

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.)

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Determinasi tanaman ini dilakukan dengan tujuan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang digunakan untuk penelitian, mengetahui kebenaran sampel, dan menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian yaitu benar-benar tanaman daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dengan kunci determinasi 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15a, 109b, 119b, 120b, 128b, 129b, 135b, 136b, 139b, 140b, 142b, 143b, 146b, 154b, 155b, 156b, 162b, 167b, 169b, 171a, 172b, 173b, 174b, 176b. Hasil determinasi dapat dilihat dalam lampiran 1.

2. Sterilisasi bahan dan alat

Bahan-bahan seperti media MHA, BHI, dan NA disterilkan menggunakan *autoclave* yaitu metode sterilisasi basah. Penggunaan oven pada bahan media dapat membuat media menjadi rusak dan kering karena suhu yang tidak sesuai dengan bahan media. Alat-alat dari gelas yang digunakan dalam penelitian, seperti cawan petri, beker glas, erlenmeyer, gelas ukur, pipet volume, dan tabung reaksi, disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan oven, semua alat yang berasal dari gelas kaca disterilkan dengan dibungkus koran agar saat dikeluarkan tetap steril. Sterilisasi yang digunakan adalah sterilisasi kering. Alat lain yang digunakan seperti jarum Ose dan pinset cukup disterilkan dengan pemanasan diatas api bunsen didalam inkas sesaat sebelum akan digunakan, adapun alat seperti kapas lidi, cakram disc disterilkan dioven supaya dalam pengerjaan dalam kondisi aseptis. Sterilisasi inkas menggunakan alkohol 70% dan formalin (Suriawiria 1985). Sterilisasi bahan dan alat dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Tujuan dari sterilisasi ini agar alat dan bahan yang digunakan terbebas dari mikroorganisme yang dapat mengganggu jalannya penelitian.

3. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk

Daun teh hijau yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari kebun teh Kemuning, Kecamatan Ngargoyoso, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Daun teh hijau yang digunakan untuk penelitian ini diambil kuncup dan daun teh hijau yang masih segar dan muda. Pengambilan kuncup dan daun teh hijau muda segar diambil pada pagi hari, supaya memperoleh kandungan senyawa aktif yang paling banyak. Daun teh hijau yang diperoleh kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada simplisia seperti tanah, debu dan pengotor lainnya. Daun teh hijau yang sudah dicuci dan dibersihkan dioven pada suhu 50°C selama \pm 3 hari. Pengeringan daun teh hijau dengan oven ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik dalam daun teh hijau. Sortasi kering dilakukan setelah proses pengeringan. Simplisia yang sudah kering kemudian diserbuk dengan menggunakan alat penggiling untuk memperoleh serbuk daun teh hijau.

Serbuk yang dihasilkan dari proses penggilingan diayak dengan menggunakan ayakan nomor mesh 60, dengan tujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga didapatkan luas permukaan yang besar, diharapkan proses penyarian akan bertambah baik. Ukuran partikel serbuk yang lebih kecil dan seragam sehingga luas permukaan kontak dengan pelarut semakin besar. Hal ini dimaksudkan agar dalam proses ekstraksi kandungan senyawa aktif yang terlarut semakin banyak. Hasil penetapan % rendemen serbuk daun teh hijau dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil rendemen serbuk daun teh hijau.

Sampel tanaman	Bobot serbuk sebelum diayak (gram)	Bobot serbuk setelah diayak (gram)	Rendemen (%)
Total	1500	700	46,67%

Hasil perhitungan rendemen serbuk daun teh hijau dapat dilihat pada lampiran 4.

4. Karakteristik serbuk daun teh hijau

4.1 Pemeriksaan organoleptis serbuk daun teh hijau. Pemeriksaan organoleptis serbuk daun teh hijau bertujuan untuk pengenalan awal secara

sederhana untuk mengetahui adanya kekhususan bau, rasa, warna, dan bentuk serbuk yang digunakan. Daun teh hijau yang diamati dalam pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan menggunakan pancaindera untuk mendiskripsikan karakteristik dari serbuk daun teh hijau. Hasil uji organoleptis serbuk daun teh hijau berwarna hijau kecoklatan, berbau khas teh hijau, dan rasa pahit.

4.2 Penetapan susut pengeringan serbuk daun teh hijau. Penetapan susut pengeringan serbuk daun teh hijau bertujuan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Hasil penetapan kadar susut pengeringan serbuk daun teh hijau dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun teh hijau

No	Bobot awal (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	10,0
2	2,00	9,0
3	2,00	9,5
Rata-rata ± SD		9,5 ± 0,5

Penetapan susut pengeringan berhubungan dengan senyawa volatil dan air yang hilang. Penetapan susut pengeringan menggunakan alat *moisture balance* dengan suhu 105°C, hasil dari susut pengeringan dapat dilihat bobot serbuk sampai konstan. Hasil ditunjukkan dalam satuan persen.

Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan yang didapat yaitu 9,5%. Hasil susut pengeringan yang baik yaitu kurang dari 10% (Depkes RI 2011). Hasil susut pengeringan yang didapat kurang dari 10%, sehingga serbuk daun teh hijau yang digunakan memenuhi persyaratan. Hasil yang sudah memenuhi persyaratan ini meminimalkan adanya pertumbuhan kapang sehingga menghindari terjadinya penurunan mutu dan resiko rusaknya serbuk saat penyimpanan dalam jangka waktu yang cukup lama. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun teh hijau dapat dilihat pada lampiran 6.

5. Hasil pembuatan ekstrak kental daun teh hijau

Serbuk daun teh hijau sebanyak 500 gram diekstraksi dengan metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode yang sederhana, mudah dilakukan, tidak memerlukan alat yang mahal, dan dapat menghindari senyawa yang rusak

oleh pemanasan. Maserasi merupakan metode penyarian yang dilakukan dengan cara merendam serbuk daun teh hijau dengan menggunakan penyari etanol. Proses ekstraksi serbuk daun teh hijau menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 5000 ml. Daun teh hijau banyak mengandung senyawa polifenol yang cenderung bersifat polar karena mengandung banyak gugus hidroksi sehingga dapat larut dalam pelarut seperti etanol atau air. Hal ini menjadi dasar pembuatan ekstrak daun teh hijau menggunakan kombinasi cairan penyari etanol dan air sehingga diharapkan senyawa polifenol yang ada dalam daun teh hijau dapat tersari dengan optimal.

Proses maserasi dilakukan 5 hari dengan 2 tahap yaitu pada tahap pertama selama 3 hari serbuk daun teh hijau dilarutkan dengan menggunakan pelarut 7,5 kali bobot serbuk, digojog, kemudian ampas disaring, filtrat ditampung. Tahapan kedua, ampas hasil penyaringan pertama kemudian ditambahkan pelarut 2,5 kali bobot serbuk, didiamkan selama 2 hari, kemudian disaring. Maserat yang dihasilkan dalam proses maserasi berupa ekstrak cair. Ekstrak cair, kemudian dikentalkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Pengentalan bertujuan untuk menguapkan pelarut etanol dan menghilangkan kandungan air yang tersisa dalam ekstrak. Penguapan larutan pengestraksi dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C yang bertujuan untuk menghindari senyawa terurai atau rusak pada penggunaan suhu yang tinggi, sehingga proses ini berlangsung cepat dan dapat menjaga stabilitas senyawa yang dihasilkan. Proses ekstraksi dengan menggunakan botol coklat dan tertutup kedap, hal ini bertujuan agar proses ekstraksi terlindung dari cahaya dan pelarut tidak mudah menguap. Ekstrak daun teh hijau yang sudah kental, kemudian di oven pada suhu 50°C dan diperoleh ekstrak kental dengan konsistensi yang liat.

Hasil ekstrak kental yang diperoleh pada penelitian ini telah sesuai dengan definisi ekstrak kental menurut Voigt (1994), dimana ekstrak kental merupakan ekstrak dengan konsistensi liat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang. Ekstrak kental biasanya mengandung air tidak lebih dari 30% supaya tidak mudah ditumbuhi mikroorganisme yang tidak diinginkan. Hasil penetapan % rendemen ekstrak daun teh hijau dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak daun teh hijau.

Sampel tanaman	Bobot ekstrak (gram)	Bobot serbuk (gram)	Rendemen (%)
Total	56,4237	500	11,28

Rendemen ekstrak kental daun teh hijau yang diperoleh dalam penelitian adalah 11,28%. Hasil rendemen ekstrak yang baik tidak kurang dari 7,8% (Depkes RI 2011). Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal, semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Efektivitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel simplisia, metode dan lamanya ekstraksi. Besar kecilnya rendemen ekstrak juga menunjukkan banyaknya komponen aktif yang terkandung di dalam ekstrak (Wijaya *et al.* 2018). Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun teh hijau dapat dilihat pada lampiran 5.

6. Hasil pemeriksaan bebas etanol ekstrak daun teh hijau

Pemeriksaan bebas etanol ekstrak daun teh hijau yang digunakan dalam penelitian ini bertujuan untuk membebaskan ekstrak dari alkohol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi. Pemeriksaan ini untuk memastikan bahwa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah murni dari ekstrak daun teh hijau tidak adanya pengaruh dari alkohol dalam tahap penelitian selanjutnya yaitu pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (Kurniawati 2015). Alkohol memiliki sifat yang dapat berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil negatif yang menandakan adanya bau eter setelah ditambahkan H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH.

7. Hasil pemeriksaan fisik ekstrak daun teh hijau

7.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan uji organoleptis ekstrak bertujuan untuk pengenalan awal secara sederhana dan bersifat subyektif. Penilaian bersifat subyektif karena hasil penilaian sangat ditentukan oleh pelaku atau yang melakukan pengukuran. Uji organoleptis ini dapat digunakan untuk mengenal secara sederhana ekstrak yang digunakan pada penelitian, sehingga

tidak terjadi kesalahan dalam pemilihan ekstrak yang digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat tradisional.

Uji organoleptis ekstrak dilakukan dengan menggunakan pancaindera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak tersebut. Dari hasil uji organoleptis ekstrak kental diperoleh bentuk kental, berwarna cokelat kehitaman, tidak berbau, dan rasa agak kelat. Hasil uji organoleptis yang diperoleh dalam penelitian tidak dibandingkan dengan standar karena belum ditemukan referensi mengenai organoleptis untuk ekstrak kental daun teh hijau.

7.2 Penetapan susut pengeringan ekstrak daun teh hijau. Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui dan mengukur kandungan air yang ada dalam ekstrak daun teh hijau, sehingga dapat memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam ekstrak tersebut. Penetapan susut pengeringan ini berhubungan dengan kemurnian dan kontaminasi. Ekstrak kental yang mengandung kadar air dalam jumlah yang tinggi merupakan media tempat pertumbuhan mikroorganisme. Pada proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dimana merupakan pelarut dengan kombinasi etanol dan air. Air yang terkandung dalam ekstrak dapat menjadi tempat pertumbuhan mikroorganisme seperti kapang, khamir, dan bakteri.

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan cara gravimetri, yaitu dengan menimbang selisih bobot ekstrak sebelum dan sesudah pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 105°C, yaitu suhu optimal untuk menguapkan air yang terkandung dalam ekstrak. Hasil percobaan, diperoleh kadar air ekstrak daun teh hijau sebesar 6,36% tidak lebih dari 30% memenuhi dengan syarat kadar air yang baik (Voigt 1994). Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun teh hijau dapat dilihat pada tabel 6.

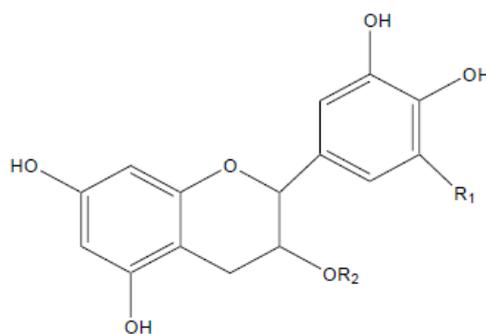
Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun teh hijau.

No	Berat cawan kosong (gram)	Berat cawan + ekstrak sebelum dioven	Bobot awal (gram)	Berat cawan + ekstrak setelah dioven	Bobot akhir (gram)	Kadar air ekstrak (%)
1	22,1672	24,1966	2,0294	22,2966	1,9000	6,38
2	22,4775	24,5864	2,1089	22,6114	1,9750	6,35
3	22,3867	24,4065	2,0198	22,5217	1,8913	6,36
Rata-rata ± SD						6,36 ± 0,02

Penetapan susut pengeringan ekstrak daun teh hijau memperoleh hasil yang didapat dari 3 kali replikasi yaitu didapatkan kadar air dibawah 16%. Hasil dari penetapan susut pengeringan ekstrak daun teh hijau sudah sesuai dengan prosedur dimana jarak masing-masing penimbangan tidak lebih dari 0,25% dan hasil kadar air tidak lebih dari 16% (Depkes RI 2011). Kadar air yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan kapang sehingga menyebabkan penurunan mutu dan rusaknya ekstrak. Air merupakan media pertumbuhan yang baik bagi mikroorganisme (Depkes RI 2011). Hasil penetapan kadar air ekstrak daun teh hijau dapat dilihat pada lampiran 7.

8. Identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak daun teh hijau

Penentuan identitas ekstrak bertujuan untuk mendapatkan identitas obyektif dan spesifik dari senyawa identitas yang terkandung dalam ekstrak. Identitas ekstrak tersebut sangat diperlukan sehingga kita dapat dengan mudah membedakan ekstrak tanaman yang satu dengan yang lain, suatu ekstrak dapat mengandung senyawa identitas dari tanaman penyusunnya. Karakterisasi ekstrak daun teh hijau dapat dilakukan dengan menetapkan senyawa identitas yang merupakan senyawa tunggal atau kelompok kelas senyawa dalam tanaman obat dan dipakai sebagai acuan kontrol kuantitatif tanpa memperhatikan apakah senyawa atau kelompok senyawa tersebut memiliki aktivitas terapi atau tidak. Secara umum suatu senyawa atau sekelompok senyawa dapat menjadi senyawa identitas bahan tumbuhan obat jika senyawa tersebut stabil, dapat diidentifikasi dan dianalisa secara kuantitatif, serta unik untuk tanaman yang bersangkutan (Sinambela 2002).



Gambar 17. Struktur epigallocatekin

Teh hijau mengandung senyawa epigallocatekin galat yang merupakan senyawa golongan polifenol termasuk golongan fenol. Epigallocatekin galat merupakan konstituen yang utama, memiliki sifat antioksidan tertinggi dan dapat mampu menghambat adanya pertumbuhan mikroorganisme. Pengujian kandungan senyawa kimia pada serbuk dan ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) juga dapat bertujuan untuk menganalisis kandungan senyawa yang terkandung dalam serbuk dan ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.). Hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak daun teh hijau

No	Kandungan kimia	Hasil		Keterangan	Pustaka
		Serbuk	Ekstrak		
1	Fenol	+	+	Hitam	Warna hijau, violet, atau hitam (Depkes RI 1979)
2	Flavonoid	+	+	Kuning	Warna jingga, kuning pada lapisan amil alkohol. (Depkes RI 1979)
3	Saponin	+	+	Terbentuk busa	Terbentuk busa (Depkes RI 1979)
4	Tanin	+	+	Biru kehitaman	Biru kehitaman (Depkes RI 1979)
5	Triterpenoid	+	+	Merah keunguan	Merah sampai ungu (Depkes RI 1979)
6	Alkaloid	+	+	Reagen Mayer (endapan putih) Reagen Bourchardat (endapan hitam) Reagen Wagner (endapan hitam)	Mayer membentuk endapan putih, dengan Bourchardat membentuk endapan hitam, dengan Wagner membentuk endapan hitam (Depkes RI 1979)

Keterangan :

+ = terjadi perubahan warna

- = tidak terjadi perubahan warna

8.1 Identifikasi fenol. Pengujian uji fenol dilakukan dengan menggunakan serbuk dan ekstrak daun teh hijau. Pengujian fenol dengan penambahan air panas diharapkan menghasilkan filtrat yang nantinya akan ditambahkan dengan besi (III) klorida untuk menghasilkan warna hitam. Hasil positif fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, violet, biru sampai hitam (Depkes RI 1979).

8.2 Identifikasi flavonoid. Uji flavonoid dengan menggunakan serbuk magnesium dan HCL pekat yang berfungsi untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. Reduksi dengan magnesium dan HCL pekat dapat

menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna. Hasil positif flavonoid terbentuk berwarna kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol. Warna merah ungu menunjukkan adanya flavonol, flavonon (Robinson 1996).

Serbuk dan ekstrak daun teh hijau menunjukkan adanya senyawa flavonoid dan flavonol. Serbuk daun teh hijau terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol sehingga serbuk daun teh hijau positif flavonoid dan untuk ekstrak daun teh hijau positif flavonol ditunjukkan terbentuknya warna merah bata. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar karena memiliki gugus -OH yang tersubstitusi sehingga membentuk ikatan hidrogen (Sriwahyuni 2010). Senyawa aktif yang polar akan mudah terlarut pada pelarut yang polar. Pelarut etanol 96% yang bersifat semipolar mampu menarik senyawa flavonoid yang bersifat polar.

8.3 Identifikasi saponin. Pengujian saponin dilakukan dengan uji busa yaitu dengan penambahan air panas kemudian dikocok kuat-kuat bertujuan untuk membuat terbentuknya busa, dengan penambahan HCL 1 N busa tidak hilang. Hasil yang didapat pada serbuk dan ekstrak daun teh hijau setelah dilakukan percobaan tadi busa tidak hilang, maka serbuk dan ekstrak daun teh hijau positif mengandung saponin. Hal ini disebabkan oleh pelarut etanol 96% bersifat semipolar sehingga mampu menarik senyawa saponin yang bersifat polar.

8.4 Identifikasi tanin. Langkah awal dalam pengujian senyawa tanin pada serbuk dan ekstrak daun teh hijau dengan penambahan air panas yang bertujuan untuk melarutkan zat tersebut. Serbuk dan ekstrak daun teh hijau ditambahkan larutan FeCl_3 1% untuk melihat perubahan warna yang terjadi. Hasil yang didapatkan pada serbuk dan ekstrak daun teh hijau terbentuk warna biru kehitaman yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat.

Uji fitokimia tanin dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil

positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987) cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana yaitu menambahkan serbuk dan ekstrak daun teh hijau dengan larutan FeCl_3 1% dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada serbuk dan ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} . Tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman (Depkes RI 1979).

8.5 Identifikasi triterpenoid dan steroid. Serbuk dan ekstrak daun teh hijau ditambah dengan senyawa lain akan menunjukkan hasil triterpenoid atau steroid pada daun teh hijau. Analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam klorida. Hasil positif diberikan pada sampel yang membentuk warna biru atau hijau untuk analisis steroid, sedangkan terpen positif apabila terbentuk warna merah atau ungu (Depkes RI 1979). Hasil dari pengujian ini menunjukkan warna merah keunguan dimana serbuk dan ekstrak daun teh hijau ini positif mengandung triterpenoid.

8.6 Identifikasi alkaloid. Pengujian alkaloid pada serbuk dan ekstrak daun teh hijau dengan menggunakan reagen Wagner, Mayer dan Bouchardat. Alkaloid merupakan golongan terbesar hasil positif ditunjukkan dengan reagen Wagner membentuk endapan hitam, dengan reagen Mayer membentuk endapan bewarna putih atau kuning dan dengan reagen Bouchardat membentuk endapan coklat atau hitam. Hasil analisis pada serbuk dan ekstrak daun teh hijau yaitu dengan reagen Wagner membentuk endapan hitam, dengan reagen Mayer membentuk endapan putih, dengan reagen Bouchardat membentuk endapan hitam, sehingga serbuk dan ekstrak daun teh hijau positif mengandung alkaloid.

Pada uji alkaloid dengan Mayer akan terjadi reaksi antara nitrogen dengan ion kalium sehingga membentuk kompleks kalium yang mengendap. Proses ekstraksi daun teh hijau menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar, senyawa alkaloid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga pelarut etanol dapat

menarik senyawa alkaloid. Tabung pertama ditambahkan dengan pereaksi Dragendroff, tabung kedua ditambahkan pereaksi Meyer, dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Wagner. Alkaloid yang terbentuk karena penambahan pereaksi Dragendroff akan menunjukkan endapan merah, pada penambahan pereaksi Meyer akan menunjukkan terjadinya endapan putih, dan pada penambahan pereaksi Wagner akan terbentuk endapan coklat (Depkes RI 1986).

Uji alkaloid dengan Mayer akan terjadi reaksi antara nitrogen dengan ion kalium sehingga membentuk kompleks kalium yang mengendap. Proses ekstraksi daun teh hijau menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar, senyawa alkaloid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga pelarut etanol dapat menarik senyawa alkaloid.

9. Hasil formulasi obat kumur daun teh hijau

Obat kumur daun teh hijau dibuat dalam 4 formula berisi ekstrak daun teh hijau dan 1 formula tanpa ekstrak daun teh hijau sebagai kontrol negatif (-). Variasi konsentrasi obat kumur dengan ekstrak masing-masing konsentrasi ekstrak daun teh hijau yang digunakan berbeda-beda yaitu 1%, 2%, 3%, dan 4%. Hasil formulasi obat kumur dibuat untuk melihat perbedaan masing-masing formula dengan konsentrasi ekstrak yang bervariasi dalam kekentalan dan ketercampuran ekstrak dengan bahan pengisi didalamnya. Semua formula dilakukan pengujian mutu fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, dan uji stabilitas), uji kandungan air dan uji difusi. Tujuan dari pengujian mutu fisik ini supaya formula obat kumur ekstrak daun teh hijau ini memenuhi persyaratan formula obat kumur yang baik. Tujuan dari kandungan air atau penetapan kadar air ini bertujuan supaya dapat mengetahui ekstrak yang dibuat memenuhi standar dari penggunaan ekstrak yang baik. Variasi konsentrasi ekstrak daun teh hijau yang dibuat bertujuan untuk mengetahui konsentrasi paling optimum sebagai antibakteri dalam rongga mulut. Hasil yang sudah dibuat 4 formula dengan berbagai macam variasi konsentrasi ekstrak daun teh hijau dan 1 formula sebagai kontrol negatif (-) memberikan efek terhadap bakteri dan uji mutu fisiknya memenuhi persyaratan obat kumur yang baik.

10. Hasil pembuatan obat kumur

Daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dibuat dalam sediaan obat kumur dengan berbagai macam variasi konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.). Pembuatan obat kumur dari ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dengan variasi konsentrasi 1%, 2%, 3%, dan 4% dibuat dalam 100 ml aquadest. Tween 80 dan aquadest dengan perbandingan 1:5 dicampur dengan dipanaskan diatas *waterbath* (penangas air) sampai larut, tujuan dari pemanasan untuk melarutkan tween 80 dan aquadest supaya terlarut dan homogen. Campuran tween 80 dan aquadest dituang ke dalam campuran ekstrak daun teh hijau apabila suhu sudah turun sekitar 25-30°C. Tujuan dari mencampurkan larutan tween 80 dalam kondisi hangat supaya ekstrak yang dicampur dengan larutan tersebut tidak rusak karena suhu yang terlalu tinggi. Pemilihan tween 80 sebagai surfaktan karena tween 80 dapat meningkatkan kelarutan ekstrak daun teh hijau sehingga ekstrak dapat bercampur dengan bahan pengisi lainnya.

Ekstrak daun teh hijau dilarutkan dengan *oleum menthae* diawal pembuatan. Penambahan *oleum menthae* diawal ini bertujuan untuk membantu melarutkan ekstrak daun teh hijau agar dapat bercampur dengan bahan pengisi lainnya. *Oleum menthae* dipilih karena mampu memperbaiki aroma ekstrak daun teh hijau yang kurang enak terhadap sediaan obat kumur yang dibuat.

Gliserol sendiri berfungsi sebagai pengatur kekentalan didalam sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau. Sorbitol berfungsi sebagai pemberi rasa manis dalam sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau, dimana pada pembuatan obat kumur dengan ekstrak daun teh hijau ini kurang enak sehingga perlu penambahan sorbitol untuk memperbaiki rasa dari sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau. Sorbitol dipilih karena termasuk pemanis yang terbuat dari alam. Penggunaan pengawet dengan kombinasi metil paraben dan propil paraben bertujuan untuk meningkatkan keefektifitasan dari pengawet tersebut supaya lebih maksimal dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme didalam sediaan obat kumur. Metil paraben dan propil paraben boleh digunakan dalam sediaan obat kumur jika memenuhi batas yang ditentukan. Obat kumur yang sudah jadi disimpan

dalam suhu ruang 25°C, kering, dan ditutup rapat untuk menjaga kualitas dari obat kumur ekstrak daun teh hijau.

11. Hasil uji mutu fisik dan stabilitas obat kumur

11.1 Hasil uji organoleptis. Pemeriksaan organoleptis pada obat kumur dilakukan untuk melihat tampilan fisik dari suatu sediaan yang dilihat menggunakan panca indera meliputi bentuk, warna, dan bau. Hasil pengamatan organoleptis dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil pengamatan organoleptis

Pemeriksaan	Waktu	Formula	Formula	Formula	Formula	Kontrol	Kontrol
		1	2	3	4	+	-
Konsistensi	Hari ke-1	Cair	Cair	Agak kental	Kental	Cair	Cair
	Hari ke-7	Cair	Cair	Agak kental	Kental	Cair	Cair
	Hari ke-14	Cair	Cair	Agak kental	Kental	Cair	Cair
	Hari ke-21	Cair	Cair	Agak kental	Kental	Cair	Cair
Warna	Hari ke-1	Oranye	Oranye pekat	Coklat muda	Coklat	Hijau muda	Bening
	Hari ke-7	Oranye	Oranye pekat	Coklat muda	Coklat	Hijau muda	Bening
	Hari ke-14	Oranye	Oranye pekat	Coklat muda	Coklat	Hijau muda	Bening
	Hari ke-21	Oranye	Oranye pekat	Coklat muda	Coklat	Hijau muda	Bening
Bau	Hari ke-1	Khas	Khas	Khas	Khas	Lemon	Tidak berbau
	Hari ke-7	Khas	Khas	Khas	Khas	Lemon	Tidak berbau
	Hari ke-14	Khas	Khas	Khas	Khas	Lemon	Tidak berbau
	Hari ke-21	Khas	Khas	Khas	Khas	Lemon	Tidak berbau

Keterangan :

Formula 1 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 1%

Formula 2 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 2%

Formula 3 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 3%

Formula 4 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 4%

Kontrol + : Obat kumur X

Kontrol - : Formula obat kumur tanpa ekstrak daun teh hijau

Organoleptis yang meliputi bentuk, warna, dan bau suatu sediaan akan mempengaruhi kenyamanan dalam penggunaan pada rongga mulut (Elmitra 2017). Kontrol negatif (-) diperoleh hasil cair, berwarna bening, dan berbau permen atau mint. Konsentrasi ekstrak daun teh hijau yang ditambahkan akan merubah penampilan sediaan, dimana penggunaan konsentrasi ekstrak yang

semakin tinggi akan membuat sediaan obat kumur menjadi lebih pekat dan lebih kental.

Tabel 8 menunjukkan bahwa obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 1%, 2%, 3%, dan 4%, menghasilkan perbedaan pada konsistensi, warna dan bau. Formula 1 dan formula 2 dengan konsentrasi ekstrak daun teh hijau 1% dan 2% mempunyai konsistensi cair dibandingkan dengan formula 3 dan 4, hal ini disebabkan adanya penggunaan air yang lebih banyak pada formula 1 dan formula 2 daripada formula 3 dan 4, sehingga kekentalan yang diperoleh didalam sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau mengalami perbedaan yang signifikan dari keempat formula.

Formula 1 memiliki warna yang lebih muda yaitu berwarna oranye, sedangkan pada formula 2 berwarna oranye pekat daripada formula 3 dan 4 yang berwarna coklat hingga coklat tua pada formula 4, hal ini disebabkan formula 1 mengandung konsentrasi ekstrak daun teh hijau yang paling sedikit. Semakin banyak konsentrasi ekstrak yang ditambahkan ke dalam sediaan obat kumur, semakin pekat warna yang dihasilkan. Hasil yang diperoleh dari pengamatan yang dilakukan pada hari ke-1 dan hari ke-21 yaitu tidak ada perubahan tampilan fisik dari obat kumur. Hasil yang diperoleh baik formula 1, 2, 3, 4, kontrol positif dan basis tetap stabil.

11.2 Hasil uji homogenitas. Pengujian homogenitas dilakukan untuk mengetahui sediaan obat kumur yang dibuat homogen atau tidak homogen, dimana pada uji homogenitas ini dilihat ketercampuran suatu bahan didalam satu larutan. Hasil sediaan yang tidak homogen yaitu terdapat butiran atau endapan pada sediaan obat kumur. Hal ini terjadi karena bahan dari penyusun obat kumur tidak melarut dengan sempurna didalam sediaan antara zat aktif dengan bahan penyusun lainnya. Homogenitas sediaan obat kumur menyatakan ketercampuran bahan yang terkandung dalam sediaan, bahan yang tercampur merata akan mempengaruhi keefektifan dari sediaan obat kumur dan kenyamanan yang ditimbulkan. Hasil obat kumur yang homogen juga dapat memperlihatkan nilai estetik dalam sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau (Elmitra 2017). Hasil pengamatan uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji homogenitas

Waktu	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Kontrol +	Kontrol -
Hari ke-1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Hari ke-7	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Hari ke-14	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Hari ke-21	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Keterangan :

Formula 1 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 1%

Formula 2 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 2%

Formula 3 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 3%

Formula 4 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 4%

Kontrol + : Obat kumur X

Kontrol - : Formula obat kumur tanpa ekstrak daun teh hijau

Tabel 9 menunjukkan bahwa obat kumur ekstrak daun teh hijau yang dilakukan pengamatan pada hari ke-1 dan hari ke-21, pada basis atau kontrol negatif terlihat homogen. Formula 1, 2, 3, dan 4 yang mengandung ekstrak daun teh hijau terlihat homogen, warna merata dan tidak terdapat butiran-butiran didalamnya. Hal ini menunjukkan bahwa setelah penambahan ekstrak daun teh hijau ke dalam formula, hasil formula tetap homogen.

11.3 Hasil uji viskositas. Viskositas sediaan obat kumur akan mempengaruhi efek yang ditimbulkan. Obat kumur yang terlalu kental akan menyebabkan rasa kurang nyaman saat berkumur, sehingga berkumur dengan sediaan yang terlalu kental akan mengakibatkan rongga mulut terasa berat. Obat kumur yang viskositasnya terlalu kental membuat efektivitas penggunaan zat aktifnya menjadi tidak maksimal karena susahny menjangkau bagian tersulit seperti sela-sela gigi. Hasil uji viskositas sediaan obat kumur daun teh hijau dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil uji viskositas

Waktu	Viskositas (mPa.s)					
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Kontrol +	Kontrol -
Hari ke-1	4,49	4,68	4,85	5,77	4,23	4,23
Hari ke-21	4,32	4,53	4,68	5,60	4,19	4,14

Keterangan :

Formula 1 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 1%

Formula 2 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 2%

Formula 3 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 3%

Formula 4 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 4%

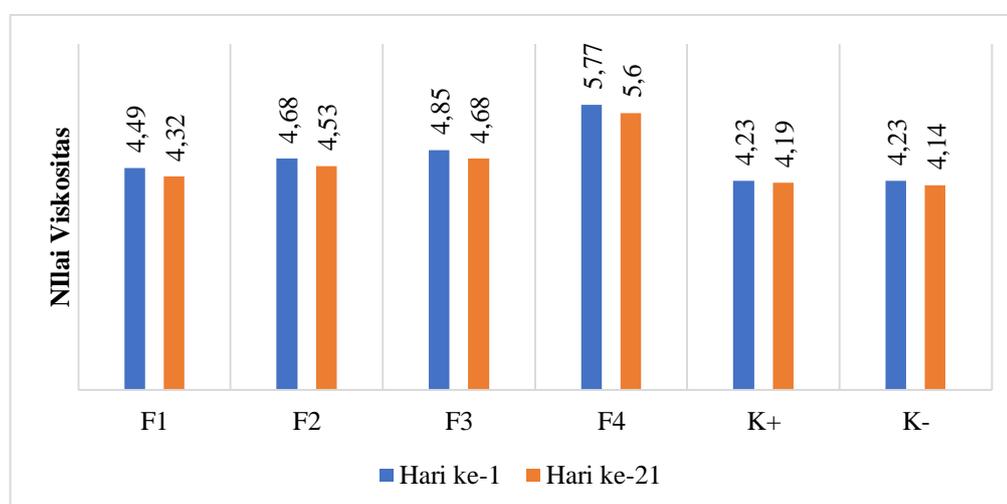
Kontrol + : Obat kumur X

Kontrol - : Formula obat kumur tanpa ekstrak daun teh hijau

Tabel 10 menunjukkan hasil viskositas pada formula 1, 2, 3, 4, kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil viskositas pada keempat formula menunjukkan

adanya perbedaan. Ekstrak daun teh hijau yang ditambahkan ke dalam formula mempengaruhi hasil viskositas, jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Nilai viskositas keempat formula lebih tinggi daripada kontrol negatif.

Viskositas pada penelitian ini menggunakan metode kapiler. Metode kapiler dipilih karena memiliki keuntungan yang lebih akurat dalam perhitungan viskositas, waktu yang dibutuhkan relatif singkat, dan cara kerjanya praktis.. Metode ini menggunakan pipet ukur dan suhu ruang saat akan melakukan metode kapiler (Elmitra 2017).



Gambar 18. Grafik data uji viskositas

Gambar 10 merupakan grafik hasil uji viskositas pada hari ke-1 dan hari ke-21, hasil yang diperoleh yaitu pada hari ke-21 terjadi penurunan viskositas sediaan, hal ini dipengaruhi oleh suhu penyimpanan sediaan, dan tempat yang tidak tertutup kedap. Sediaan yang disimpan pada suhu ruang cenderung memiliki nilai viskositas yang lebih kecil daripada sediaan yang disimpan pada suhu dingin.

Analisis dilakukan dengan menggunakan *One Sample Kolmogorov Smirnov* nilai signifikansi pada pengujian viskositas pada hari ke-1 $0,892 > 0,05$ (H_0 diterima), sedangkan pada hari ke-21 nilai signifikansi $0,821 > 0,05$ (H_0 diterima). Data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis dengan *Independent T-Test*. Berdasarkan analisa SPSS menggunakan *Independent T-Test* pada *equal variacens assumed* nilai t yaitu 0,408 dengan nilai sig 0,905. Hasil nilai sig $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kedua varian sama, sedangkan dilihat

pada *equal variacens not assumed* nilai t yaitu 0,408 dengan nilai sig (*2-tiled*) 0,692. Hasil nilai sig > 0,05 maka H0 diterima atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hari ke-1 dengan hari ke-21 pada pengujian viskositas terhadap obat kumur ekstrak daun teh hijau. Hasil perhitungan dan analisis SPSS nilai viskositas dapat dilihat pada lampiran 11.

11.4 Hasil uji pH. Pengujian pH pada sediaan obat kumur dilakukan dengan pH meter yang telah dikalibrasi. Pengujian pH bertujuan untuk mengetahui kesesuaian pH sediaan obat kumur daun teh hijau dengan pH obat kumur yang sudah ditetapkan. Hasil uji pH dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Data hasil uji pH

Waktu	pH					
	F1	F2	F3	F4	K+	K-
Hari ke-1	6,13	6,25	6,37	6,43	6,63	6,07
	6,15	6,26	6,38	6,45	6,63	6,08
	6,14	6,26	6,36	6,46	6,62	6,07
Rata-rata ± SD	6,14 ±	6,26 ±	6,37 ±	6,45 ±	6,63 ±	6,07 ±
	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01
Hari ke-7	6,07	6,18	6,28	6,32	6,54	5,91
	6,06	6,18	6,29	6,33	6,54	5,91
	6,06	6,19	6,28	6,32	6,54	5,93
Rata-rata ± SD	6,06 ±	6,18 ±	6,28 ±	6,32 ±	6,54 ±	5,92 ±
	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01
Hari ke-14	5,96	6,05	6,14	6,24	6,49	5,79
	5,97	6,07	6,15	6,25	6,48	5,78
	5,98	6,06	6,13	6,24	6,49	5,77
Rata-rata ± SD	5,97 ±	6,06 ±	6,14 ±	6,24 ±	6,49 ±	5,78 ±
	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Hari ke-21	5,81	5,93	6,06	6,12	6,47	5,67
	5,82	5,94	6,07	6,13	6,46	5,66
	5,81	5,93	6,05	6,13	6,46	5,67
Rata-rata ± SD	5,81 ±	5,93 ±	6,06 ±	6,13 ±	6,46 ±	5,67 ±
	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Keterangan :

Formula 1 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 1%

Formula 2 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 2%

Formula 3 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 3%

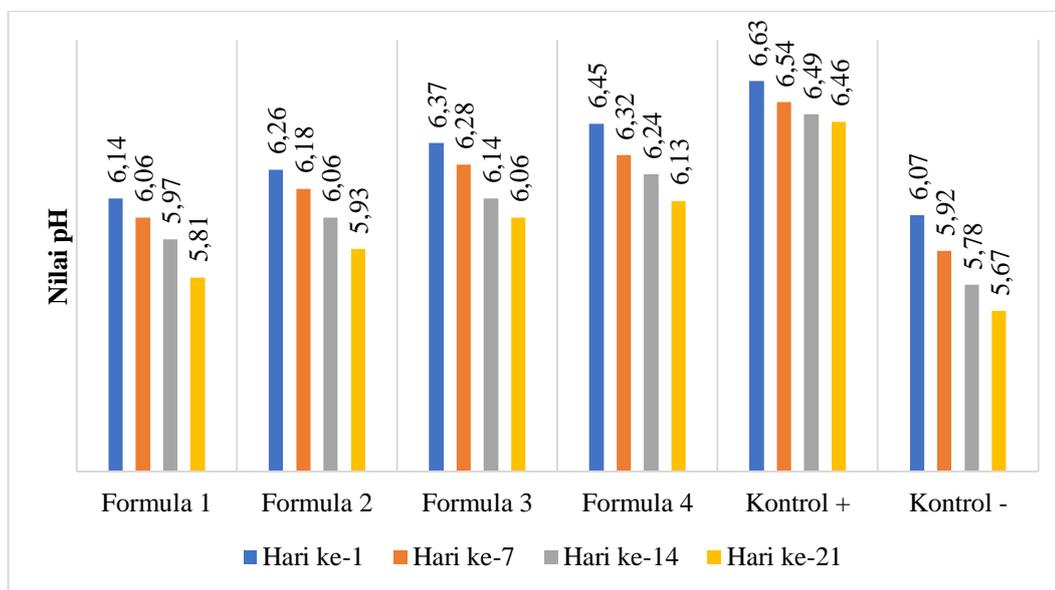
Formula 4 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 4%

Kontrol + : Obat kumur X

Kontrol - : Formula obat kumur tanpa ekstrak daun teh hijau

Syarat pH sediaan obat kumur yang baik yaitu memiliki pH yang masuk ke dalam pH rongga mulut (5,5 – 7,0) (Elmitra 2017). Sediaan oral yang baik yaitu tidak mengiritasi gusi dan bagian didalam rongga mulut lainnya. Iritasi pada

rongga mulut ini dapat disebabkan jika sediaan terlalu asam. pH sediaan yang terlalu basa akan menyebabkan bagian dalam rongga mulut menjadi kering, dan akan menimbulkan ketidaknyamanan pada rongga mulut.



Gambar 19. Grafik data uji pH

Berdasarkan hasil uji pH, sediaan obat kumur telah memenuhi persyaratan sebagai sediaan oral. Gambar 11, merupakan grafik data uji pH, dari grafik tersebut menyatakan bahwa terjadi penurunan nilai pH pada semua sediaan setelah disimpan selama 21 hari. Penurunan nilai pH dapat disebabkan karena sediaan disimpan pada suhu ruang.

Analisis dilakukan dengan menggunakan *One Sample Kolmogorov Smirnov* nilai signifikansi pada pengujian viskositas pada hari ke-1 yaitu $1 > 0,05$ (H_0 diterima), pada hari ke-7 nilai signifikansi $0,999 > 0,05$ (H_0 diterima), sedangkan pada hari ke-14 nilai signifikansi $1 > 0,05$ (H_0 diterima), sedangkan pada hari ke-21 nilai signifikansi $0,997 > 0,05$ (H_0 diterima). Data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis dengan *Independent T-Test*. Berdasarkan analisa SPSS menggunakan *Independent T-Test* pada *equal variacens assumed* nilai t yaitu 0,846 dengan nilai sig 1. Hasil nilai sig $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kedua varian sama, sedangkan dilihat pada *equal variacens not assumed* nilai t yaitu 0,846 dengan nilai sig (2-tiled) 0,417. Hasil nilai sig $> 0,05$ maka H_0 diterima atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan

antara hari ke-1, hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-21 pada pengujian viskositas terhadap obat kumur ekstrak daun teh hijau. Hasil perhitungan dan analisis SPSS nilai pH dapat dilihat pada lampiran 12.

11.5 Hasil uji stabilitas. Uji stabilitas bertujuan untuk melihat terjadinya pemisahan dalam sediaan selama proses penyimpanan. Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan metode ruang, pada uji ini dilakukan dengan cara mengamati larutan obat kumur ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) didalam suhu ruang atau kamar selama 21 hari. Suhu ruang yang biasa digunakan yaitu 25°C, kemudian diamati adanya perubahan organoleptis dari obat kumur ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) tersebut (Elmitra 2017). Hasil uji stabilitas dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil pengamatan uji stabilitas

Pemeriksaan	Waktu	Formula	Formula	Formula	Formula	Kontrol +	Kontrol -
		1	2	3	4		
Konsistensi	Hari ke-1	Cair	Cair	Agak kental	Kental	Cair	Cair
	Hari ke-21	Cair	Cair	Agak kental	Kental	Cair	Cair
Warna	Hari ke-1	Oranye	Oranye pekat	Coklat muda	Coklat	Hijau muda	Bening
	Hari ke-21	Oranye	Oranye pekat	Coklat muda	Coklat	Hijau muda	Bening
Bau	Hari ke-1	Khas	Khas	Khas	Khas	Lemon	Tidak berbau
	Hari ke-21	Khas	Khas	Khas	Khas	Lemon	Tidak berbau
Stabilitas	Hari ke-1	Tidak memisah					
	Hari ke 21	Tidak memisah					

Keterangan :

Formula 1 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 1%

Formula 2 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 2%

Formula 3 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 3%

Formula 4 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 4%

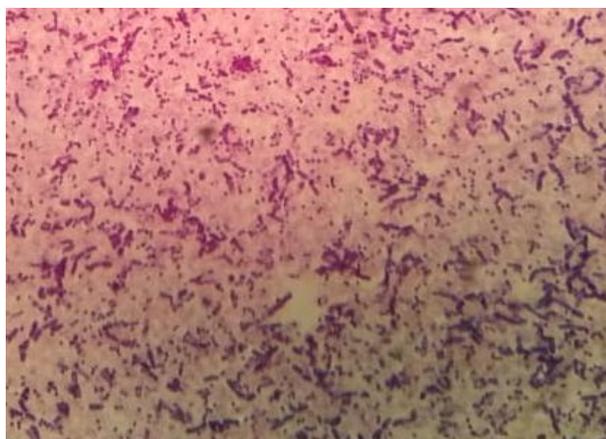
Kontrol + : Obat kumur X

Basis : Formula obat kumur tanpa ekstrak daun teh hijau

12. Hasi uji identifikasi bakteri *Streptococcus mutans*

12.1 Identifikasi dengan pewarnaan Gram. Identifikasi bakteri dilakukan dengan cara pengamatan Gram terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dimana akan dilakukan pengecatan bakteri yang merupakan pengecatan diferensial yang bertujuan untuk memberi warna pada bakteri agar

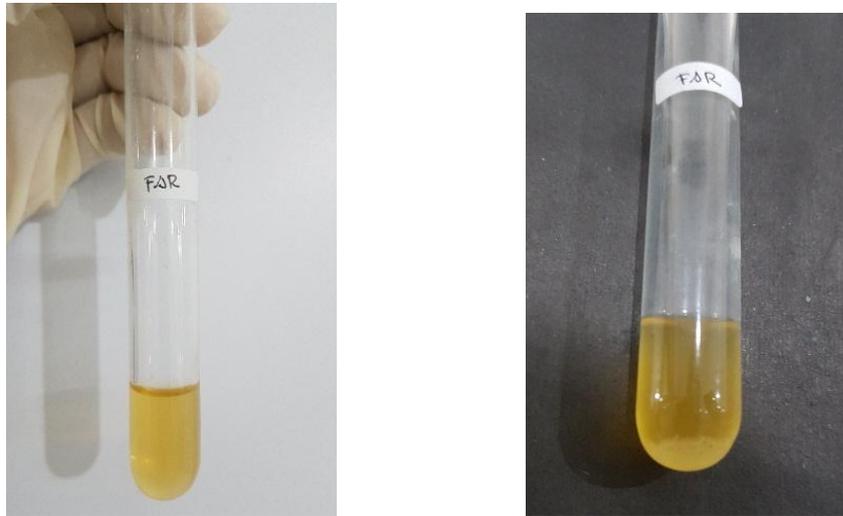
terlihat jelas dan untuk mengetahui antara Gram positif dan Gram negatif. Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 merupakan Gram positif dengan menunjukkan bentuk bakteri bulat, rantai, dan berwarna ungu. Bakteri Gram positif dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga permeabilitas dinding sel bakteri kurang, maka kompleks ungu kristal iodium dipertahankan dan bakteri tetap berwarna ungu (Jawetz *et al.* 2007). Pewarnaan Gram pada bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 yang telah dibuat langsung dilihat dibawah mikroskop pada perbesaran 100x. Hasil dapat dilihat pada gambar 12 dan lampiran 13.



Gambar 20. Pewarnaan Gram

12.2 Identifikasi dengan uji biokimia. Identifikasi dengan uji biokimia dilakukan dengan uji katalase dan uji koagulase, dimana 2 tabung reaksi yang masing-masing berisi suspensi bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Tabung pertama yang ditambahkan dengan H_2O_2 (hidrogen peroksida) untuk pengujian katalase pada uji biokimia ini, identifikasi bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh hasil negatif, dimana tidak terdapat gelembung pada bakteri ini. Hal ini menunjukkan identifikasi pada bakteri tersebut benar-benar bakteri *Streptococcus mutans* karena bakteri *Streptococcus mutans* tidak memiliki enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 (Hidrogen Peroksida). Tabung kedua yang ditambahkan plasma sitrat, hasil yang didapat pada uji ini terdapat plasma yang menggumpal karena bakteri *Streptococcus mutans* mendenaturasi plasma darah sehingga terbentuk gumpalan berwarna putih. Identifikasi uji biokimia secara koagulase ini

menunjukkan positif bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil dapat dilihat pada gambar 13 dan lampiran 13.



Gambar 21. Uji katalase dan uji koagulase

12.3 Identifikasi dengan agar darah. Identifikasi pada media Agar Darah dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan terbukti dan benar-benar bakteri *Streptococcus mutans*. Suspensi bakteri digoreskan diatas permukaan media dengan menggunakan kapas lidi steril. Media yang digunakan yaitu media MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang ditambah dengan darah. Uji bakteri *Streptococcus mutans* pada media agar darah menunjukkan hemolisis pada sel darah merah sehingga bakteri *Streptococcus mutans* mempunyai tipe α -hemolitik yaitu melisis sel darah merah secara parsial akibat reduksi hemoglobin (Jawetz *et al.* 2007). Hasil identifikasi dengan media Agar Darah menunjukkan disekitar koloni bakteri berwarna kehijuan. Hasil dapat dilihat pada gambar 14 dan lampiran 13.



Gambar 22. Identifikasi agar darah.

13. Hasil pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dibuat dengan tujuan supaya bakteri yang dihasilkan sesuai dengan standar standar Mc. Farland $1,5 \times 10^8$ CFU/ml untuk menghindari koloni bakteri yang terlalu banyak saat didifusikan ke dalam media. Pembuatan ini perlu dilakukan karena merupakan langkah awal sebelum memulai praktikum. Hasil dapat dilihat pada lampiran 13.

14. Hasil uji difusi bakteri *Streptococcus mutans*

Hasil pengujian yang digunakan adalah dengan menggunakan metode difusi. Cakram kertas atau cakram disc yang digunakan untuk menguji biakan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 memiliki ketebalan ± 8 mm. Metode difusi dilakukan dengan tujuan menginokulasikan bakteri ke dalam media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan metode perataan (*Spread Plate Method*). Media didiamkan terlebih dahulu supaya suspensi biakan bakteri terdifusi ke dalam media. Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) diletakkan cakram berukuran ± 8 mm yang ditetesi menggunakan mikropipet sebanyak $50 \mu\text{L}$ ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) bertujuan agar larutan obat kumur ekstrak daun teh hijau tidak tumpah atau berlebihan.

Konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) yang digunakan dengan variasi konsentrasi masing-masing yaitu 1%, 2%, 3%, dan 4%. Kontrol negatif yang digunakan adalah formula obat kumur tanpa ekstrak daun teh hijau

atau basis obat kumur dan kontrol positif yang digunakan adalah larutan obat kumur X, masing-masing dengan volume 50 μ L. Media diinkubasi untuk membuat bakteri yang ditanam tumbuh di media dan dapat melihat daerah hambat yang dihasilkan obat kumur ekstrak daun teh hijau. Setelah inkubasi selesai, daerah bening di sekitar cakram kertas diamati dan diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong dengan mengukur 4 sisi yang sudah digaris. Satuan yang digunakan untuk mengukur daerah hambat dinyatakan dalam satuan mm. Pengujian daya hambat ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dilakukan sebanyak tiga kali ulangan untuk setiap konsentrasi yang diuji (Suriawiria 2005).

Ekstrak daun teh hijau mengandung flavonoid dan katekin yang mampu menghambat bakteri terutama bakteri *Streptococcus mutans*, sehingga pada penelitian ini dipilih untuk dibuat dalam sediaan obat kumur. Kemampuan katekin dalam pembentukan plak ada dua cara, dengan mencegah bakterisidal dan menghambat proses glikosilasi. Katekin dengan cara bakterisidal mampu mendenaturasi protein sel bakteri, namun katekin yang mampu menghambat proses glikosilasi bekerja dengan cara kompetitif dengan glikosiltransferase. Kemampuan flavonoid didalam daun teh hijau mampu membunuh bakteri *Streptococcus mutans* (Wijaya & Samad 2008). Hasil perhitungan daerah hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil perhitungan daerah hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Cawan petri	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Kontrol +	Kontrol -
Cawan petri 1	12,25 mm	14,50 mm	16,75 mm	18,25 mm	17,50 mm	-
Cawan petri 2	13,00 mm	14,25 mm	17,25 mm	19,25 mm	18,00 mm	-
Cawan petri 3	13,50 mm	15,75 mm	17,75 mm	18,50 mm	17,25 mm	-
Rata-rata \pm SD	12,92 mm \pm 0,63	14,83 mm \pm 0,80	17,25 mm \pm 0,50	18,67 mm \pm 0,52	17,58 mm \pm 0,38	-

Keterangan :

Formula 1 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 1%

Formula 2 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 2%

Formula 3 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 3%

Formula 4 : Obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 4%

Kontrol + : Obat kumur X

Kontrol - : Formula obat kumur tanpa ekstrak daun teh hijau

Obat kumur ekstrak daun teh hijau didapat hasil dari ketiga replikasi pada penelitian dengan metode uji difusi dapat dilihat dari rata-rata diameter yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.). Konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) 1% mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 12,92 mm, pada konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) 2% mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 14,83 mm, pada konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) 3% mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 17,25 mm, pada konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) 4% mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 18,67 mm. Kontrol negatif (-) dari pengujian ini adalah larutan obat kumur tanpa ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) yang tidak menghambat bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Davis & Stout (2009) mengemukakan kekuatan antibakteri dibagi menjadi empat kategori, yaitu kategori menghambat lemah (< 5mm), kategori menghambat sedang (5-10 mm), kategori menghambat kuat (10-20 mm), dan kategori menghambat sangat kuat (> 20 mm). Hasil penelitian daerah hambat obat kumur daun teh hijau pada konsentrasi 1%, 2%, 3%, dan 4% termasuk kedalam kategori kuat. Hasil rata-rata dari masing-masing konsentrasi sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) pada konsentrasi 1%, 2%, dan 3% dengan membandingkan pada kontrol + (obat kumur X), daerah hambat yang dihasilkan masih dibawah dari kontrol positif (+), dimana kontrol positif (+) mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 17,58 mm. Sedangkan konsentrasi daun teh hijau 4% sudah mampu melebihi daerah hambat dari kontrol (+) positif.

Sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) pada konsentrasi ekstrak 1%, 2%, 3%, dan 4% dibandingkan dengan kontrol negatif (-) mampu melebihi kontrol (-) negatif, karena pada kontrol (-) negatif tidak menghambat bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 sama sekali. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) yang digunakan pada sediaan obat kumur, maka semakin luas daerah hambat yang dihasilkan

untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Hasil analisis SPSS diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Tukey HSD diameter zona hambat.

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol -	3	0,0000			
Formula 1	3		2,9167		
Formula 2	3			14,8333	
Formula 3	3				17,2500
Kontrol +	3				17,5833
Formula 4	3				18,6667
Sig.		1,000	0,000	1,000	0,060

Tabel 14 analisa diatas menunjukkan hasil daerah hambat dari obat kumur ekstrak daun teh hijau menggunakan SPSS. Langkah awal dilihat dengan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* untuk melihat signifikan atau tidak dari hasil daerah hambat tersebut. Hasil signifikasi yang didapat ($0,192 > 0,05$) yang artinya hasil terdistribusi normal. Uji homogenitas dilakukan untuk langkah selanjutnya dengan *Test of Homogeneity Variances* untuk melihat homogen tidaknya hasil daerah hambat. Hasil yang diperoleh $0,126 > 0,05$ dimana hasil tersebut homogen. Uji dilanjutkan pada uji ANOVA dengan *Tukey HSD*. Tabel diatas menunjukkan kontrol negatif, formula 1, dan formula 2 tidak terdapat satu kolom pada kontrol positif, dimana hasil dari sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau belum setara dengan kontrol positif atau berbeda signifikan dengan kontrol positif.

Formula 3 dan formula 4 terdapat dalam satu kolom dengan kontrol positif, dimana sediaan obat kumur ekstrak daun teh hijau dengan konsentrasi 3% dan 4% tidak signifikan dengan kontrol positif. Formula teraktif terdapat pada formula 4 karena dengan konsentrasi 4% mampu menghambat bakteri dengan daerah hambat yang tidak signifikan dengan kontrol positif, sedangkan formula yang efektif terdapat pada formula 3 yaitu dengan konsentrasi 3% sudah mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175.