

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tanaman

1. Determinasi tanaman daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi tanaman ini dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil dan menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan tanaman.

Hasil determinasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berdasarkan kunci determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr bahwa tumbuhan tersebut adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.) Hasil determinasi daun sirih hijau dengan kunci determinasi sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-701b-802a-803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-818b-820b-821b-822a-823b. **Familia Piperaceae.** 1b-2b-3b. ***Piper.*** 1b-3b-11b-20b-21b-22b-23b. ***Piper betle* L.**

Hasil determinasi lengkuas putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) berdasarkan kunci menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr bahwa tumbuhan tersebut adalah rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) dengan kunci determinasi sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a. **Familia Zingiberaceae.** 1a-2a-3b-4b. ***Alpinia.*** 1a. ***Alpinia galanga* (L.) Willd.**

Berdasarkan hasil determinasi, dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd).

B. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Sirih hijau (*Piper betle* L.) dan Ekstrak Rimpang Lengkuas putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd)

1. Pengambilan sampel

Daun sirih hijau diambil pada daun berwarna hijau segar, berbau khas, tidak busuk, dan belum berubah warna dan rimpang lengkuas putih utuh, tidak ada bagian yang termakan serangga atau busuk yang diambil dari daerah Nglurah, Tawangmangu, Jawa Tengah. Pengambilan pada bulan Agustus 2019.

2. Hasil pembuatan dan identifikasi serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air, sehingga pertumbuhan jamur, bakteri, kapang, dan mikroorganisme lainnya dapat dihambat agar tidak menyebabkan pembusukan dan perubahan kimiawi dan menurunkan mutu serbuk. Pengeringan juga berfungsi untuk memperlama waktu simpan dan mempermudah proses pengolahan selanjutnya daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dikeringkan.

Daun yang diambil lalu dilakukan sortasi basah, dicuci kemudian dilakukan perajangan menjadi lebih kecil kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Sortasi kering pada daun yang sudah kering lalu dihaluskan dengan cara di blender, kemudian diayak.

Rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) yang masih segar dan tidak busuk disortasi basah lalu dicuci, diiris \pm 7-8 mm. Irisan rimpang lengkuas putih dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C dan setelah kering digiling dengan alat penggiling, serbuk yang diperoleh diayak.

Daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Simplisia	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%b/b)
Daun Sirih hijau	2500	565	22,6
Rimpang lengkuas putih	4000	650	16,25

Hasil pengeringan daun sirih hijau diperoleh rendemen 22,6 % (b/b) dan rimpang lengkuas putih diperoleh rendemen 16,25 % (b/b). Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun sirih hijau dapat dilihat pada lampiran 5. Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun sirih hijau dapat dilihat pada lampiran 6.

Identifikasi serbuk dilakukan dengan cara makroskopis yaitu dengan pemeriksaan organoleptik. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui sifat serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih yang berupa bentuk, bau, warna dan rasa. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil identifikasi organoleptik serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Identifikasi organoleptik	Daun sirih hijau	Rimpang lengkuas putih
Bentuk	Serbuk	Serbuk
Bau	Khas	Khas
Warna	Hijau tua	Coklat muda
Rasa	Pahit	pahit

3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Penetapan kadar air serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dilakukan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui prosentase kadar air yang terkandung dalam daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dari mikroorganisme lain yang dapat merusak kualitas bahan uji.

Penetapan kadar air dengan metode ini dilakukan dengan cara memanaskan serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih yang dilarutkan dalam xilen jenuh air (1:10) pada labu alas bulat. Pemanasan tersebut akan mengeluarkan uap dari campuran masing-masing serbuk dengan xilen yang mengembun kembali dengan pendinginan. Airnya kemudian memisah karena berat jenis yang lebih besar dari pada berat jenis pelarut sehingga air terdapat pada lapisan bawah yang kemudian diukur kadar air yang dihasilkan. Kadar air dinyatakan stabil ditandai dengan tidak bertambahnya volume air yang terdapat dalam alat. Hasil penetapan kadar air serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

No	Penimbangan (g)	Volume Air (mL)		Kadar air (%)	
		Daun sirih hijau	Rimpang lengkuas putih	Daun sirih hijau	Rimpang lengkuas putih
1	20	0,9	1	4,5	5
2	20	1	1,2	5	6
3	20	1	1,4	5	7
Rata-rata ± SD				4,83±0,29	6±1

Berdasarkan tabel 5 dapat diketahui bahwa rata-rata kadar air dalam serbuk daun sirih hijau yang diperoleh adalah 4,83 % dan kadar air untuk serbuk rimpang lengkuas putih adalah 6 %. Persyaratan kadar air serbuk simplisia daun sirih hijau yaitu kurang dari 5 %. Persyaratan kadar air serbuk rimpang lengkuas putih kurang dari 10 %.

Persyaratan kadar air ini bertujuan untuk menjaga agar kualitas ekstrak tetap baik, kadar air yang rendah dapat menghambat pertumbuhan mikroba, kadar air rendah dapat menghentikan reaksi enzimatik, higroskopis, daya serap baik. Perhitungan kadar air serbuk daun sirih hijau terdapat pada lampiran 7 dan rimpang lengkuas putih terdapat pada lampiran 8.

4. Hasil pembuatan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dengan maserasi. Maserasi merupakan proses pengambilan ekstrak dengan menggunakan pelarut dan dilakukan pengadukan pada temperatur ruangan.

Pelarut yang digunakan pada maserasi serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih adalah etanol 70 %. Hasil ekstraksi berupa ekstrak cair kemudian dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 50°C. Hasil pembuatan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rendemen ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Simplisia	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun Sirih hijau	500	91,271	18,25
Rimpang lengkuas putih	500	93,303	19,66

Rendemen ekstrak daun sirih hijau diperoleh 18,25.% (b/b) rendemen ekstrak daun sirih hijau tidak boleh kurang dari 5 % (Kemenkes RI 2010). Rendemen ekstrak rimpang lengkuas putih diperoleh 19,66 %. Rendemen rimpang lengkuas putih tidak boleh kurang dari 16 % (b/b) (Kemenkes RI 2008). Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun sirih hijau dilihat pada lampiran 9 dan rimpang lengkuas putih dapat dilihat pada lampiran 10.

5. Hasil kadar air ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Penetapan kadar air ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dilakukan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui prosentase kadar air yang terkandung dalam ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dari mikroorganisme lain yang dapat merusak kualitas bahan uji.

Tabel 6. Hasil kadar air ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

No	Penimbangan (g)	Volume Air (mL)		Kadar air(%)	
		Daun sirih hijau	Rimpang lengkuas putih	Daun sirih hijau	Rimpang lengkuas putih
1	20	1,4	1	7	5
2	20	1	1,2	5	6
3	20	1,5	1	7	5
Rata-rata ± SD				6,33±1,154	5,33±0,57

Berdasarkan tabel 8 dapat diketahui bahwa rata-rata kadar air dalam serbuk daun sirih hijau yang diperoleh adalah 6,33 % dan kadar air untuk serbuk rimpang lengkuas putih adalah 5,33 %. Persyaratan kadar air ekstrak daun sirih hijau menurut Farmakope herbal Indonesia tidak lebih dari 10 % (Kemenkes RI 2010). Persyaratan kadar air rimpang lengkuas putih menurut Farmakope Herbal Indonesia tidak lebih dari 10 % (Kemenkes RI 2008).

Persyaratan kadar air ini bertujuan untuk menjaga agar kualitas ekstrak tetap baik, kadar air yang rendah dapat menghambat pertumbuhan mikroba, kadar air rendah dapat menghentikan reaksi enzimatik. Perhitungan kadar air serbuk daun sirih hijau terdapat pada lampiran 11 dan rimpang lengkuas putih terdapat pada lampiran 12.

6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Golongan senyawa kimia	Pustaka	Hasil identifikasi			
		Daun sirih hijau		Rimpang lengkuas putih	
		serbuk	Ekstrak	serbuk	ekstrak
Flavonoid	Berubah warna menjadi merah sampai jingga	(+) merah	(+) merah	(+) merah muda	(+) merah
Alkaloid Dragendoff	Terbentuk endapan berwarna coklat	(-) Tidak Terbentuk warna hitam	(-) Tidak Coklat kemerahan	(+) Ada endapan Coklat kemerahan	(+) Ada endapan Coklat kemerahan
Mayer	Terbentuk endapan putih atau kuning	(-) Tidak ada endapan putih	(-) Tidak ada endapan putih		
Bourcardad	Terbentuk endapan coklat hingga hitam			(+) Ada endapan hitam	(+) Ada endapan hitam
Saponin	Terbentuk busa setelah penggojokan 10 menit	(+) Terdapat buih	(+) Terdapat buih	(+) Terdapat buih	(+) Terdapat buih
Tanin	Terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman	(+) Hijau kehijauan	(+) Hijau kehijauan	(+) Hijau kehijauan	(+) Hijau kehijauan
Steroid	(+) steroid terbentuk warna biru sampai hijau (+) triterpenoid warna merah sampai ungu	(+) Terbentuk warna hijau	(+) Terbentuk warna hijau	(+) Terbentuk warna merah	(+) Terbentuk warna merah

Keterangan: (+) : positif mengandung golongan senyawa kimia

(-) : tidak mengandung golongan senyawa kimia

Tabel 8. Identifikasi minyak atsiri daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Ekstrak	Kode bercak	Nilai Rf	Warna Bercak				pustaka
			Visual	UV 254	UV 366	Vanilin As.sulfat	
Daun Sirih	A	0.55	Coklat	Meredam	Fouresensi biru muda	Coklat	Coklat

hijau	B ₍₁₎	0.61	Coklat	Meredam	Flouresensi biru muda	Coklat keunguan	Coklat keunguan
lengkuas putih	A	0.46	Kuning	meredam	Meredam biru	-	-
	B ₍₂₎	0.49	kuning	meredam	Meredam biru	-	-

Keterangan : A: sampel

B: Baku pembanding eugenol (1), Kurkumin (2)

Hasil identifikasi pada tabel di atas menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih positif mengandung senyawa kimia. Daun sirih hijau mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, saponin, tanin, steroid dan rimpang lengkuas putih mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, tritepenoid, kurkumin.

Berdasarkan identifikasi minyak atsiri tanaman daun sirih hijau positif mengandung minyak atsiri ditunjukkan dengan nilai Rf 0,55 dengan Rf pembanding eugenol yaitu 0,61, namun pada penelitian ini rimpang lengkuas putih belum dapat dipastikan bahwa lengkuas putih mengandung minyak atsiri, namun menurut Farmakope Herbal Indonesia rimpang lengkuas putih mengandung minyak atsiri. Penelitian ini baru dapat memastikan lengkuas putih mengandung kurkumin. Hasil identifikasi dan profil kromatogram minyak atsiri dapat dilihat pada lampiran 14.

7. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Ekstrak etanol 70 % daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dilakukan uji bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi. Tujuan dilakukannya uji ini adalah untuk mengetahui masih ada atau tidaknya pelarut dalam ekstrak yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil tes bebas etanol ekstrak maserasi daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih.

Ekstrak	Prosedur	Hasil	Pustaka
Daun sirih hijau	Ekstrak daun sirih hijau +H ₂ SO ₄ +CH ₃ COOH lalu dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1987)
Rimpang lengkuas putih	Ekstrak daun sirih hijau +H ₂ SO ₄ +CH ₃ COOH lalu dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas berarti sudah tidak ada etanol

(Depkes 1987)

Hasil tes bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih sudah bebas dari etanol dengan tidak adanya bau ester. Uji bebas etanol dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa pelarut etanol sudah tidak terkandung di dalam ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih sehingga tidak akan mengganggu aktivitas antijamur yang akan dilakukan.

C. Hasil Pembuatan *Spray Toilet Seat Sanitizer* Kombinasi Ekstrak Daun Sirih hijau (*Piper betle L.*) dan Rimpang Lengkuas putih (*Alpinia galanga (L.) Willd*)

1. Pembuatan *spray toilet seat sanitizer*

Pembuatan formulasi *soray toilet seat sanitizer* menggunakan variasi perbandingan konsentrasi yang terdiri dari ekstrak tunggal sirih hijau (3:0), ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih (0:3), kombinasi 1,5:1,5, 2:1, 1:2.

Tabel 10. Formulasi sediaan krim kombinasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dan rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga (L.) Willd*)

Bahan	Konsentrasi (%)					
	F0	FI	FII	FIII	FIV	FV
Ekstrak daun sirih hijau	-	3	0	1,5	2	1
Ekstrak rimpang lengkuas putih	-	0	3	1,5	1	2
Gliserin	10	10	10	10	10	10
Metil paraben	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Etanol	30	30	30	30	30	30
Aquadest ad	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL

Keterangan:

F0 : Kontrol negatif (tanpa kombinasi ekstrak)

F I : ekstrak tunggal daun sirih hijau

F II : ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih

F III : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (1,5:1,5)

FIV : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (2:1)

FV : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (1:2)

Bentuk *spray* dipilih didasarkan atas sifat dari *spray* yang memberikan suatu kandungan konsentrat namun juga memiliki profil yang cepat kering sehingga nyaman digunakan dan mudah dalam pemakaian.

2. Hasil pengujian mutu fisik sediaan *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Pengujian mutu fisik sediaan dilakukan untuk mengetahui sediaan yang dibuat sudah memenuhi syarat sediaan yang baik atau belum. Pengujian mutu fisik sediaan dilakukan dengan menguji pH, Viskositas, pola penyemprotan dari sediaan.

2.1 Hasil Uji pH. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah pH memenuhi persyaratan. Hasil penentuan pH *spray toilet seat sanitizer* dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil uji pH *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Waktu pemeriksaan	F0	FI	FII	FIII	FIV	FV
Hari ke 0	6,16±0,005	6,12±0,01	6,06±0,01	6,07±0,02	6,10±0,01	6,03±0,005
Hari ke 7	6,14±0,01	6,08±0,01	5,91±0,03	5,99±0,01	6,05±0,01	6,02±0,01
Hari ke 14	6,03±0,10	6,01±0,01	5,81±0,01	5,86±0,02	5,91±0,03	5,97±0,02
Hari ke 21	5,97±0,02	5,90±0,01	5,74±0,02	5,63±0,03	5,69±0,03	5,82±0,01
Hari ke 28	5,82±0,01	5,86±0,03	5,55±0,03	5,48±0,04	5,52±0,02	5,71±0,02

Keterangan :

F0 : Kontrol negatif (tanpa kombinasi ekstrak)

F I : ekstrak tunggal daun sirih hijau

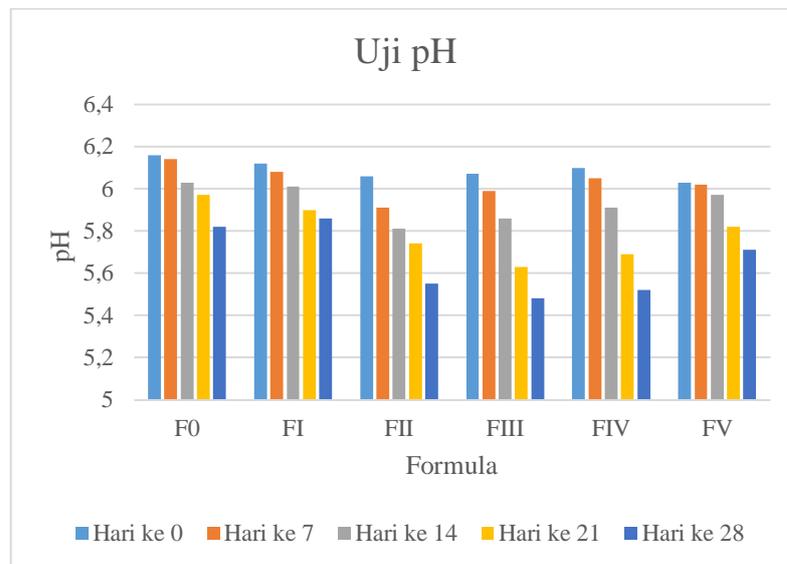
F II : ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih

F III : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (1,5:1,5)

FIV : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (2:1)

FV : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (1:2)

Tabel 12 menunjukkan bahwa penyimpanan *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih selama 28 hari pada suhu ruang menunjukkan adanya penurunan pH.



Gambar 5. Hasil pH *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Penyebab penurunan pH dapat disebabkan karena pengaruh lingkungan seperti seperti suhu, penyimpanan yang kurang baik, terbentuknya asam-asam lemah oleh aktivitas mikroba yang dapat berasal dari bahan baku pada saat pengemasan atau selama pembuatan sediaan *spray toilet seat sanitizer*, kombinasi ke tiga ekstrak yang kurang stabil dalam sediaan karena teroksidasi, penurunan pH dapat pula terjadi karena terurainya gugus fenol yang terdapat dalam ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dalam air. Berdasarkan penelitian ini diketahui nilai sediaan *spray* dalam rentang 5.52-6.16. Nilai tersebut memenuhi syarat pH yang baik adalah 4,5-6,5 (Rachmalia *et al.* 2016).

Data uji stabilitas pH dari keenam formula tersebut kemudian diuji menggunakan *Kolmogorv-Smirnov* untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan uji *Kolmogorv* uji stabilitas pH signifikansinya ($A_{\text{asmp.sig}}$) menunjukkan angka $0.098 > 0.05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai homogeneus subset pada keenam formula tersebut. Hasil ANOVA diperoleh hasil signifikansinya $0,000 < 0.05$ berarti terdapat perbedaan uji homogenitas subsets formula menunjukkan 5 subsets yang berarti adanya perbedaan formula menunjukkan adanya perbedaan pada pH sediaan yang dibuat. Data spss dapat dilihat pada lampiran 19.

2.2 Hasil uji viskositas. Viskositas sediaan berhubungan dengan kemudahan sediaan dari pemakaian suatu sediaan. Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektifitas penggunaan serta kenyamanan saat digunakan sehingga tidak boleh terlalu kental. Viskositas *spray toilet seat sanitizer* terlalu kental dapat memberikan ketidaknyamanan saat digunakan. Viskositas juga berpengaruh pada pola penyemprotan jika terlalu kental sediaan sulit untuk disemprotkan. Hasil pengamatan viskositas kombinasi ekstrak *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil viskositas *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Waktu pemeriksaan	Viskositas (dPas)					
	F0	FI	FII	FIII	FIV	FV
Hari ke 0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Hari ke 7	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Hari ke 14	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Hari ke 21	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Hari ke 28	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

Keterangan :

F0 : Kontrol negatif (tanpa kombinasi ekstrak)

F I : ekstrak tunggal daun sirih hijau

F II : ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih

F III : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (1,5:1,5)

FIV : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (2:1)

FV : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (1:2)

Pengukuran viskositas menunjukkan kesamaan nilai viskositas untuk masing-masing sediaan pada pengujian stabilitas selama 28 hari pada suhu ruang. Tidak adanya perubahan viskositas dari masing-masing formula menunjukkan bahwa viskositas dari keenam sediaan stabil pada penyimpanan.

Dari uji viskositas keenam formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji *Kolmogorv-Smirnov* untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan uji *kolmogrov* uji viskositas signifikasinya ($A_{\text{aymp.sig}}$) menunjukkan angka $0.00 < 0.05$. Sehingga data tersebut terdistribusi tidak normal. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan nilai viskositas dari keenam formula tersebut, dari hasil uji *Mann Whitney* diperoleh signifikasinya adalah $1.00 > 0.05$ sehingga dapat disimpulkan viskositas setiap formula memiliki perbedaan. Data spss dapat dilihat pada lampiran 21.

2.3 Uji pemeriksaan pola penyemprotan. Sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sediaan disemprotkan dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, kemudian diukur waktu pengeringan menggunakan *stopwatch* setelah disemprotkan. Pengujian setiap jarak dilakukan secara triplo, pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan, diameter penyemprotan dari pola semprot yang terbentuk. Hasil uji pemeriksaan pola penyemprotan dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 13. Hasil pemeriksaan pola penyemprotan *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Jarak	Diameter penyemprotan (cm)					
	F0	FI	FII	FIII	FIV	FV
3 cm	3,10±0,17	4,00±0,10	3,77±0,25	4,53±0,03	3,72±0,25	4,79±0,18
5 cm	4,75±0,25	5,72±0,25	5,70±0,26	5,60±0,16	6,38±0,43	6,64±0,21
10cm	6,64±0,30	7,50±0,30	7,05±0,05	8,55±0,41	7,87±0,26	7,89±0,34
15cm	10,02±0,16	9,73±0,25	9,24±0,31	10,87±0,37	10,87±0,35	11,21±0,22

Keterangan :

F0 : Kontrol negatif (tanpa kombinasi ekstrak)

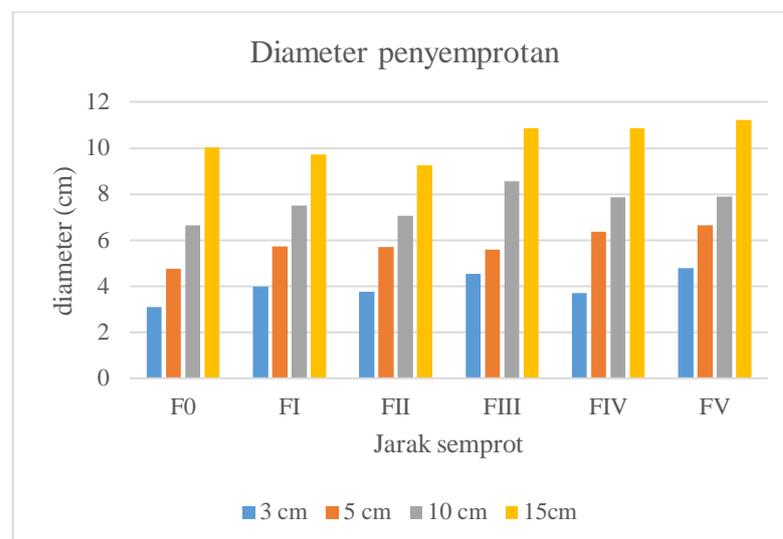
F I : ekstrak tunggal daun sirih hijau

F II : ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih

F III : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (1,5:1,5)

FIV : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (2:1)

FV : kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih (1:2)



Gambar 6. Hasil pola penyemprotan *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Hasil dari evaluasi pola penyemprotan dapat dilihat pada gambar Lampiran 17. Dan untuk melihat ukuran dari setiap pola penyemproan dapat dilihat pada lampiran 22. Pada tabel 14 menunjukkan adanya perbedaan hasil jarak penyemprotan pada setiap sediaan. Perbedaan jarak penyemprotan dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti alat penyemprot yang tidak baik, ketidaktepatan penyemprotan, tekanan yang diberikan pada saat menyemprot. Hasil pengamatan pemeriksaan pola penyemprotan menunjukkan semakin panjang jarak semakin besar diameter yang dihasilkan dan semakin banyak sediaan yang keluar. Penyemprotan *spray* untuk penggunaan pada toilet bisa digunakan 4-5 kali semprotan (0,4 ml-0,5 ml).

Data uji pola penyemprotan ketujuh formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji *Kolmogrov-Smirnov* untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan *kolmogorv* uji pola penyemprotan signifikansinya ($A_{\text{asmp.sig}}$) menunjukkan angka $0.776 > 0.05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan pola penyemprotan antara keenam formula tersebut. Berdasarkan hasil *homogeneous subset* terdapat 4 subset berbeda yang menunjukkan ada perbedaan dari keenam formula. Data spss dapat dilihat pada lampiran 23.

3. Hasil pengujian stabilitas sediaan *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Pengujian stabilitas *spray toilet seat sanitizer* dilakukan untuk mengetahui stabil tidaknya *spray*. Pengujian ini dilakukan dengan penyimpanan *spray* yang dihasilkan pada suhu $27-30^{\circ}$ C dalam waktu satu bulan dengan pengujian dilakukan pada hari ke- 0, 7, 14, 21, dan 28, dengan parameter fisik meliputi organoleptik.

3.1 Organoleptik. Pemeriksaan organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan warna, bau dan konsistensi dari sediaan *spray*. Sediaan yang dihasilkan diharapkan memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan, dan konsistensi yang baik agar

nyaman untuk digunakan dalam penggunaan. Hasil yang diperoleh terhadap pemeriksaan organoleptik *spray toilet seat sanitizer* dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil organoleptik formula *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih

Pemeriksaan	Waktu	F0	F1	FII	FIII	FIV	FV
Warna	0	bening	CT	J	C	CMK	CM
	7	bening	CT	JB	C	CMK	CM
	14	bening	CT	JB	C	CMK	CM
	21	bening	CT	JB	C	CMK	CM
	28	bening	CT	JB	C	CMK	CM
Bau	0	TB	Khas	khas	khas	Khas	khas
	7	TB	Khas	khas	khas	Khas	khas
	14	TB	Khas	khas	khas	Khas	khas
	21	TB	Khas	khas	khas	Khas	khas
	28	TB	Khas	khas	khas	Khas	khas
konsistensi	0	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
	7	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
	14	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
	21	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
	28	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
Endapan	0	TA	TA	TA	TA	TA	TA
	7	TA	TA	TA	TA	TA	TA
	14	TA	TA	TA	TA	TA	TA
	21	TA	S	AB	S	S	S
	28	TA	S	AB	S	S	S

Keterangan: F0= Formula 0 (Kontrol -), F1=Formula 1, FII= Formula 2, FIII= Formula 3, FIV= Formula 4, FV= Formula5, CT= Coklat Tua, J=Jingga, JB=Jingga bening,C=Coklat, CMK= Coklat Muda agak Keruh, CM= Coklat Muda, TB=Tidak Berwarna, TA=Tidak ada, S= Sedikit, AB=Ada Banyak.



Gambar 7. Organoleptik sediaan *spray toilet seat sanitizer*

Hasil Pengujian *spray* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih menunjukkan warna, bau, dan endapan. Warna yang berbeda-beda dari setiap sediaan, warna yang mendominasi adalah warna lengkuas putih yaitu

coklat. Pengujian organoleptik sediaan pada setiap formula menunjukkan hasil yang stabil hingga hari ke 14, karena pada hari ke 21 terdapat endapan pada bagian bawah botol. Kesimpulan dari hasil pengamatan stabilitas sediaan adalah warna, bau, dan konsistensi menunjukkan bahwa sediaan *spray toilet seat sanitizer* stabil hingga hari ke 14.

D. Pengujian Aktivitas Antijamur terhadap *Candida albicans*

1. Hasil pembuatan suspensi jamur

Pembuatan suspensi jamur dibandingkan kekeruhan dengan Mc Farland 0,5. Tujuan dilakukan standarisasi dengan Mc Farland yaitu untuk mengetahui jumlah jamur yang digunakan selama penelitian sama dan mengurangi kepadatan jamur saat digunakan pada pengujian. Hasil suspensi jamur yang diperoleh setelah distandarisasi dengan Mc Farland diperoleh hasil kekeruhan yang sama dengan Mc Farland. Kekeruhan yang sama dapat dilihat dari garis yang berada dibelakang suspensi masih dapat terlihat lurus dan jelas. Hasil dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Suspensi media SGC *Candida albicans*

2. Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231

2.1 Identifikasi makroskopis. Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara makroskopis pada media SGA yang ditumbuhi *Candida albicans* ATCC 10231 terbentuk koloni lunak berwarna krem yang mempunyai

bau seperti ragi (Jawetz 2012). Hasil identifikasi yang didapatkan koloni berwarna putih, bulat, dengan bau khas ragi. Hasil dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Identifikasi makroskopis

2.2 Identifikasi biokimia. Identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231 ditunjukkan dengan terjadinya fermentasi dan terbentuk gas pada maltosa dan glukosa, terjadi fermentasi pada sukrosa dan tidak terjadi reaksi fermentasi dan tidak terbentuk gas pada laktosa (Jawetz *et al.* 2012). Pertumbuhan jamur menjadi lebih cepat pada kondisi asam.

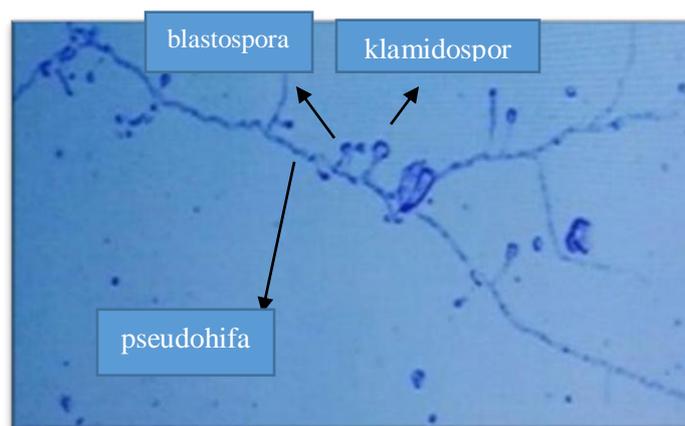


Gambar 10. Identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231

Berdasarkan hasil uji diketahui bahwa jamur *Candida albicans* ATCC 10231 pada media glukosa, maltosa, sukrosa terjadi fermentasi karbohidrat menjadi asam yang ditandai dengan perubahan warna merah dari indikator *Phenol Red* 1 % menjadi kuning dan terbentuknya gas dalam tabung durham pada media glukosa dan maltosa sedangkan tidak terbentuk gas pada sukrosa dan laktosa.

Adanya perubahan warna merah menjadi kuning pada reaksi asimilasi dan fermentasi. Gas yang terbentuk dalam tabung durham menunjukkan adanya reaksi fermentasi. *Candida albicans* merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel pada suasana anaerob dan aerob. Karbohidrat yang terdapat pada gula digunakan untuk metabolisme sel dengan cara mengubahnya menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO₂. Proses fermentasi jamur menghasilkan persediaan bahan bakar yang digunakan dalam proses oksidasi dan pernafasan. Proses asimilasi *Candida albicans* menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon maupun energi untuk melakukan pertumbuhan sel. Hasil pengujian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa jamur yang diidentifikasi adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

2.3 Mikroskopis. Pengamatan secara mikroskopis dengan metode pewarnaan menggunakan *Lactofenol cotton blue* (LCB). Komposisi LCB yaitu Kristal *cotton blue* berfungsi untuk memberikan warna pada sel, asam laktat yang berfungsi untuk menjernihkan latar belakang dan mempertajam struktur, gliserin berfungsi menjaga fisiologi sel dari kekeringan, Kristal fenol berfungsi untuk membunuh jamur (Astrid *et al.* 1999)



Gambar 11. Identifikasi mikroskopis *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi mikroskopis dengan cara mengambil sediaan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dari serum kurang lebih 2 ose, sediaan tersebut diletakkan pada objek glass kemudian ditetesi *Lactofenol Cotton Blue* kemudian ditutup dengan menggunakan cover glass. Sediaan apus eksudat, *Candida albicans*

tampak sebagai ragi lonjong, kecil, berding tipis, bertunas, berukuran 2-3 μm yang memanjang menyerupai hifa (Jawetz 2012). Berdasarkan gambar 11 dapat terlihat bahwa terdapat pseudohifa, ragi lonjong, kecil, berding tipis dapat disimpulkan bahwa sediaan adalah jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

3. Hasil pengujian aktivitas antijamur *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231

Pengujian aktivitas antijamur dari *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dilakukan untuk mengetahui perbandingan ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231. Uji antijamur pada penelitian ini menggunakan metode difusi dan diinkubasi selama 48-72 jam. Hasil uji aktivitas dapat dilihat dari diameter daya hambat yang ditandai adanya area bening disekitar sumuran pada media SGA. Uji aktivitas antijamur menggunakan formulasi dari ekstrak tunggal daun sirih hijau, rimpang lengkuas putih, dan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dengan perbandingan 1:2, 2:1, dan 1,5:1,5, Kontrol negatif dan Kontrol positif. Formula kombinasi 1,5:1,5 terdiri dari ekstrak daun sirih hijau 1,5 g ditambah 1,5 g ekstrak rimpang lengkuas putih, perbandingan 2:1 terdiri dari 2 g ekstrak daun sirih hijau dan 1 g ekstrak rimpang lengkuas putih, perbandingan 1:2 terdiri dari 1 g ekstrak daun siri hijau dan 2 g rimpang lengkuas putih. Hasil uji aktivitas *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Aktivitas antijamur *spray toilet seat sanitizer* kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Formula	Konsentrasi	Diameter Daya hambat(mm)			Rata-rata \pm SD
		1	Replikasi 2	3	
F1 (Ekstrak tunggal daun sirih hijau)	3%	11,70	12,00	1170	11,8 \pm 0,17
F2 (Ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih)	3%	13,30	13,50	13,30	13,37 \pm 0,11
F 3(eks. daun sirih hijau:eks. rimpang lengkuas putih)	1,5:1,5	13,00	12,00	11,30	12,1 \pm 0,8
F4 (eks. daun sirih hijau:eks.rimpang lengkuas putih)	2:1	12,30	12,30	12,00	12,2 \pm 0,17
F5 (eks daun sirih hijau:eks. rimpang lengkuas putih)	1:2	15,00	16,30	15,70	15,67 \pm 0,65

Kontrol +	23,30	24,30	23,70	23,77±0,5
Kontrol -	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 14 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau, ekstrak rimpang lengkuas putih kombinasi keduanya dengan perbandingan 1,5:1,5, 2:1, dan 1:2 mempunyai aktivitas untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231. Rata-rata hasil yang terbesar yaitu Q-san (kontrol +) dengan rata-rata 23.77. Hasil diatas menunjukkan bahwa daya hambat dari ekstrak kombinasi daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dengan perbandingan 1:2 memiliki aktivitas paling tinggi dibanding ekstrak tunggal daun sirih hijau, ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih, perbandingan 1.5:1.5 dan 2:1. Terdapatnya daya hambat pada masing-masing formula kemungkinan terjadi disebabkan karena kandungan senyawa kimia dari masing masing tanaman. Daun sirih hijau terdapat senyawa tanin dan fenol. Tanin mempunyai sifat sebagai pengelat berefek spasmolitik, efek spasmolitik diduga dapat mengkerutkan dinding sel jamur *Candida albicans*, sehingga mengganggu permeabilitas sel dan mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktifitas hidupnya yang akhirnya menyebabkan perumbuhan sel terhambat atau bahkan sel akan mati. Mekanisme kerja fenol dengan merusakkan membrane plasma, inaktivasi enzim dan denaturasi protein.

Pada rimpang lengkuas putih kandungan senyawa kimia yang mampu menghambat *Candida albicans* adalah flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan jamur yaitu dengan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel jamur, gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi akhirnya akan menyebabkan sel jamur lisis.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dimana jika kombinasi dibandingkan dengan ekstrak tunggal dapat dijelaskan bahwa ekstrak tunggal daun sirih hijau mampu memberikan daya hambat rata-rata sebesar 11,8 mm dan rimpang lengkuas putih sebesar 13,37 mm. Kombinasi perbandingan 1,5:1,5 diperoleh diameter 12,1 mm jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal masing-masing tanaman dimana ekstrak tunggal sirih hijau diameter kecil dan ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih besar jika digabungkan dengan konsentrasi yang sama

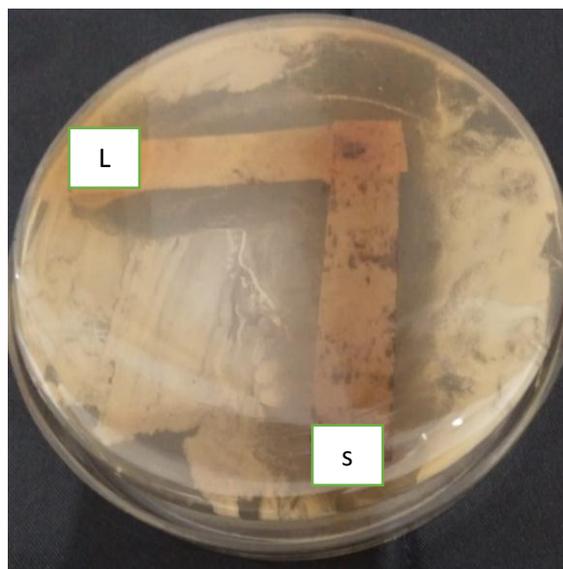
maka rimpang lengkuas putih akan menguatkan daun sirih hijau dalam menghambat jamur. Kombinasi 2:1 dimana diperoleh diameter 12,2 mm daun sirih hijau memiliki konsentrasi yang lebih besar dari rimpang lengkuas putih sehingga daun sirih hijau akan menguatkan kerja dalam menghambat jamur. Kombinasi 1:2 dimana konsentrasi rimpang lengkuas putih lebih besar dari daun sirih hijau jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal, ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih sudah mampu menghambat jamur dengan diameter 13,37 mm, dan bila dikombinasikan dengan daun sirih hijau dimana konsentrasi lengkuas putih lebih besar tentu mampu memberikan aktivitas menghambat jamur lebih baik dari ekstrak tunggal karena kombinasi kedua tanaman saling menguatkan satu sama lain.

Hasil analisis statistik dapat dilihat pada lampiran 27. Hasil pengujian aktivitas antijamur kemudian di analisis menggunakan statistik uji *Kolmogorv smirnov* nilai signifikansinya $0.086 > 0.05$ sehingga dapat disimpulkan hasil rata-rata diameter hambat terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan analisis ANOVA dua arah, hasil uji homogenitas (*Levene test*) nilai signifikasinya $0.067 > 0.05$ sehingga dapat disimpulkan varian homogen. Hasil ANOVA diperoleh nilai signifikansi adalah $0,000 < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan dari ke 7 formula. Analisis dilanjutkan dengan *Tukey* diperoleh 5 subset yang berarti perbedaan formula menunjukkan adanya perbedaan diameter daya hambat. Hasil uji *Tukey* adalah formula 0 (kontrol -) memiliki perbedaan signifikan dengan Formula 1 (ekstrak tunggal daun sirih hijau), Formula 2 (ekstrak tunggal lengkuas putih), Formula 3 (1.5:1.5), Formula 4 (2:1) Formula 5 (1:2) dan kontrol +. Formula 1 berbeda signifikan dengan formula 0, formula 2, formula 5, dan kontrol +, formula 1 tidak memiliki perbedaan dengan formula 3 dan 4. Formula 3 berbeda signifikan dengan formula 0, formula 1, formula 5, dan kontrol +. Formula 3 tidak memiliki perbedaan dengan formula 4 dan 2. Formula 5 berbeda signifikan dengan formula 0, formula 1, formula 2, formula 3, formula 4, dan kontrol +. Data statistik dapat dilihat pada lampiran 30. Hasil uji pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak tunggal daun sirih hijau, ekstrak tunggal rimpang lengkuas putih, dan kombinasi keduanya memiliki aktivitas

terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231. Data statistik keenam formula menunjukkan perbedaan dengan kontrol positif namun dari keenam formula yang memiliki aktivitas paling efektif adalah perbandingan 1:2 (ekstrak daun sirih hijau:ekstrak rimpang lengkuas putih).

4. Hasil identifikasi kombinasi metode pita kertas

Metode pengujian kombinasi dengan menggunakan pita kertas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sifat interaksi antara ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih. Hasil pengujian kombinasi dapat dilihat pada gambar 8 dimana terlihat bahwa pada pita kertas ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih menunjukkan adanya daya hambat yang menghubungkan antara atau dekat 2 zona hambatan.



Keterangan : L: pita ekstrak rimpang lengkuas putih, S : pita ekstrak daun sirih hijau

Gambar 12. Kombinasi pita kertas ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas putih

Interaksi antara ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih dapat disimpulkan bersifat sinergis. Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan. Jadi dapat disimpulkan kombinasi dari ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas putih memiliki efek yang saling menguatkan dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231.