

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta dan dinyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kapulaga jenis *Amomum cardamomum* Auct. non L. suku Zingiberaceae. Foto determinasi tanaman dapat dilihat di lampiran 1.

2. Hasil Isolasi Minyak Atsiri Buah Kapulaga

Isolasi minyak atsiri buah kapulaga menggunakan metode destilasi uap-air yang mempunyai suhu tinggi sehingga menyebabkan proses isolasi minyak atsiri akan berjalan lebih baik, tingginya suhu membuat pergerakan air lebih besar karena energi kinetik antar molekul meningkat dan mempercepat proses difusi (Fuki *et al*, 2012).

Tabel 3. Rendemen minyak atsiri buah kapulaga

Bobot buah kapulaga	Bobot minyak atsiri buah kapulaga	Rendemen
1000 gram	20 mL	2% (v/b)

Dari hasil isolasi minyak atsiri buah kapulaga diperoleh rendemen minyak atsiri sebesar 2%, sementara data yang ada kadar minyak atsiri kapulaga adalah 3-7% (Agoes 2010). Kadar kapulaga yang diperoleh berbeda dengan literatur, hal ini dapat dipengaruhi karena buah kapulaga yang diambil tidak langsung di destilasi, sehingga kemungkinan terjadinya penguapan minyak atsiri. Foto hasil isolasi minyak atsiri buah kapulaga dapat dilihat di lampiran 2.

3. Hasil Analisis Mutu Minyak Atsiri.

Analisis mutu minyak atsiri dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemurnian minyak atsiri dari hasil destilasi yang telah dilakukan. Hasil analisis mutu minyak atsiri buah kapulaga seperti terlihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis mutu minyak atsiri buah kapulaga

No	Parameter	Karakteristik minyak atsiri	
		Hasil destilasi	Persyaratan SNI
1.	Warna	Kuning jernih	Kuning muda – coklat kemerahan
2.	Bobot Jenis 25 ⁰ C	0,9175	0,919 – 0,938
3.	Indeks bias (ⁿ _D ³⁰)	1,4580	1,466 – 1,472
4.	Kelarutan dalam etanol 90% pada suhu 20 ⁰ C ± 3 ⁰ C	1:5 jernih	Larutan jernih atau opalesensi ringan dalam perbandingan 1:2 sampai 1:5

3.1. Hasil penentuan organoleptik. Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri buah kapulaga memiliki warna kuning jernih, dengan bau khas kapulaga, rasa hangat dan menyegarkan, serta bentuk cair. Hasil yang diperoleh memenuhi syarat SNI.

3.2. Hasil penentuan bobot jenis. Bobot jenis merupakan salah satu kriteria penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan kumpulan berat molekul dari berbagai komponen penyusun yang terkandung dalam minyak atsiri. Bobot jenis minyak atsiri buah kapulaga merupakan perbandingan berat minyak atsiri buah kapulaga dengan berat air dalam volume yang sama. Bobot jenis sering dihubungkan dengan fraksi berat komponen-komponen yang terkandung didalamnya. Semakin besar fraksi berat yang terkandung dalam minyak maka semakin besar nilai bobot jenisnya. Minyak yang memiliki komponen terpen teroksigenasi nilai bobot jenis lebih besar dibandingkan dengan terpen tak teroksigenasi (Sastrohamidjojo 2004). Hasil analisis bobot jenis minyak atsiri buah kapulaga adalah 0,9175 nilai yang diperoleh lebih rendah dari persyaratan SNI. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan konsentrasi komponen penyusun yang terkandung dalam minyak atsiri.

3.3. Hasil penentuan indeks bias. Indeks bias merupakan perbandingan cahaya dalam udara dengan kecepatan cahaya dalam minyak atsiri buah kapulaga. Semakin besar konsentrasi pada minyak atsiri sebanding dengan nilai indeks biasnya, hal ini disebabkan karena kecepatan cahaya akan menurun apabila melewati medium yang memiliki kerapatan yang besar dibandingkan udara (Sastrohamidjojo 2004). Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa indeks bias

minyak atsiri buah kapulaga sebesar 1,4580. Hasil analisis menunjukkan nilai yang lebih rendah dari persyaratan SNI. Hal ini dapat disebabkan oleh pengaruh suhu, dimana kelarutan zat pada umumnya bertambah dengan naiknya suhu. Nilai indeks bias dapat dipengaruhi salah satunya dengan adanya air dalam kandungan minyak atsiri. Foto hasil indeks bias dapat dilihat di lampiran 2.

3.4. Hasil penentuan kelarutan dalam alkohol. Kelarutan minyak dalam alkohol ditentukan oleh jenis komponen kimia yang terkandung dalam minyak. Pada umumnya minyak atsiri yang mengandung senyawa terpena teroksidasi lebih mudah larut dalam alkohol dari pada yang mengandung terpena tak teroksidasi. Hal ini karena terpena tak teroksidasi merupakan senyawa non polar yang tidak mempunyai gugus fungsional. Sehingga semakin besar kelarutan minyak atsiri pada etanol maka kualitas minyak semakin baik (Sastrohamidjojo 2004). Berdasarkan hasil analisis kelarutan minyak atsiri kapulaga dalam etanol 90% adalah 1:5. Hasil yang diperoleh telah memenuhi persyaratan SNI. Foto hasil kelarutan dalam alkohol dapat dilihat di lampiran 2.

4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

4.1. Hasil identifikasi bakteri. Identifikasi bakteri dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran bakteri yang akan diteliti dan menghindari kesalahan kemungkinan kontaminasi bakteri.

4.1.1. Hasil pewarnaan Gram. Tujuan dari pewarnaan Gram adalah untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas dari bakteri dengan zat warna (Irianto 2006). Hasil pewarnaan Gram bakteri *Streptococcus mutans* termasuk bakteri Gram positif dapat dilihat dari pengamatan mikroskop bakteri terlihat berwarna ungu dengan bentuk bulat yang berantai. Warna ungu ini dapat terjadi karena *Streptococcus mutans* ketika pencucian dengan alkohol mengalami denaturasi protein pada dinding selnya sehingga protein menjadi kaku, keras dan beku, serta pori-pori mengecil dan mempertahankan zat warna Gram A (kristal violet). Foto hasil pewarnaan Gram dapat dilihat di lampiran 3.

4.1.2. **Hasil uji biokimia.** Uji biokimia pada bakteri bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang berkaitan dengan metabolisme sel yang diketahui dari kemampuan mikroorganisme untuk menggunakan dan menguraikan molekul yang kompleks. Hasil identifikasi bakteri uji *Streptococcus mutans* yang diinokulasi pada medium Agar Darah dalam cawan petri kemudian diinkubasi selama kurang lebih 24-28 jam pada suhu 37⁰C. Hasil goresan yang positif ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna putih dengan tepian koloni berwarna hijau akibat dari kemampuan *Streptococcus mutans* melisiskan sebagian dari sel darah merah dan hemoglobin, sehingga terjadi penurunan hemoglobin akibat oksidasi Fe. Gambar hasil uji biokimia dapat dilihat pada lampiran 3.

4.1.3. **Hasil uji koagulase.** Prinsip pengujian berdasarkan kemampuan bakteri yang mengandung enzim koagulase dapat membekukan plasma yang digunakan untuk melindungi sel bakteri dari fagosit. Hasil uji koagulase bakteri *S. mutans* menggunakan plasma atau darah kelinci yang telah ditambahkan dengan sitrat sebanyak 0,3 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1-2 ose biakan bakteri murni, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37⁰C. Hasil positif dari percobaan tersebut yaitu terdapat gumpalan putih. Hal ini disebabkan karena bakteri *Streptococcus mutans* dapat memproduksi enzim koagulase yang dapat menggumpalkan plasma sitrat atau oksalat. Koagulase akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin yang akan menutupi dipermukaan *Streptococcus mutans*. Gambar dapat dilihat pada lampiran 3.

4.1.4. **Hasil uji katalase.** Hasil uji *Streptococcus mutans* setelah ditambah 4 tetes H₂O₂ 3% tidak akan terbentuk gelembung udara disekitar koloni. Hal ini merupakan uji negatif yang disebabkan karena *Streptococcus mutans* tidak mempunyai enzim katalase yang jika ditambah dengan hidrogen peroksida akan terurai menjadi H₂ dan O₂. Uji katalase diuji untuk membedakan *Streptococcus mutans* dengan Staphylococcus karena Staphylococcus dapat menghasilkan enzim katalase (Hadioetomo. 1985). Gambar dapat dilihat pada lampiran 3.

4.2. Hasil pembuatan suspensi bakteri. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan untuk perbanyak stok, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni *Streptococcus mutans* kedalam 10 mL BHI lalu diinkubasi selama 24 jam

pada suhu 37⁰C. Kultur bakteri yang semula jernih akan menjadi keruh yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri setelah masa inkubasi. Suspensi dipindahkan 4-5 ose kedalam tabung reaksi yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) cair, dan dihomogenkan, kemudian dibandingkan kekeruhan dengan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah 10⁸ CFU/ml. Standar kekeruhan dimaksudkan untuk mengganti perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan. Gambar dapat dilihat di lampiran 3.

4.3. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri buah kapulaga.

Pengujian aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* dilakukan dengan metode dilusi yang bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang bersifat antibakterial dari minyak atsiri buah kapulaga. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat diketahui dari konsentrasi larutan uji yang tidak menunjukkan adanya kekeruhan pada tabung reaksi. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada media MHA, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) diketahui dengan tidak adanya pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada media MHA.

Medium MHA bukan merupakan media selektif dan media diferensial sehingga semua bakteri dapat tumbuh (Atmojo 2016). Hal ini dapat menyebabkan bakteri yang tumbuh pada medium MHA tidak menghasilkan perbedaan karakteristik atau pola pertumbuhan. Pengujian aktivitas antibakteri metode dilusi menggunakan medium MHA dalam penelitian ini kurang tepat karena kemungkinan dapat terjadi kontaminasi sehingga selain *Streptococcus mutans* dapat tumbuh dalam medium MHA, meskipun suspensi bakteri yang digunakan adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Medium yang seharusnya digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi adalah media diferensial salah satunya medium agar darah. Medium agar darah merupakan medium pertumbuhan bakteri yang dapat membedakan bakteri patogen berdasarkan efek hemolitik pada sel darah merah. Pada medium agar darah *Streptococcus mutans*

akan menunjukkan koloni berwarna putih dan sekitar koloni berwarna hijau, hal ini disebabkan kemampuan *Streptococcus mutans* melisiskan sebagian sel darah.

Tabel 5. Hasil aktivitas antibakteri minyak atsiri buah kapulaga terhadap *Streptococcus mutans*

Konsentrasi (%)	Minyak atsiri buah kapulaga		
	I	II	III
kontrol (-)	-	-	-
100%	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	-	-	-
6,25%	-	-	-
3,12%	-	-	-
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
kontrol (+)	+	+	+

Keterangan = (+): ada pertumbuhan bakteri

(-): tidak ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-): minyak atsiri buah kapulaga

Kontrol (+): suspensi bakteri

Dari tabel 5 dapat dilihat bahwa minyak atsiri buah kapulaga (*Amomum cardamomum* L.) memiliki daya hambat minimum terhadap aktivitas antibakteri. Hal ini disebabkan interaksi senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri buah kapulaga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Belum diketahui pasti kandungan senyawa dalam minyak atsiri buah kapulaga, tetapi menurut pustaka minyak atsiri buah kapulaga mengandung α -Pinene, β -Pinene, Sabinene, Myrcene, α -Phellandrene, Limonene, 1,8-cineole, γ -Terpinene, p-Cymene, Terpinolene, Linalool, Linalyl acetate, Terpinen-4-ol, α -Terpineol, α -Terpinyl acetate, Citronellol, Nerol, Geraniol, Methyl eugenol, trans-nerolidol (Peter 2012). Dzen *et al.* (2003) melaporkan bahwa buah kapulaga mengandung minyak atsiri yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri diantaranya adalah eucalyptol (1,8-cineole), citronellool, terpinen-4-l, sabinene, β -Pinene, sineol. Salah satu zat aktif sineol berfungsi sebagai agen antibakteri sifat antibakteri dilihat dari kerusakan membrane sel yang menyebabkan perubahan osmosis sel sehingga apabila terjadi kerusakan pada membrane akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel (Nuning *et al.* 2012). Berdasarkan tabel 5 diatas terlihat bahwa minyak atsiri buah kapulaga mempunyai aktivitas antibakteri

terhadap *Streptococcus mutans* dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) 3,125% karena sudah memberikan daya hambat yang efektif terhadap pertumbuhan bakteri. Foto hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri buah kapulaga dapat dilihat di lampiran 4.

5. Hasil Pembuatan Sediaan Obat Kumur

Pembuatan sediaan obat kumur diawali dengan menimbang semua bahan secara seksama dan memisahkan fase minyak dan fase air. Fase minyak (tween 80, PEG 400, dan minyak atsiri buah kapulaga dicampur dalam beker gelas, kemudian ditambahkan metil paraben, propil paraben, mentol) lalu di *stirrer* selama 10 menit pada kecepatan 600 rpm dan suhu 25⁰C. Tujuan dari penggunaan *magnetic stirrer* ini yaitu membantu proses pengemulsian sehingga terbentuk emulsi yang homogen. Selanjutnya, fase air (sodium lauril sulfat, sorbitol, dan aquadestilata) dicampur dalam beker gelas kemudian dimasukkan dalam fase minyak dan dihomogenkan dengan sonikator. Tujuan penggunaan sonikator yaitu mampu mengecilkan ukuran partikel sampel dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik yang dapat mengubah energi listrik menjadi getaran fisik (Gupta *et al*, 2010). Foto sediaan obat kumur dapat dilihat di lampiran 5.

6. Hasil Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Obat Kumur

Evaluasi mutu fisik sediaan obat kumur dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kualitas fisik sediaan obat kumur yang meliputi pengamatan organoleptik, nilai pH, nilai bobot jenis, dan stabilitas.

6.1. **Hasil uji organoleptik.** Pengamatan organoleptik untuk memastikan obat kumur minyak atsiri buah kapulaga dapat diterima oleh pasar, maka perlu adanya pengujian organoleptik yang memuat warna, aroma dan konsistensi pada semua perlakuan. Dari data yang diperoleh formulasi F1-F3 memiliki aroma khas kapulaga ditambah bau menyegarkan dari mentol, sedangkan formulasi K(F1)-K(F3) memiliki aroma mentol yang menyegarkan. Hal ini disebabkan karena formulasi F1-F3 sebagai kontrol perlakuan yang ditambahkan minyak atsiri kapulaga sebagai zat antibakteri, sedangkan pada formulasi K(F1)-K(F3) sebagai kontrol basis atau kontrol negatif sehingga tidak ditambahkan minyak atsiri buah kapulaga. Penambahan mentol diharapkan mampu mengurangi atau menutupi

aroma yang kurang menyenangkan pada sediaan obat kumur. Pengamatan warna secara visual F2 dihasilkan sediaan keruh dengan warna putih susu. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan minyak atsiri dengan konsentrasi tween 80 yang digunakan lebih sedikit, dimana tween 80 sebagai surfaktan berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan antara minyak dan air, sehingga dalam penggunaan jumlah surfaktan yang sedikit tidak mampu menurunkan tegangan permukaan minyak dalam air atau hanya sebagian minyak yang dapat diselimuti oleh surfaktan. Sedangkan formulasi F1; F2; K(F1); K(F2); dan K(F3) dihasilkan sediaan dengan warna yang jernih. Hal ini dikarenakan jumlah tween 80 yang digunakan sebagai surfaktan sudah mencukupi untuk menurunkan tegangan permukaan minyak dalam air. Peningkatan jumlah surfaktan memfasilitasi emulsifikasi dan pembentukan tetesan menjadi lebih kecil (Xi 2009). Penambahan PEG 400 sebagai ko-surfaktan dalam formulasi dapat meningkatkan kestabilan emulsi. Interaksi antara tween 80 dan PEG 400 terjadi akibat adanya gugus hidroksil pada kedua senyawa tersebut sehingga dapat diperoleh campuran yang homogen (Danov 2001).

Tabel 6. Hasil pengujian organoleptik sediaan obat kumur

Formula	Hasil organoleptik sediaan		
	Warna	Aroma	Konsistensi
F1	Jernih, tidak berwarna	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan
F2	Jernih, tidak berwarna	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan
F3	Keruh, putih susu	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan
K(F1)	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan
K(F2)	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan
K(F3)	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan

Keterangan F1 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (8:1:3.5)

F2 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (4:2:3.5)

F3 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (2:4:3.5)

K (F1) = tween 80 + PEG 400 (8:1)

K (F2) = tween 80 + PEG 400 (4:2)

K (F3) = tween 80 + PEG 400 (2:4)

6.2. Hasil uji pH. Pengukuran pH merupakan parameter fisikokimia yang penting pada sediaan topikal, karena pH berkaitan dengan efektivitas zat aktif, stabilitas zat aktif dan sediaan, serta kenyamanan di mulut sewaktu digunakan. Nilai pH suatu sediaan yang terlalu asam dapat mengakibatkan gigi mengalami demineralisasi dan dapat meningkatkan kemampuan bakteri untuk tumbuh, sedangkan pH yang terlalu basa dapat mengganggu indra pengecap (Kleinberg 2002).

Tabel 7. Hasil pengukuran pH sediaan obat kumur

Formula	Nilai pH			Rata-rata ± SD
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
F1	6,50	6,45	6,44	6,46 ± 0,03
F2	6,35	6,33	6,40	6,36 ± 0,04
F3	6,00	6,01	6,00	6,00 ± 0,01
K(F1)	5,41	5,43	5,45	5,43 ± 0,02
K(F2)	5,31	5,33	5,31	5,32 ± 0,01
K(F3)	5,14	5,16	5,11	5,14 ± 0,03

Keterangan F1 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (8:1:3.5)

F2 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (4:2:3.5)

F3 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (2:4:3.5)

K (F1) = tween 80 + PEG 400 (8:1)

K (F2) = tween 80 + PEG 400 (4:2)

K (F3) = tween 80 + PEG 400 (2:4)

Standar nilai pH sediaan obat kumur diharapkan dapat berada dalam range pH saliva yaitu 6-7 dan diluar range pertumbuhan bakteri yaitu 6,5-7,5 (Tanabe *et al*, 2013), namun standar nilai pH sediaan obat kumur yang dipersyaratkan rentang pH 5,0-6,5 (Pradewa 2008). Pengukuran pH menggunakan pH meter dan hasil yang diperoleh bervariasi. Formulasi yang ditambahkan minyak atsiri buah kapulaga memiliki nilai pH yang lebih tinggi dibandingkan formulasi tanpa penambahan minyak atsiri buah kapulaga. Nilai pengukuran pH minyak atsiri buah kapulaga 6,7 hal ini yang memungkinkan formulasi yang ditambahkan minyak atsiri buah kapulaga menjadi lebih tinggi. Penambahan konsentrasi tween 80 juga mempengaruhi nilai pH sediaan obat kumur, karena tween 80 memiliki pH yang basa yaitu 6-8, sehingga penambahan konsentrasi tween 80 pada masing-masing formula akan menyebabkan kenaikan pH obat kumur (Mardiana 2017).

Data analisis menggunakan SPSS untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan nilai pH tiap formula. Analisis pertama menggunakan *test*

Kolmogorov-smirnov dan terlihat nilai sig $0,271 > 0,05$ (H_0 diterima) disimpulkan data mengikuti distribusi normal sehingga dapat dianalisis ANOVA *one way* dan dilanjutkan dengan menggunakan test Tukey untuk melihat perbedaan signifikan atau tidak. Berdasarkan uji *Levene Statistic* data nilai pH dinyatakan homogen dengan nilai sig $0,150 > 0,05$. Dari data uji ANOVA hasil sig $0,00 < 0,05$ berarti perbedaan konsentrasi tween 80, PEG 400 dan penambahan minyak atsiri dalam pembuatan formula obat kumur minyak atsiri buah kapulaga menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada nilai pH yang dihasilkan. Berdasarkan tabel test Tukey terdapat tanda * pada *Mean Difference*, tanda tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap nilai pH pada tiap formula. Hasil analisis Tukey test dapat dilihat pada lampiran 12.

6.3. Hasil uji bobot jenis. Penguji bobot jenis dilakukan menggunakan piknometer yang bertujuan untuk mengetahui perbandingan zat diudara terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Bobot jenis suatu sediaan merupakan kumpulan berat molekul dari berbagai komponen penyusun yang terkandung dalam sediaan. Berat molekul berbanding lurus dengan bobot jenis, semakin besar berat molekul suatu senyawa maka menghasilkan bobot jenis yang besar (Sastrohamidjojo 2004).

Tabel 8. Hasil pengujian bobot jenis

Formula	Bobot jenis			Rata-rata \pm SD
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
F1	1,0455	1,0452	1,0441	1,0449 \pm 0,0007
F2	1,0466	1,0462	1,0468	1,0465 \pm 0,0003
F3	1,0498	1,0500	1,0500	1,0499 \pm 0,0001
K(F1)	1,0101	1,0093	1,0103	1,0099 \pm 0,0005
K(F2)	1,0189	1,0187	1,0195	1,0109 \pm 0,0004
K(F3)	1,0267	1,0269	1,0266	1,0267 \pm 0,0002

Keterangan F1 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (8:1:3.5)

F2 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (4:2:3.5)

F3 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (2:4:3.5)

K(F1) = tween 80 + PEG 400 (8:1)

K(F2) = tween 80 + PEG 400 (4:2)

K(F3) = tween 80 + PEG 400 (2:4)

Dari hasil pengujian bobot jenis didapatkan hasil bobot jenis formulasi yang lebih besar dari bobot jenis air, karena pada formulasi terdapat zat-zat terlarut sehingga mempengaruhi bobot jenis sediaan. Obat kumur yang

diformulasikan merupakan emulsi, namun kadar total minyak atsiri yang digunakan hanya 3,5% dan penggunaan bahan dasar obat kumur yang terdiri dari partikel-partikel halus terlarut, sehingga meningkatkan nilai bobot jenis pada formulasi yang dihasilkan. Penggunaan tween 80 sebagai surfaktan mampu menaikkan laju kelarutan minyak dengan cara menurunkan tegangan permukaan zat aktif minyak atsiri buah kapulaga dengan air serta menghasilkan ukuran partikel yang kecil. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas distribusi ukuran droplet sehingga viskositas semakin rendah (sediaan semakin cair dan mudah dituang) menyebabkan nilai bobot jenis akan menurun (Voight 1994).

Data analisis menggunakan SPSS untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bobot jenis tiap formula. Analisis pertama menggunakan *test Kolmogorov-smirnov* dan terlihat nilai sig $0,160 > 0,05$ (H_0 diterima) disimpulkan data mengikuti distribusi normal sehingga dapat dianalisis ANOVA *one way* untuk melihat perbedaan signifikan atau tidak. Berdasarkan uji *Levene Statistic* nilai sig $0,042 < 0,05$ maka H_0 ditolak, atau keenam formula memiliki variasi nilai bobot jenis yang berbeda (tidak sama). Untuk itu, analisis selanjutnya tidak bisa dilakukan, karena asumsi ANOVA tidak terpenuhi. Analisis selanjutnya adalah mengubah (transformasi) jenis data dependent variabel (nilai bobot jenis) ke bentuk logaritmik.

Tabel *Homogeneous Subsets* bertujuan untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Tabel *Homogeneous Subsets* terbagi dalam 6 subset semakin ke arah kanan nilai bobot jenis semakin besar. Subset 1 terdapat formula 4, subset 2 terdapat formula 5, subset 3 terdapat formula 6, subset 4 terdapat formula 1, subset 5 terdapat formula 2 dan pada subset 6 terdapat formula 3. Nilai bobot jenis diketahui dari subset 1-6 mempunyai beda nyata dalam tiap formula. Tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada lampiran 13.

6.4. Hasil uji stabilitas. Stabilitas zat merupakan hal yang harus diperhatikan dalam membuat suatu formulasi sediaan farmasi. Hal ini penting mengingat suatu sediaan biasanya diproduksi dalam jumlah yang besar dan memerlukan waktu yang cukup panjang untuk sampai ke tangan konsumen, oleh

karena itu sediaan tersebut perlu diuji kestabilannya sesuai prosedur yang telah ditentukan.

6.4.1. Hasil uji sentrifugasi. Pengujian sentrifugasi prinsipnya adalah penggunaan gaya sentrifugal yang dipercepat untuk memisahkan dua atau lebih substansi yang memiliki perbedaan densitas dan bertujuan untuk mengevaluasi dan memprediksi ketidakstabilan (Anvisa 2004).

Tabel 9. Hasil uji sentrifugasi sediaan obat kumur

Formulasi	Hasil sentrifugasi	
	Sebelum sentrifugasi	Setelah sentrifugasi
F1	Tidak ada pemisahan	Tidak ada pemisahan
F2	Tidak ada pemisahan	Tidak ada pemisahan
F3	Tidak ada pemisahan	Tidak ada pemisahan
K(F1)	Tidak ada pemisahan	Tidak ada pemisahan
K(F2)	Tidak ada pemisahan	Tidak ada pemisahan
K(F3)	Tidak ada pemisahan	Tidak ada pemisahan

Keterangan F1 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (8:1:3.5)

F2 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (4:2:3.5)

F3 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (2:4:3.5)

K(F1) = tween 80 + PEG 400 (8:1)

K(F2) = tween 80 + PEG 400 (4:2)

K(F3) = tween 80 + PEG 400 (2:4)

Uji sentrifugasi dilakukan dengan menggunakan alat sentrifugator, sebanyak 5 mL tiap sampel dimasukkan dalam tabung reaksi pada suhu 27⁰C dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Hasil uji sentrifugasi obat kumur minyak atsiri buah kapulaga. Berdasarkan hasil yang diperoleh formulasi F1-F3 dan formula kontrol K(F1)-K(F3) tidak ada pemisahan dan tetap stabil. Foto hasil sentrifugasi dapat dilihat di lampiran 5.

6.4.2. Hasil cycling test. *Cycling test* merupakan kondisi percepatan dengan adanya fluktuasi suhu untuk menentukan kestabilan produk selama penyimpanan. Tujuan dilakukannya *cycling test* adalah untuk mengetahui terjadinya ketidakstabilan sediaan, perubahan pH, dan bobot jenis (Huynh-BA *et al*, 2008). *Cycling test* dilakukan dengan menyimpan sediaan dalam lemari es suhu 4⁰C selama 24 jam, kemudian disimpan pada oven pada suhu 40⁰C selama 24 jam, penyimpanan ini dihitung 1 siklus dan dilanjutkan sampai 6 siklus (12 hari). Foto hasil *cycling test* dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 10. Hasil *cycling test* organoleptik sediaan obat kumur

Formula	Hasil uji organoleptik					
	Sebelum <i>cycling test</i>			Setelah <i>cycling test</i>		
	Warna	Aroma	Konsis tensi	Warna	Aroma	konsist ensi
F1	Jernih, tidak berwarna	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan	Jernih, tidak berwarna	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan
F2	Jernih, tidak berwarna	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan	Jernih, tidak berwarna	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan
F3	Keruh, putih susu	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan	Keruh, putih susu (+)	Kapulaga kuat diikuti bau mentol	Cairan
K(F1)	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan
K(F2)	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan
K(F3)	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan	Jernih, tidak berwarna	Mentol	Cairan

Keterangan F1 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (8:1:3.5)

F2 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (4:2:3.5)

F3 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (2:4:3.5)

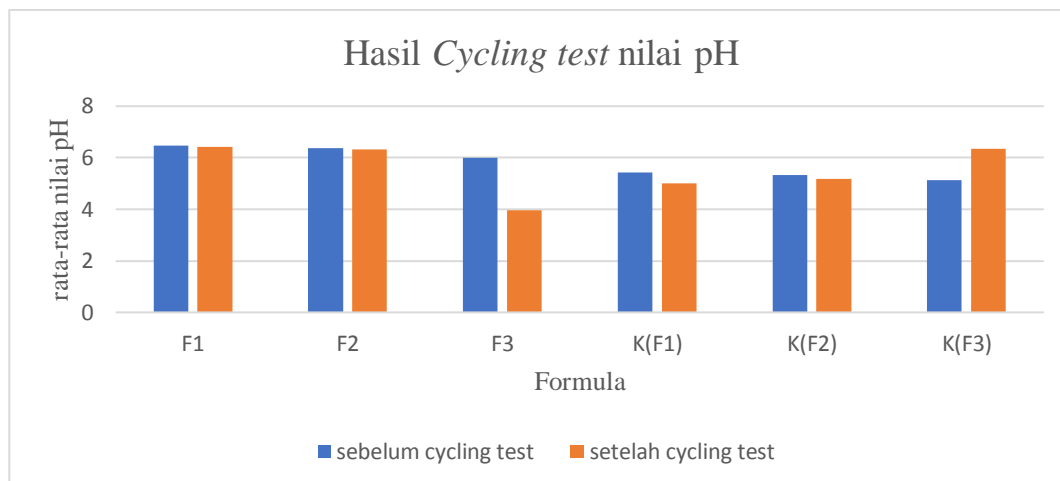
K(F1) = tween 80 + PEG 400 (8:1)

K(F2) = tween 80 + PEG 400 (4:2)

K(F3) = tween 80 + PEG 400 (2:4)

Berdasarkan hasil yang diperoleh dilihat bahwa organoleptik dari obat kumur sebelum dan sesudah penyimpanan menunjukkan perubahan warna pada F3. Formula F3 bertambah keruh dan berwarna putih susu, sedangkan F1; F2; K(F1); K(F2); dan K(F3) memiliki warna yang tetap jernih. Baunya khas kapulaga kuat diikuti bau mentol yang menyegarkan untuk formulasi F1-F3 dan pada formulasi K(F1)-K(F3) bau mentol yang menyegarkan diikuti bau tween 80. Obat kumur tidak menunjukkan adanya tanda-tanda tidak stabil dari sediaan

selama penyimpanan 6 siklus (12 hari) dapat disebabkan kemasan yang digunakan baik sehingga sediaan tetap terjaga.



Gambar 15. Hasil cycling test pH sediaan obat kumur

Keterangan F1 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (8:1:3.5)

F2 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (4:2:3.5)

F3 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (2:4:3.5)

K(F1) = tween 80 + PEG 400 (8:1)

K(F2) = tween 80 + PEG 400 (4:2)

K(F3) = tween 80 + PEG 400 (2:4)

Berdasarkan hasil pH yang diperoleh, jika dibandingkan dengan pH awal pada hari ke-0 (sebelum *cycling test*), formulasi (F2; F3, K(F1) dan K(F2)) mengalami penurunan pH, hal ini bisa disebabkan telah terjadi proses autooksidasi yang disebabkan perlakuan terhadap sediaan dengan mengubah suhu dari 4⁰C ke 40⁰C secara berkala selama 12 hari sehingga mempercepat proses autooksidasi (Donbrow 1978). Sedangkan formulasi (F1 dan K(F3)) mengalami kenaikan pH sediaan, kenaikan pH dapat disebabkan oleh pelepasan ion hidroksil secara bertahap oleh wadah kaca yang digunakan selama penyimpanan (Reddy 1996).

Data analisis menggunakan SPSS untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan terhadap kondisi penyimpanan dan kestabilan pH formula. Analisis pertama menggunakan *test Kolmogorov-smirnov* terlihat nilai signifikan nilai pH sebelum *cycling test* 0,271 > 0,05 (Ho diterima) dan nilai signifikan nilai pH setelah *cycling test* 0,090 > 0,05 (Ho diterima) disimpulkan data mengikuti distribusi normal sehingga dapat dianalisis *Paired samples t-test* (uji-t untuk dua sampel yang berpasangan). Berdasarkan analisis *Paired Samples Statistics*

diperoleh SD nilai pH sebelum *cycling test* 0,53244 (tidak lebih dari 20% rata-rata) dan SD nilai pH setelah *cycling test* 0,92896 (tidak lebih dari 20% rata-rata) hal ini menunjukkan variasi nilai pH yang kecil. Hasil korelasi perlakuan *cycling test* menghasilkan angka 0,191 dengan nilai probabilitas $0,448 > 0,05$ hal ini menyatakan bahwa korelasi nilai pH sebelum *cycling test* dan setelah *cycling test* adalah berhubungan secara nyata. Pengambilan keputusan berdasarkan hasil *Paired Samples Test* sig $0,1515 > 0,025$ (H_0 diterima) disimpulkan nilai pH setelah *cycling test* dan sebelum *cycling test* tidak berbeda secara nyata. Hasil analisis *Paired samples t-test* dapat dilihat pada lampiran 14.

6.5. Hasil uji aktivitas antibakteri sediaan obat kumur. Pengujian aktivitas antibakteri sediaan obat kumur menggunakan metode difusi kertas cakram yang umum digunakan karena lebih mudah digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan zat aktif dapat berdifusi langsung dan dapat langsung diketahui diameter zona hambat (Panagan 2009). Daerah hambatan pertumbuhan bakteri adalah daerah jernih disekitar cakram, semakin kuat daya aktivitas antibakterinya maka semakin luas daerah hambatnya (Jawetz *et al* 1996).

Tabel 12. Hasil uji aktivitas antibakteri sediaan obat kumur terhadap *Streptococcus mutans*

Sampel	Diameter daya hambat (mm)			Rata-rata ± SD
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
F1	18	20	20	19,3 ± 1,15
F2	19	19	21	19,7 ± 1,15
F3	16	15	19	16,7 ± 2,08
K(F1)	-	-	-	-
K(F2)	-	-	-	-
K(F3)	-	-	-	-
Kontrol positif	23	19	23	21,7 ± 2,31

Keterangan F1 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (8:1:3.5)

F2 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (4:2:3.5)

F3 = tween 80 + PEG 400 + minyak atsiri buah kapulaga (2:4:3.5)

K (F1) = tween 80 + PEG 400 (8:1)

K (F2) = tween 80 + PEG 400 (4:2)

K (F3) = tween 80 + PEG 400 (2:4)

Kontrol positif = sediaan obat kumur Listerin

Sampel yang digunakan dalam uji difusi adalah formula obat kumur minyak atsiri buah kapulaga dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*

menggunakan metode difusi dengan kontrol perlakuan formula F1-F3, pembandingan kontrol negatif formula K(F1)-K(F3) dan pembandingan kontrol positif sediaan obat kumur Listerin, untuk mengetahui formula paling aktif dengan melihat luas diameter daya hambat masing-masing formula. Pengujian aktivitas antibakteri sediaan obat kumur minyak atsiri buah kapulaga (F1-F3) terhadap *Streptococcus mutans* menunjukkan adanya daya hambat, ini dibuktikan dengan adanya daerah jernih disekitar kertas cakram yang tidak ditumbuhi bakteri. Sediaan obat kumur tanpa penambahan minyak atsiri buah kapulaga (K(F1)-K(F3)) tidak memiliki aktivitas antibakteri karena tidak memiliki zona bening pada cakram, sehingga dapat dipastikan zona hambat yang dihasilkan murni berasal dari minyak atsiri buah kapulaga tidak dipengaruhi oleh komponen formula yang digunakan. Daya hambat menurut Davis (1971) dibagi atas sangat kuat (zona jernih >20mm), kuat (zona jernih 10-20), sedang (zona jernih 5-10), dan lemah (zona jernih <5) sehingga dapat dinyatakan bahwa formulasi F1-F3 memiliki daya hambat kuat, formulasi K(F1)-K(F3) tidak memiliki aktivitas antibakteri dan kontrol positif Listerin memiliki daya hambat sangat kuat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Foto uji aktivitas antibakteri sediaan obat kumur dapat dilihat di lampiran 6.

Data yang dianalisis dengan ANOVA *one way* adalah formula F1; F2; F3 dan kontrol positif obat kumur Listerin guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan terhadap diameter zona hambat. Analisis pertama menggunakan *test Kolmogorov-smirnov* dan terlihat nilai sig 0,755 > 0,05 (Ho diterima) disimpulkan data mengikuti distribusi normal sehingga dapat dianalisis ANOVA *one way* dan dilanjutkan dengan menggunakan *test Tukey* untuk melihat perbedaan signifikan atau tidak. Berdasarkan uji *Levene Statistic* data diameter zona hambat dinyatakan homogen dengan nilai sig 0,268 > 0,05. Dari data uji ANOVA hasil signifikansi 0,049 < 0,05 berarti perbedaan formula (kontrol perlakuan) sediaan obat kumur menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada diameter zona hambat. Data ANOVA dapat dilihat pada lampiran 15.

Berdasarkan tabel *test Tukey* diameter zona hambat F1, F2 dan F3 tidak berbeda nyata, sedangkan diameter zona hambat F1 dan kontrol positif berbeda

nyata. Tabel *Homogeneous Subsets* bertujuan untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan.