. Alat dan bahan yang tidak tahan dengan pemanasan kering seperti media, tips dimasukkan dalam autoclave (pemanasan basah) pada suhu 121°C selama 15 menit.

Alat- alat gelas

- Disiapkan alat-alat yang akan digunakan dan dilakukan sterilisasi
- Tabung reaksi, erlenmayer, gelas ukur disumpat dengan kapas steril
- Dilapisi alumunium foil pada masing-masing alat
- Dinyalakan oven dan diatur suhu pemanasan yaitu 180 °C
- Setelah suhu naik dan tepat 180 °C, alat-alat kemudian dimasukkan oven



- Sterilisasi dilakukan selama 1 jam

Hasil

#### b. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) Miring

Pembuatan media Nutrient Agar (NA) dilakukan dengan menimbang serbuk Nutrient Agar (NA) sebanyak 1.12 gram dan dilarutkan dalam 40 mL aquades. Kemudian dipanaskan hingga mendidih dan larutan berubah menjadi bening atau homogen. Media nutrient agar (NA) yang telah dimasak dimasukkan ke dalam erlenmeyer ditutup dan dibungkus lalu disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Kemudian dipipet sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi steril dan diletakkan pada kemiringan 30-45°C. Diperhatikan bahwa agar tidak menyentuh tutup tabung agar dibiarkan menjadi dingin dan keras.

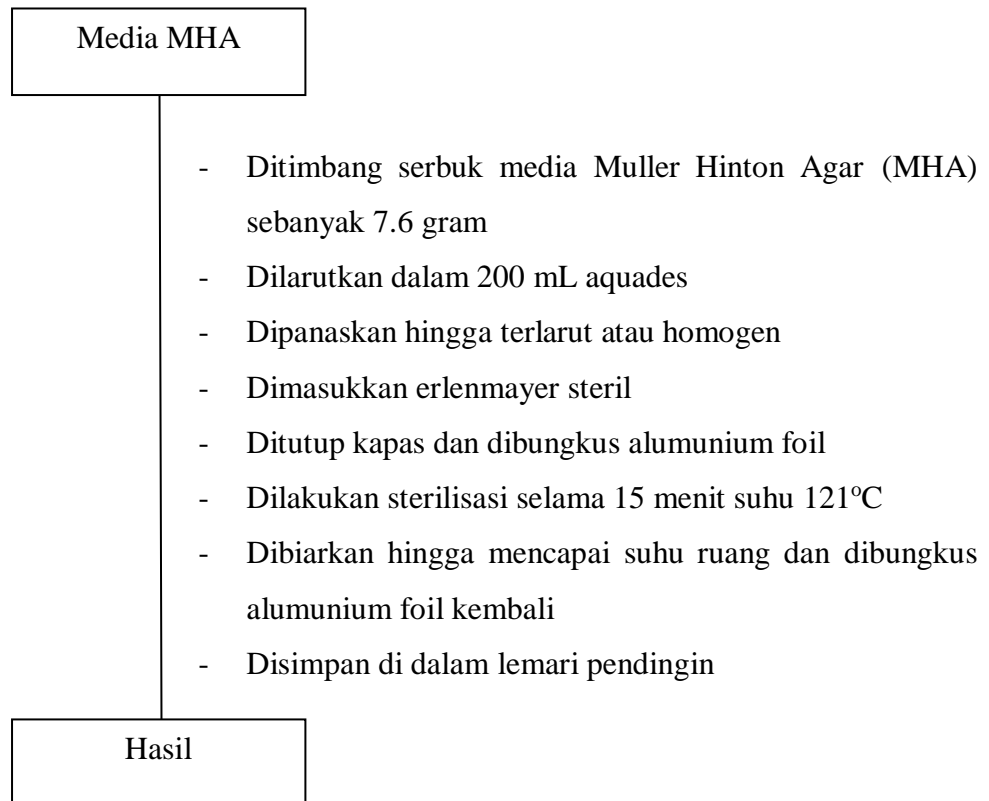
Media NA Miring

- Ditimbang serbuk media Nutrient Agar (NA) sebanyak 1.12 gram
- dilarutkan dalam 40 mL aquades
- Dipanaskan hingga terlarut atau homogen
- Dimasukkan erlenmeyer steril
- Ditutupi kapas dan dibungkus aluminium foil
- Dilakukan sterilisasi selama 15 menit suhu 121°C
- Dimasukkan tabung reaksi steril masing-masing 5 mL
- Diletakkan pada kemiringan 30-45°
- Dibiarkan hingga mengeras dan dibungkus aluminium kembali
- Disimpan di dalam lemari pendingin

Hasil

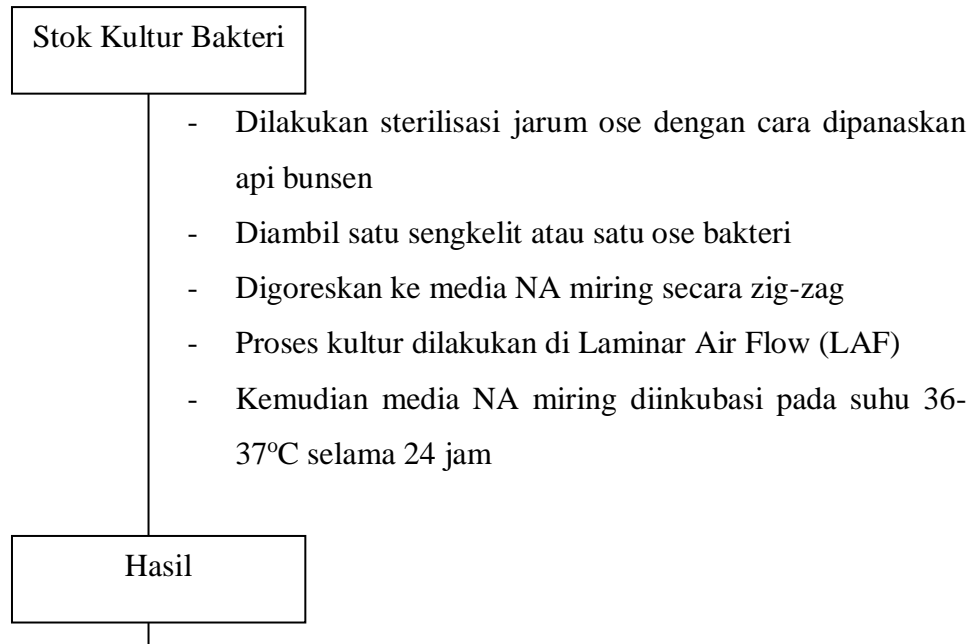
**c. Pembuatan Media Muller Hinton Agar (MHA)**

Pembuatan media Muller Hinton Agar (MHA) dilakukan dengan menimbang serbuk Muller Hinton Agar (MHA) sebanyak 7.6 gram dan dilarutkan dalam 200 mL aquades. Kemudian dipanaskan hingga mendidih dan larutan berubah menjadi bening atau homogen. Media Muller Hinton Agar (MHA) yang telah dimasak dimasukkan ke dalam erlenmayer ditutup dan dibungkus lalu disterilkan didalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media yang telah disterilisasi ditunggu hingga sama dengan suhu ruang dan disimpan di dalam lemari pendingin.



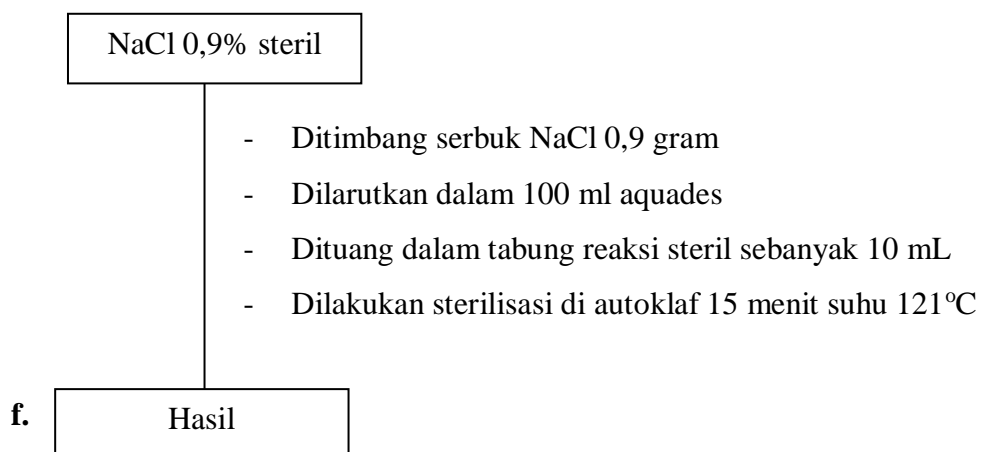
**d. Pembuatan stok kultur bakteri**

Dilakukan dalam Laminar Air Flow (LAF), satu koloni bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose steril, koloni bakteri tersebut kemudian ditanamkan pada media nutrient agar miring dengan cara menggores, setelah itu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Ditjen POM RI, 1995).



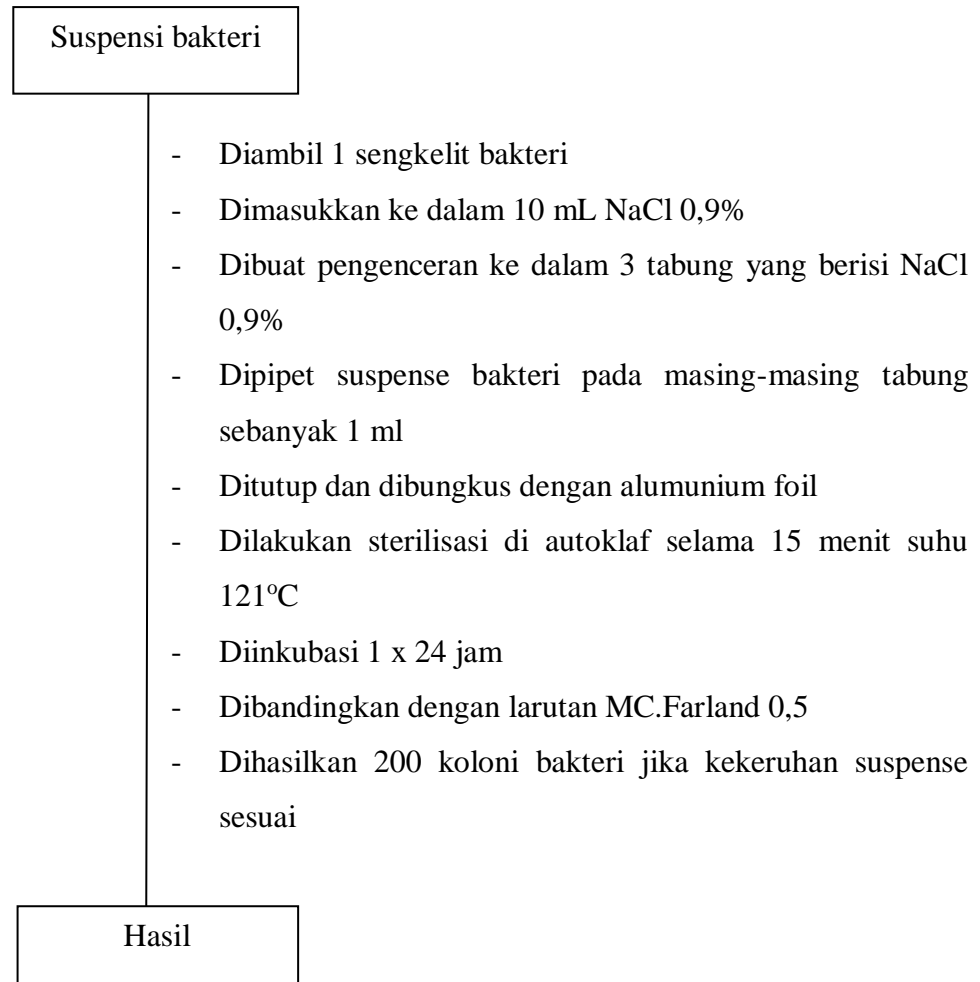
**e. Pembuatan NaCl 0,9% steril**

Pembuatan NaCl 0,9% steril dilakukan dengan menimbang NaCl serbuk sebanyak 0,9 gram kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Selanjutnya dipipet sebanyak 10 mL ke dalam tabung reaksi steril dan tabung-tabung reaksi yang telah diisi larutan NaCl 0,9% dibungkus alumunium foil untuk selanjutnya dilakukan sterilisasi. Kemudian dilakukan sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.



Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu koloni biakan murni *Esherchia coli* menggunakan ose steril dari kultur bakteri. Kemudian disuspensikan dalam tabung yang berisi 10 mL NaCl 0,9% steril. Kemudian dibuat pengenceran dari suspensi bakteri ke dalam 3 tabung reaksi yang nantinya dibandingkan dengan kekeruhan larutan

standar MC.Farland setelah dilakukan inkubasi. dipipet 1 ml dari larutan suspense bakteri dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi NaCl steril 0,9%. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.



**g. Uji Efektivitas gel *hand sanitizer* terhadap bakteri**

Uji efektivitas gel *hand sanitizer* terhadap bakteri *E.coli* menggunakan metode Percentage Kill. Prosedur dimulai dengan menentukan *Colony Forming Unit* (CFU). Uji Percentage Kill dilakukan dengan mengambil suspensi bakteri yang telah menghasilkan jumlah koloni 100-200 sebanyak 0,5 mL pada penentuan CFU, kemudian dicampurkan dengan 4,5 mL gel *hand sanitizer* ekstrak teh hijau formulasi 1. Selanjutnya didiamkan selama 1 menit dan setelah 1 menit sebanyak 1 mL suspensi bakteri dan gel *hand sanitizer* ekstrak teh hijau dimasukkan ke dalam tabung A yang telah berisi 9 mL aquades steril.

Diambil sebanyak 0,5 mL suspensi bakteri dan dicampurkan dengan 4,5 mL gel *hand sanitizer* ekstrak teh hijau formulasi 2. Selanjutnya didiamkan selama 1 menit dan dipipet sebanyak 1 mL suspensi bakteri dan gel *hand sanitizer* ekstrak teh hijau dimasukkan ke dalam tabung B yang telah berisi 9 mL aquades steril.

Diambil sebanyak 0,5 mL suspensi bakteri dan dicampurkan dengan 4,5 mL gel *hand sanitizer* ekstrak teh hijau formulasi 3. Selanjutnya didiamkan selama 1 menit dan dipipet sebanyak 1 mL suspensi bakteri dan gel *hand sanitizer* ekstrak teh hijau dimasukkan ke dalam tabung C yang telah berisi 9 mL aquades steril.

Dalam masing-masing menit dibuat dua replikasi. Proses selanjutnya tabung pengenceran divortex. Dan 1 ml suspensi dari setiap tabung dituang ke dalam plat serta dituang media MHA cair ke dalam cawan petri. Dilakukan inkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. setelah itu dihitung jumlah koloni yang tumbuh dan dihitung rata-ratanya. Sebanyak 0,5 suspensi bakteri dicampurkan dengan 4,5 mL aquades steril sebagai kontrol. Efektivitas *hand sanitizer* ekstrak teh hijau dalam menghambat bakteri *E.coli* dapat dilihat dengan menghitung Percentage Kill dengan rumus:

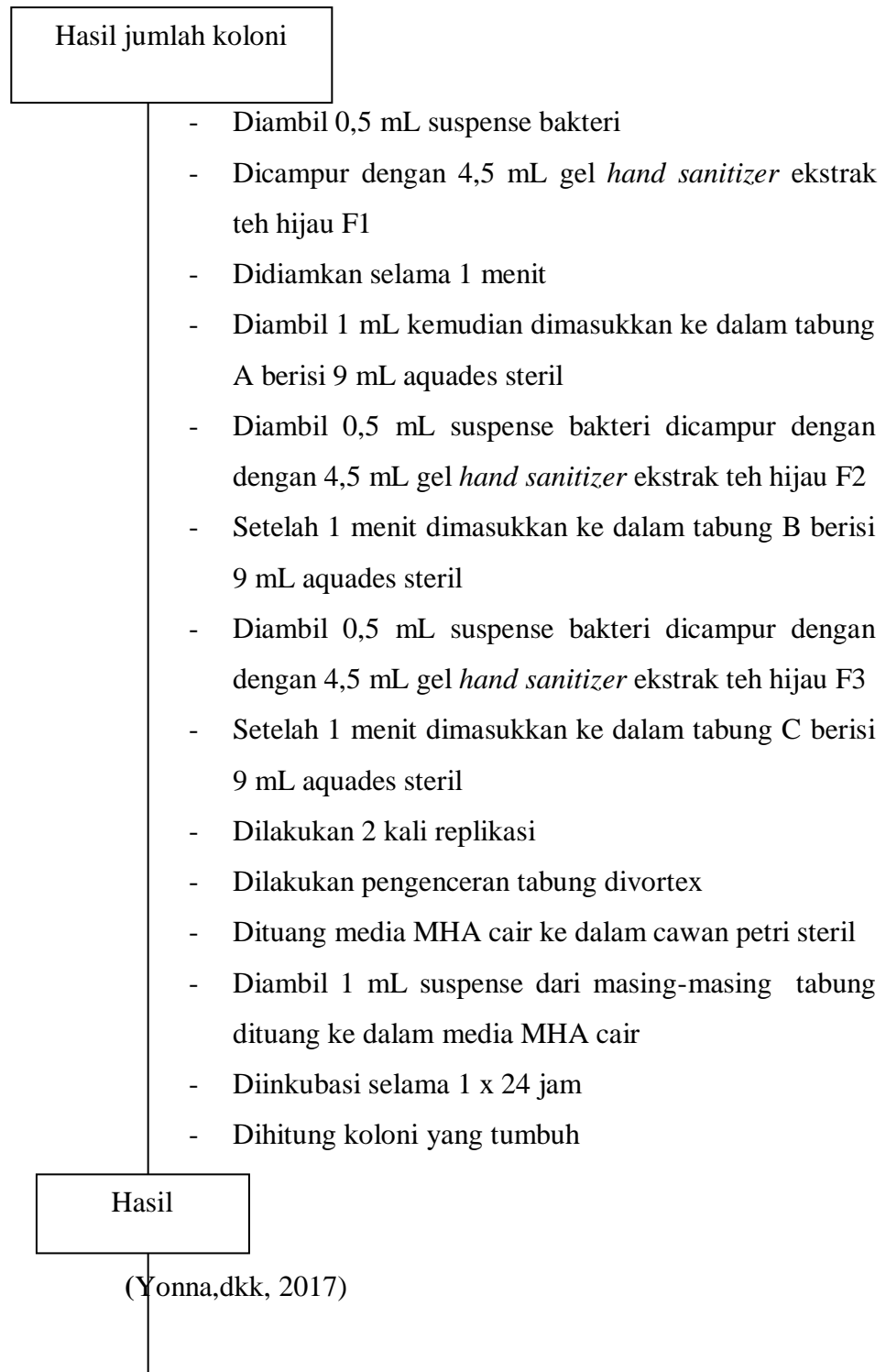
$$\text{Percentage Kill} = \frac{(C-X)}{C} \times 100 \%$$

Keterangan:

C : jumlah koloni kontrol

X : jumlah koloni yang diteliti

Hasil Percentage Kill yang baik adalah  $\geq 90\%$



### 3.8 Teknik Pengumpulan Data

#### 3.8.1 Teknik Observasi

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan melakukan pengujian yang telah di observasi dari segi fisik-kimia meliputi uji organoleptis, uji pH, uji homogenitas dan uji daya sebar gel hand sanitizer. Penelitian ini menggunakan analisis data kualitatif dan kuantitatif. yaitu dengan menguji kualitas bahan dan

gel hand sanitizer yang dihasilkan sedangkan kuantitatif dilakukan dengan cara menghitung rata-rata dan formula yang diuji diantaranya pH, daya sebar dan uji antibakteri.

### **3.8.2 Teknik Dokumentasi**

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini adalah menggunakan teknik dokumentasi, dimana teknik ini merupakan setiap bahan tertulis, film dan gambar yang dapat memberikan informasi. Melalui teknik ini penulis berupaya untuk mencari data dari hasil sumber tertulis, melalui dokumen atau apa saja yang memiliki relevansi sehingga dapat melengkapi data yang diperoleh di lapangan. Data yang dikumpulkan melalui tahap ini adalah meliputi:

- a. Data dari sampel penelitian serta prosedur penelitian
- b. Metode penelitian yang dilakukan

Foto pelaksanaan penelitian yang terkait dengan hasil dari uji efektivitas gel hand sanitizer ekstrak daun teh hijau (*Camellia Sinensis*) terhadap bakteri *E.coli*.

### **3.9 Teknik Penyajian Data**

Setelah penelitian dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif, data yang terkumpul akan dianalisis sesuai dengan pengujian yang telah dilakukan. Teknik penyajian data akan dilakukan sebagai berikut.