

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman

Proses determinasi tanaman daun sirih hijau dan rimpang lengkuas dilakukan di Laboratorium progam studi biologi, Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian agar terhindarnya kesalahan dalam pengumpulan bahan penelitian. Hasil determinasi daun sirih hijau menurut C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963)

1b-2b-3b-4b-12b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822a-823b_____23. Piperaceae
1b-2b-3b_____3. *Piper* 1b-3b-11b-20b-21b-22b-23b_____ *Piper betle* L.

Berdasarkan hasil determinasi, tanaman daun sirih hijau yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1

Determinasi juga dilakukan pada tanaman rmpang lengkuas. Hasil determinasi daun sirih hijau menurut C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963,1968)

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-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-340_____207.Zingiberaceae
1a-2a-3b-4b_____2. *Alpinia*
1a_____ *Alpinia galanga* (L.) Willd.

Berdasarkan hasil determinasi, tanaman rimpang lengkuas yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk daun sirih hijau dan rimpang lengkuas

Persiapan bahan untuk membuat ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas diawali dengan pengumpulan bahan kemudian dilakukan pengeringan. Daun sirih hijau yang telah terkumpul kemudian dicuci bersih dengan tujuan menghilangkan kotoran dan debu yang tidak diinginkan yang melekat pada daun. Daun sirih hijau yang telah dicuci dikeringanginkan dengan tujuan meniriskan air yang masih tersisa pada daun sirih hijau sehingga menghindari cepatnya proses pembusukan dan mempercepat proses pengeringan. Daun sirih hijau yang telah ditiriskan dirajang untuk memperkecil ukuran daun. Pengeringan dilakukan dengan panas matahari dengan ditutupi kain hitam agar tidak terpapar sinar matahari secara langsung, pengeringan dilakukan selama kurang lebih 3 hari.

Proses pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air pada bahan yang bisa mengakibatkan pertumbuhan jamur atau mikroba seperti bakteri ataupun lainnya yang dapat mengakibatkan menurunnya mutu serbuk serta perubahan kandungan kimia. Bahan kering juga dapat mempermudah dalam penggilingan atau pembuatan serbuk.

Tabel 3. Hasil bobot serbuk dan rendemen daun sirih hijau

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)^(b/b)
5000	450	9

Berdasarkan tabel 3 diatas dapat dilihat bahwa presentase rata-rata hasil pengeringan daun sirih hijau didapatkan 9%. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun sirih memenuhi persyaratan sesuai dengan FHI yaitu tidak lebih dari 10%.

Daun sirih hijau yang telah kering diblender untuk memperkecil ukuran partikel kemudian diperoleh serbuk daun sirih hijau. Serbuk daun sirih hijau kemudian diayak menggunakan ayakan no.40 sehingga diperoleh derajat kehalusan yang homogen.

Persiapan yang dilakukan untuk pembuatan serbuk rimpang lengkuas kurang lebih sama dengan pembuatan serbuk daun sirih hijau. Rimpang lengkuas yang sudah terkumpul disortasi basah terlebih dahulu untuk memisahkan rimpang yang bagus dan yang kurang layak. Rimpang lengkuas yang sudah disortasi basah

kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada permukaan rimpang baik tanah ataupun kotoran lainnya. Rimpang yang sudah dicuci ditiriskan sejenak sembari dilakukan perajangan rimpang untuk memperkecil ukuran agar mempermudah dalam pengeringan. Rimpang lengkuas dikeringkan menggunakan sinar matahari akan tetapi ditutup dengan kain hitam agar tidak kontak dengan sinar matahari secara langsung. Pengeringan rimpang lengkuas dilakukan selama 2-3 hari tergantung dari intensitas panas matahari. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada rimpang agar tidak mudah ditumbuhi mikroba seperti jamur, bakteri dan mikroorganisme lainnya.

Tabel 4. Hasil bobot serbuk dan rendemen rimpang lengkuas

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)^(b/b)
6000	600	10

Berdasarkan tabel 4 di atas dapat dilihat bahwa presentase rata-rata hasil pengeringan rimpang lengkuas didapatkan 10%. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 3. Hasil rendemen serbuk diatas memenuhi persyaratan jumlah rendemen serbuk rimpang lengkuas yang tercantum dalam FHI yaitu tidak lebih dari 10%.

Rimpang lengkuas yang telah kering dihaluskan menggunakan alat penggiling simplisia untuk memperkecil ukuran partikel kemudian diperoleh serbuk rimpang lengkuas. Serbuk rimpang lengkuas kemudian diayak menggunakan ayakan no.60 sehingga diperoleh derajat kehalusan yang homogen.

3. Hasil pembuatan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas

Pembuatan ekstrak daun sirih hijau dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk daun sirih hijau dengan pelarut 70% selama 5 hari dengan sesekali penggojokan. Hasil maserasi diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak agak kental kemudian dilanjutkan dengan pemekatan menggunakan oven dengan suhu dibawah 50⁰C sampai didapatkan ekstrak yang pekat.

Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirih hijau

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak(g)	Rendemen (%)^(b/b)
500	72,5224	14,50

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang bobotnya untuk mengetahui presentase rendemen ekstrak. Berdasarkan tabel 4, diperoleh hasil prosentase rendemen ekstrak sebesar 14,50%. Perhitungan presentase rendemen ekstrak etanol daun sirih hijau dapat dilihat pada lampiran 6. Berdasarkan DepKes RI (2008), rendemen ekstrak daun sirih hijau yang disyaratkan dalam Farmakope Herbal Indonesia adalah tidak kurang dari 5,0% sehingga ekstrak daun sirih hijau yang dibuat memenuhi persyaratan.

Pembuatan ekstrak rimpang lengkuas juga dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk daun sirih hijau dengan pelarut 70% selama 5 hari dengan sesekali penggojokan. Hasil maserasi diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak agak kental kemudian dilanjutkan dengan pemekatan menggunakan oven dengan suhu dibawah 50⁰C sampai didapatkan ekstrak yang pekat.

Tabel 6. Hasil rendemen ekstrak etanol rimpang lengkuas

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak(g)	Rendemen (%)^(b/b)
500	104,0751	20,81

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang bobotnya untuk mengetahui presentase rendemen ekstrak. Berdasarkan tabel 6, diperoleh hasil prosentase rendemen ekstrak sebesar 20,81%. Perhitungan presentase rendemen ekstrak etanol rimpang lengkuas dapat dilihat pada lampiran 5. Berdasarkan DepKes RI (2008), rendemen ekstrak rimpang lengkuas yang disyaratkan dalam Farmakope Herbal Indonesia adalah tidak kurang dari 16,0% sehingga ekstrak rimpang lengkuas yang dibuat memenuhi persyaratan.

4. Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode *sterling bidwell*. Penetapan kadar air dimaksudkan untuk mengetahui presentase kadar air yang terkandung

dalam serbuk dan ekstrak sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dan mikroorganisme yang dapat merusak kualitas bahan uji.

Tabel 7. Penetapan kadar air serbuk daun sirih hijau

No.	Bobot awal ekstrak (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	0,9	4,5
2	20	1,0	5
3	20	1,0	5
Rata-rata \pm SD			4,83 \pm 0,29

Berdasarkan tabel 7, hasil rata-rata presentase penetapan kadar air serbuk daun sirih hijau yang didapat adalah 4,83 %. Hasil penetapan kadar air serbuk daun sirih hijau memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 10% (DepKes RI 2008).

Tabel 8. Penetapan kadar air serbuk rimpang lengkuas

No.	Bobot awal ekstrak (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,0	5
2	20	1,2	6
3	20	1,4	7
Rata-rata \pm SD			6 \pm 1

Berdasarkan tabel 8, hasil rata-rata presentase penetapan kadar air serbuk rimpang lengkuas yang didapat adalah 6 %. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang lengkuas memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 10% (DepKes RI 2008).

Penetapan kadar air juga dilakukan terhadap ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas. Penetapan bertujuan untuk mengetahui kandungan air agar dihasilkan ekstrak yang tidak mengandung banyak kadar air.

Tabel 9. Penetapan kadar air ekstrak daun sirih hijau

No.	Bobot awal ekstrak (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,4	7
2	20	1,0	5
3	20	1,5	7,5
Rata-rata \pm SD			6,5 \pm 1,32

Berdasarkan tabel 9, hasil rata-rata presentase penetapan kadar air ekstrak daun sirih hijau yang didapat adalah 6,5 %. Rata-rata tersebut memenuhi syarat presentase kadar air yaitu kurang dari 10%. (DepKes RI 2008).

Tabel 10. Penetapan kadar air ekstrak rimpang lengkuas

No.	Bobot awal ekstrak (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,0	5
2	20	1,2	6
3	20	1,0	5
Rata-rata \pm SD			5,3 \pm 0,58

Berdasarkan tabel 10, hasil rata-rata presentase penetapan kadar air ekstrak rimpang lengkuas yang didapat adalah 5,3%. Rata-rata tersebut memenuhi syarat presentase kadar air yaitu kurang dari 10%. (DepKes RI 2008). Hasil perhitungan dari kadar air serbuk maupun ekstrak tersebut dapat dilihat pada lampiran 6 untuk serbuk dan ekstrak daun sirih hijau dan lampiran 7 untuk serbuk dan ekstrak rimpang lengkuas.

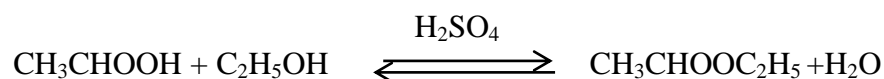
5. Uji bebas etanol

Ekstrak daun sirih hijau maupun ekstrak rimpang lengkuas dilakukan uji bebas etanol untuk melakukan esterifikasi alkohol. Gambar hasil pengujian bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 14.

Tabel 11. Uji bebas etanol ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas

Prosedur	Hasil uji
Ekstrak etanol daun sirih hijau + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ CHOOH, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas
Ekstrak etanol rimpang lengkuas + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ CHOOH, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas

Pengujian bebas etanol ini dilakukan dengan cara ekstrak etanol dimasukkan dalam cawan porselen, ditambah asam sulfat dan asam asetat lalu dipanaskan. Hasil uji dinyatakan ekstrak bebas etanol ditunjukkan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol (Voight 1995). Reaksi yang terjadi :



Uji bebas etanol dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa didalam ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas tidak terdapat pelarut etanol yang tertinggal. Pelarut dapat mengakibatkan jamur uji terbunuh bukan oleh senyawa yang terdapat didalam ekstrak melainkan karena pelarut etanol yang tertinggal.

6. Identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak

Identifikasi kandungan senyawa dilakukan pada serbuk dan ekstrak daun sirih hijau maupun rimpang lengkuas. Identifikasi dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan yang digunakan. Berdasarkan tabel 12, pada hasil identifikasi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid menunjukkan adanya perubahan yang sesuai dengan pustaka, maka dapat disimpulkan bahwa serbuk dan ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Gambar hasil identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak dapat dilihat pada lampiran 13.

Tabel 12. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun sirih hijau

Kandungan kimia	Pustaka	Hasil		
		Serbuk	Ekstrak	Ket.
Saponin	Terbentuk buih yang stabil, ditambahkan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (DepKes RI 1980)	Terdapat buih	Terdapat buih	+
Alkaloid	Pereaksi : Dragendorff; terbentuk endapan merah hingga jingga Mayer : Terbentuk endapan putih kekuningan (Alamsyah & Kurniawan 2014)	Dragendorff: Endapan kemerahan Mayer: endapan putih	Dragendorff: Endapan kemerahan Mayer: endapan putih	+
Flavonoid	Terbentuk warna merah muda, merah, jingga atau kuning pada pelarut amil alkohol (Nugrahani 2016)	Merah muda	Merah muda	+
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman dan biru tua (Yuningsih 2007)	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	+
Steroid	Terbentuk warna merah, hijau, ungu dan biru (Indrayani <i>et al.</i> 2006)	Hijau	Hijau	+

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk dan ekstrak daun sirih hijau terjadi perubahan sesuai dengan pustaka.

Berdasarkan tabel 13, pada hasil identifikasi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid menunjukkan adanya perubahan yang sesuai dengan pustaka, maka dapat disimpulkan bahwa serbuk rimpang lengkuas dan ekstrak rimpang lengkuas mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Hasil yang ditunjukkan tidak ada perbedaan dengan hasil yang terjadi pada daun sirih hijau.

Tabel 13. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak rimpang lengkuas

Kandungan kimia	Pustaka	Hasil		
		Serbuk	Ekstrak	Ket.
Saponin	Terbentuk buih yang stabil, ditambahkan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (DepKes RI 1980)	Terdapat buih	Terdapat buih	+
Alkaloid	Pereaksi : Dragendorff; terbentuk endapan merah hingga jingga Mayer : Terbentuk endapan putih kekuningan (Alamsyah & Kurniawan 2014)	Dragendorff: Endapan coklat kemerahan Mayer: endapan putih	Dragendorff: Endapan coklat kemerahan Mayer: endapan putih	+
Flavonoid	Terbentuk warna merah muda, merah, jingga atau kuning pada pelarut amil alkohol (Nugrahani 2016)	Cincin merah muda	Cincin merah muda	+
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman dan biru tua (Yuningsih 2007)	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	+
Steroid	Terbentuk warna merah, hijau, ungu dan biru (Indrayani <i>et al.</i> 2006)	Hijau	Hijau	+

Analisis kromatografi lapis tipis bertujuan untuk menentukan banyaknya komponen senyawa yang dihasilkan oleh minyak atsiri rimpang lengkuas dan daun sirih hijau. Toluena merupakan pelarut non polar sedangkan etil asetat merupakan pelarut yang sedikit polar, sehingga dengan perbandingan eluen tersebut mampu membawa komponen minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari senyawa non polar atau semi polar, serta sebagian kecil senyawa polar. Minyak atsiri diidentifikasi dengan fase diam silika gel GF₂₅₄, Fase gerak toluena : etil asetat (93:7), Pembanding eugenol, Pereaksi semprot vanilin-asam sulfat, positif warna coklat jingga (Depkes 1987).

Penelitian ini tidak melakukan identifikasi minyak atsiri yang menjadi kekurangan dalam penelitian ini. Minyak atsiri akan menimbulkan noda berwarna coklat jingga setelah disemprot pereaksi vanillin asam sulfat. Minyak atsiri memiliki nilai *r_f* berkisar antara 0,45-,070. Pembanding dalam Analisa minyak atsiri menggunakan metode biasanya menggunakan eugenol. Spot yang ditimbulkan adanya senyawa minyak atsiri dalam suatu sampel ditandai dengan redaman noda padan UV 254 nm dan flourosensi dengan warna biru muda pada UV 366 nm (Depkes 1987).

7. Hasil formulasi obat kumur

Obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas dibuat dalam 3 formula mengandung kombinasi ekstrak, 2 formula

mengandung ekstrak tunggal dan 1 formula tanpa kedua ekstrak sebagai kontrol negatif (-). Obat kumur dengan kombinasi ekstrak menggunakan 3 jenis variasi perbandingan ekstrak yang berbeda-beda yaitu perbandingan ekstrak daun sirih hijau dibanding ekstrak rimpang lengkuas (2:1); (1:1); dan (1:2). Obat kumur dengan ekstrak tunggal mengandung salah satu ekstrak yang digunakan dan jumlah ekstrak yang digunakan sama dengan jumlah ekstrak kombinasi. 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, pH, viskositas, uji stabilitas) dan uji difusi. Tujuan dari uji mutu fisik ini supaya formula obat kumur ekstrak yang dibuat memenuhi persyaratan formula obat kumur yang baik. Variasi perbandingan kombinasi ekstrak yang dibuat bertujuan untuk mengetahui perbandingan paling optimum sebagai antijamur dalam rongga mulut. Hasil yang sudah dibuat adalah 3 formula obat kumur dengan kombinasi ekstrak, 2 formula obat kumur dengan formula tunggal, dan 1 formula obat kumur sebagai kontrol negatif (-) memberikan efek terhadap jamur dan uji mutu fisiknya memenuhi persyaratan obat kumur yang baik.

8. Hasil pembuatan obat kumur

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L.) dibuat dalam sediaan obat kumur dengan berbagai varian perbandingan. Pembuatan obat kumur dibuat dengan perbandingan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas (2:1); (1:1); dan (1:2), 1 formula tunggal ekstrak daun sirih hijau, dan 1 formula tunggal ekstrak rimpang lengkuas dibuat dalam 100 ml aquadest. Ekstrak yang sudah ditimbang dimasukkan dalam cawan porselen kemudian ditambahkan dengan tween 80 dan dihomogenkan. Pemilihan tween 80 sebagai surfaktan karena tween 80 dapat meningkatkan kelarutan ekstrak sehingga dapat bercampur dengan bahan pengisi lainnya. Gliserin dimasukkan dalam beaker glass ditambahkan Na. Sakarin dan Na. Benzoat dihomogenkan. Etanol 70% dibagi menjadi 2 bagian setengah untuk campuran ekstrak dan tween 80 ad homogen, setengah bagian untuk campuran dalam beaker glass ad homogen.

Kedua campuran dihomogenkan kemudian dimasukkan dalam botol yang sudah dikalibrasi. *Oleum menthae* ditambahkan sekitar 2-3 tetes. Penambahan *oleum menthae* bertujuan untuk memberikan aroma pada obat kumur yang dibuat dan menutupi bau yang kurang sedap yang timbul oleh adanya ekstrak yang digunakan.

Gliserin berfungsi sebagai pengatur kekentalan didalam sediaan obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang lengkuas ini, selain itu juga berfungsi sebagai humektan yang bertujuan untuk menjaga kondisi kelembaban dalam rongga mulut sehingga mulut tidak terasa kering setelah menggunakan obat kumur. Na. Sakarin berfungsi sebagai pemberi rasa manis obat kumur untuk memperbaiki rasa dari sediaan obat kumur. Pengawet yang digunakan adalah Na. Benzoat. Penggunaan pengawet bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme didalam sediaan obat kumur. Na. Benzoat juga cocok digunakan sebagai pengawet obat kumur karena tidak bereaksi dengan pH mulut. Penggunaan etanol 70% bertujuan sebagai pelarut tambahan membantu aquadest dalam menghomogenkan bahan yang digunakan dan berfungsi sebagai adstringen yang membantu dalam menciutkan pori-pori sariawan yang disebabkan oleh *Candida albicans*. obat kumur yang sudah jadi disimpan dalam suhu ruang 25⁰C, kering, dan ditutup rapat untuk menjaga kualitas dari obat kumur ekstrak yang dibuat.

9. Hasil uji mutu fisik dan stabilitas obat kumur

9.1. Hasil uji organoleptis. Pemeriksaan organoleptis pada obat kumur dilakukan untuk melihat tampilan fisik dari suatu sediaan yang dilihat menggunakan panca indera meliputi bentuk, bau, dan warna. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 14.



Gambar 8. Foto hasil formulasi obat kumur

Organoleptis yang meliputi bentuk, bau, dan warna suatu sediaan akan mempengaruhi kenyamanan dalam penggunaan pada rongga mulut (Elmitra 2017). Formula 0 (F0) merupakan kontrol negatif dimana pada sediaan ini tidak mengandung ekstrak atau tidak ditambahkan zat aktif. F0 diperoleh hasil cair, berwarna bening, dan berbau mentha seperti mint. Ekstrak yang ditambahkan akan mengubah penampilan sediaan, dimana penggunaan perbedaan konsentrasi perbandingan ekstrak yang semakin tinggi akan membuat sediaan obat kumur menjadi lebih pekat dan lebih kental. Ekstrak yang berbeda akan memberikan pengaruh yang berbeda pula pada sediaan yang dibuat.

Tabel 15 menunjukkan bahwa obat kumur kombinasi ekstrak memiliki perbedaan yang cukup terlihat dari segi warna. Berdasarkan konsistensi semua formula memiliki konsistensi yang sama yaitu cair hanya pada pengamatan minggu ke-3 formula 5 terlihat agak kental dan minggu ke-4 terlihat agak kental pada formula 2, 3, dan 5. Konsistensi hampir sama semua formula dikarenakan jumlah ekstrak yang digunakan tiap formula berjumlah total 3 gram sehingga kekentalannya hampir mirip.

Tabel 14. Hasil pengamatan organoleptis

Pemeriksaan	Waktu (minggu)	F0	F1	F2	F3	F4	F5
Konsistensi	1	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
	2	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
	3	Cair	Cair		Cair	Cair	Cair
	4	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
Warna	1	Bening	Coklat pekat	Coklat pekat	Coklat pekat	Hijau pekat	Coklat
	2	Bening	Coklat pekat	Coklat jingga	Coklat pekat	Hijau pekat	Coklat
	3	Bening	Coklat pekat	Coklat jingga	Coklat pekat	Hijau pekat	Coklat
	4	Agak kuning	Coklat pekat	Coklat jingga	Coklat pekat	Hijau pekat	Coklat jingga
Bau	1	Mentha	Mentha	Mentha	Mentha	Mentha	Mentha
	2	Mentha	Khas	Khas	Khas	Khas	Mentha
	3	Mentha	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
	4	Mentha	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas

Keterangan :

F0 : Formula obat kumur tanpa ekstrak

F1 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 2:1

F2 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:1

F3 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:2

F4 : Formula obat kumur ekstrak tunggal daun sirih hijau

F5 : Formula obat kumur ekstrak tunggal rimpang lengkuas

Keterangan :

F0 : Formula obat kumur tanpa ekstrak

F1 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 2:1

F2 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:1

F3 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:2

F4 : Formula obat kumur ekstrak tunggal daun sirih hijau

F5 : Formula obat kumur ekstrak tunggal rimpang lengkuas

Tabel 16 menunjukkan bahwa obat kumur kombinasi ekstrak, obat kumur ekstrak tunggal maupun kontrol negatif yang dilakukan pengamatan pada minggu ke-1 sampai minggu ke-4, terlihat homogen. Homogenitas terlihat dari warna yang merata dan tidak terdapat butiran-butiran didalamnya. Hal ini menunjukkan bahwa setelah penambahan ekstrak ke dalam formula, hasil formula tetap homogen.

9.3. 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 susah menjangkau bagian tersulit seperti sela-sela gigi. Hasil uji viskositas sediaan obat kumur dapat dilihat pada tabel 16.

Tabel 16. Hasil uji viskositas

Waktu	Viskositas (mPa.s)					
	F0	F1	F2	F3	F4	F5
Minggu 1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Minggu 4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

Keterangan :

F0 : Formula obat kumur tanpa ekstrak

F1 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 2:1

F2 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:1

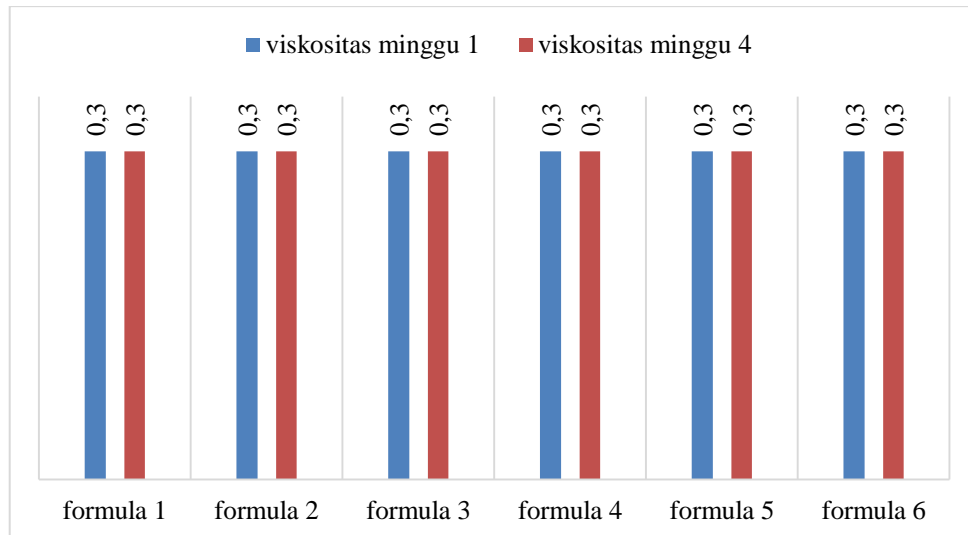
F3 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:2

F4 : Formula obat kumur ekstrak tunggal daun sirih hijau

F5 : Formula obat kumur ekstrak tunggal rimpang lengkuas

Tabel 16 menunjukkan hasil pengujian viskositas formula 0,1,2,3,4, dan 5. Hasil viskositas keenam formula menunjukkan tidak adanya perbedaan. Meskipun sudah ditambahkan ekstrak akan tetapi formula yang mengandung ekstrak memiliki viskositas yang sama dengan formula kontrol negatif (F0). Viskositas keenam formula sama karena konsistensi formula 0,1,2,3,4, dan 5 sama-sama cair

(encer) tidak terlihat kental. Viskositas diukur menggunakan viskometer dengan rotor nomor 3 karena sediaan yang dibuat merupakan larutan dan konsistensinya cair.



Gambar 9. Grafik data uji viskositas

Gambar 9 merupakan grafik hasil uji viskositas pada minggu ke-1 dan minggu ke-4, hasil yang diperoleh yaitu tidak terjadi peningkatan ataupun penurunan viskositas sediaan. Perubahan viskositas dipengaruhi oleh suhu penyimpanan sediaan, dan tempat yang tidak tertutup kedap.



Gambar 10. Foto pemeriksaan viskositas obat kumur

Analisis dilakukan dengan menggunakan *One Sample Kolmogorov Smirnov* nilai signifikansi pada pengujian viskositas pada minggu pertama dan

keempat terdistribusi tidak normal . Analisis data dilanjutkan menggunakan uji nonparametrik menggunakan *Kruskal-Wallis*. Pada pengujian *Kruskal-Wallis* didapat harga signifikansi $0,005 < 0,05$ berarti H_0 ditolak, data yang diamati di minggu ke-1 dan minggu ke-4 tidak terdistribusi secara normal. Selanjutnya dilakukan uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui kebermaknaan lebih dari dua kelompok. Data viskositas yang telah dianalisis menggunakan SPSS diperoleh harga signifikansi $1,000 > 0,05$ maka H_0 diterima, berarti distribusi viskositas sediaan obat kumur pada minggu ke-1 dan ke-4 identik. Hasil analisa SPSS nilai pH dapat dilihat pada lampiran 24.

10. 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 yang dibuat dengan obat kumur yang sudah ditetapkan. Hasil uji pH. Hasil uji pH dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 17. Hasil uji pH

Waktu	pH					
	F0	F1	F2	F3	F4	F5
Minggu ke-1	7,12	6,78	6,23	6,15	6,19	4,02
	7,12	6,79	6,22	6,14	6,19	4
	7,12	6,79	6,23	6,15	6,18	4
Rata-rata ±	7,12 ±	6,79 ±	6,23 ±	6,15 ±	6,19 ±	4,01 ±
SD	0	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Minggu ke-2	6,11	5,27	5,28	5,28	5,26	3,77
	6,12	5,28	5,29	5,29	5,26	3,78
	6,13	5,28	5,29	5,28	5,26	3,77
Rata-rata ±	6,12 ±	5,28 ±	5,29 ±	5,28 ±	5,26 ±	3,77 ±
SD	0,01	0,01	0,01	0,01	0	0,01
Minggu ke-3	6,11	5,24	5,25	5,26	5,24	3,75
	6,11	5,24	5,25	5,26	5,23	3,75
	6,11	5,25	5,24	5,26	5,24	3,76
Rata-rata ±	6,11 ±	5,24 ±	5,25 ±	5,26 ±	5,24 ±	3,75 ±
SD	0	0,01	0,01	0	0,01	0,01
Minggu ke-4	6,08	5,22	5,23	5,26	5,23	3,73
	6,09	5,23	5,24	5,25	5,23	3,74
	6,08	5,22	5,23	5,25	5,23	3,75
Rata-rata ±	6,08 ±	5,22 ±	5,23 ±	5,25 ±	5,23 ±	3,74 ±
SD	0,01	0,01	0,01	0,01	0	0,01

Keterangan :

F0 : Formula obat kumur tanpa ekstrak

F1 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 2:1

F2 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:1

F3 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:2

F4 : Formula obat kumur ekstrak tunggal daun sirih hijau

F5 : Formula obat kumur ekstrak tunggal rimpang lengkuas

Syarat pH sediaan obat kumur yang baik 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 di dalam 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.

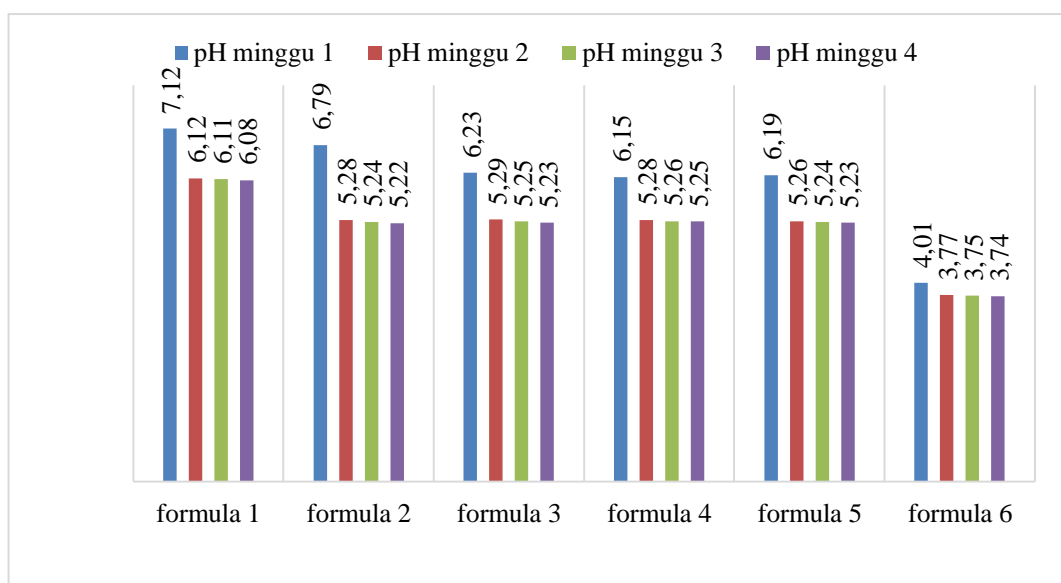
Hasil pengujian pH pada jurnal yang digunakan sebagai acuan menyatakan bahwa F0 memiliki pH $7,69 \pm 0,06$ dan formula dengan ekstrak memiliki pH antara 6,65-6,68. Pemeriksaan pH pada jurnal dilakukan selama 6 minggu dan mengalami penurunan paling rendah pada minggu ke-4 dan kemudian pH meningkat kembali. Siklus perubahan pH tersebut terjadi pada semua formula termasuk F0 (Rasyadi 2008). Hasil pengujian pH formula yang dibuat masih memenuhi persyaratan pH obat kumur namun berada dibawah pH obat kumur penelitian sebelumnya. Ekstrak yang digunakan juga dapat mempengaruhi pH dikarenakan berdasarkan hasil pemeriksaan obat kumur ekstrak tunggal lengkuas memiliki pH yang paling asam yaitu $3,74 \pm 0,01$.



Gambar 11. Foto pemeriksaan pH obat kumur

Berdasarkan hasil uji pH, sediaan obat kumur telah memenuhi persyaratan sebagai sediaan oral. Gambar 12, merupakan grafik data uji pH, dari grafik tersebut menyatakan bahwa terjadi penurunan nilai pH pada semua sediaan setelah disimpan selama 28 hari. Penurunan nilai pH dapat disebabkan karena sediaan disimpan pada suhu ruang.

Analisis dilakukan dengan menggunakan *One Sample Kolmogorov Sminorv* nilai signifikansi pada pengujian pH pada minggu ke-1 dengan nilai signifikansi $0,424 > 0,05$ (H_0 diterima), pada minggu ke-2 nilai signifikansi $0,345 > 0,05$ (H_0 diterima), sedangkan pada minggu ke-3 nilai signifikansi $0,338 > 0,05$ (H_0 diterima), dan pada minggu ke-4 nilai signifikansi $0,342 > 0,05$ (H_0 diterima). Data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis dengan *Independent T-test*.



Gambar 12. Grafik data uji pH

Berdasarkan analisa SPSS menggunakan *Independent T-test* pada *equal variacens assumed* nilai t yaitu 0,338 dengan nilai sig $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kedua varian sama, sedangkan dilihat pada *equal variacens not assumed* nilai t yaitu 1,768 dengan nilai sig (2-tailed) 0,111. Hasil nilai sig $> 0,05$ maka H_0 diterima atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hari minggu ke-1, minggu ke-2, minggu ke-3, dan minggu ke-4 pada pengujian pH terhadap obat kumur yang dibuat. Hasil perhitungan dan analisis SPSS nilai pH dapat dilihat pada lampiran 24.

10.1 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 yang dibuat di dalam suhu ruang atau kamar

selama 28 hari. Suhu ruang yang biasa digunakan yaitu 25-32⁰C, kemudian diamati adanya perubahan organoleptis dari obat kumur yang dibuat. Hasil uji stabilitas dapat dilihat pada tabel 19. Pengujian stabilitas dilakukan pada semua formula obat kumur termasuk F0.

Tabel 18. Hasil pengamatan uji stabilitas

Pemeriksaan	Waktu	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
Konsistensi	Minggu ke-1	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
	Minggu ke-4	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair	Cair
Warna	Minggu ke-1	Bening	Coklat pekat	Coklat pekat	Coklat pekat	Hijau pekat	Coklat
	Minggu ke-4	Agak kuning	Coklat pekat	Coklat pekat	Coklat pekat	Hijau pekat	Coklat jingga
Bau	Minggu ke-1	Mentha	Mentha	Mentha	Mentha	Mentha	Mentha
	Minggu ke-4	Mentha	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
Stabilitas	Minggu ke-1	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah
	Minggu ke-4	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah

Keterangan :

F0 : Formula obat kumur tanpa ekstrak

F1 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 2:1

F2 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:1

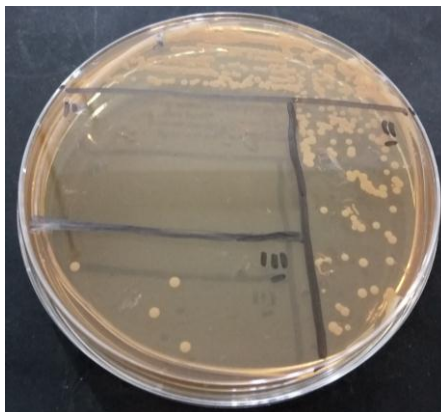
F3 : Formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan lengkuas 1:2

F4 : Formula obat kumur ekstrak tunggal daun sirih hijau

F5 : Formula obat kumur ekstrak tunggal rimpang lengkuas

11. Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan untuk meyakini bahwa jamur uji yang digunakan adalah benar. Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan 3 cara, yaitu pertama dengan media selektif, kedua identifikasi mikroskopis, dan yang ketiga identifikasi biokimia.

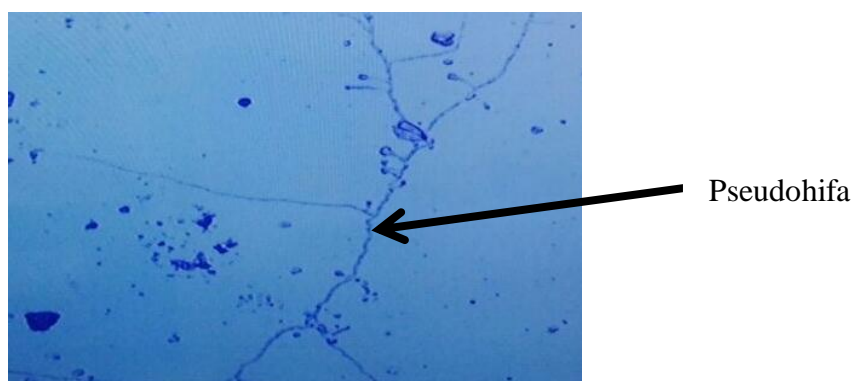


Gambar 13. Foto inokulasi *Candida albicans* pada media selektif SGA

11.1. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 pada media selektif Sabourond Glukosa Agar. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan pada media selektif Sabourond Glukosa Agar (SGA) yang di inokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Pada media SGA akan terlihat koloni-koloni lunak mengkilap, berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. (Jawetz *et al.* 2007)

Berdasarkan gambar hasil (Gambar 13) terlihat pada media SGA nampak koloni-koloni tumbuh yang memiliki ciri khas lunak mengkilap, berwarna krem, dan bau seperti ragi. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukandibandingkan dengan pustaka bahwa jamur yang diamati adalah benar *Candida albicans* ATCC 10231.

11.2. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 menggunakan pewarnaan smear perbesaran sedang (1000x). Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis dilakukan menggunakan suspensi jamur *Candida albicans* yang telah dibiakan menggunakan serum darah manusia dengan golongan darah O. Biakan *Candida albicans* ATCC 10231 dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi plasma serum darah kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Biakan yang sudah diinkubasi kemudian dibuat preparat kemudian dilakukan pewarnaan dengan menggunakan pewarnaan *lactopenol cotton blue* berfungsi untuk memberikan warna biru pada jamur, dengan cara pengambilan 1 ose pada stok *Candida albicans* diletakkan pada *object glass*, kemudian ditetesi 1 tetes *lactopenol cotton blue* dan ditutupi *cover glass*, kemudian diamati dibawah mikroskop.



Gambar 14. Hasil mikroskopis *Candida albicans* ATCC 10321 yang dibiakan dengan serum

Candida albicans ATCC 10321 dibiakan menggunakan serum bertujuan untuk merangsang pertumbuhan pseudohifa dari *Candida albicans* ATCC 10321. Pada hasil pembacaan dengan mikroskop, preparat *Candida albicans* ATCC 10321 yang telah dibiakan menggunakan serum darah manusia golongan darah O (Gambar 14) tampak seperti ragi, lonjong bertunas yang memanjang meyerupai pseudohifa. Pertumbuhan terdiri dari sel-sel bertunas yang lonjong.

11.3. Identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara biokimia dilakukan pada media *Lactose Broth*, *Glucose Broth*, *Sucrose Broth*, dan *Maltose Broth*. Uji identifikasi biokimia mengamati kemampuan jamur dalam asimilasi dan fermentasi. Pada proses fermentasi karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana merah.



Gambar 15. Hasil identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10321

Identifikasi biokimia dilakukan dengan mengambil 1 ose dari biakan *Candida albicans* kemudian diinokulasikan ke dalam masing-masing tabung reaksi berisikan media *Lactose Broth*, *Glucose Broth*, *Sucrose Broth*, dan *Maltose Broth*. Masing-masing tabung reaksi sebelumnya telah diberi tabung durham yang diletakkan terbalik untuk mengetahui pembentukan gas kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Tabel 19. Hasil identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231

Media	Hasil	Pustaka (Mutiawati 2016)
<i>Maltose Broth</i>	kuning/G ⁺	Terbentuk gas
<i>Glucose Broth</i>	kuning/G ⁺	Terbentuk gas
<i>Sucrose Broth</i>	kuning/G ⁻	Tidak terbentuk gas
<i>Lactose Broth</i>	merah/G ⁻	Tidak terbentuk gas

keterangan : G : terbentuk gas (+) : ada (-) : tidak ada

Identifikasi biokimia *Candida albicans* menunjukkan adanya perubahan warna merah menjadi kuning pada reaksi asimilasi dan fermentasi. Gas yang terbentuk dalam tabung Durham menunjukkan adanya reaksi fermentasi, jamur ini menunjukkan reaksi asam dan gas pada *glucose* dan *maltose*, terjadi proses fermentasi tanpa menghasilkan gas pada *sucrose* dan tidak terjadi proses fermentasi dan asimilasi pada *lactose*. *Candida albicans* merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel pada suasana anaerob dan aerob. Karbohidrat yang berada dalam larutan gula dapat digunakan untuk metabolisme sel dengan cara mengubahnya menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Hasil fermentasi pada suasana anaerob berupa asam laktat atau etanol dan CO₂. Proses akhir fermentasi ini menghasilkan persediaan bahan bakar yang digunakan dalam proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi, *Candida albicans* menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon maupun energi untuk melakukan pertumbuhan sel (Suriawiria 2005)

Berdasarkan tabel di atas pada medium *Glucose Broth*, *Sucrose Broth*, dan *Maltose Broth* terjadi proses fermentasi karbohidrat menjadi asam organik yang ditandai dengan adanya perubahan warna merah menjadi kuning dari indikator phenol red 1%, namun hanya pada medium *Glucose Broth* dan *Maltose Broth* yang terbentuk gas pada tabung Durham. Pembentukan gas pada tabung Durham terjadi karena karbohidrat diubah menjadi CO₂ dan H₂O pada saat metabolisme sel (Waluyo 2004). Pada medium *lactose broth* tidak terjadi proses fermentasi karbohidrat menjadi asam organik yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna merah dari indikator phenol red 1% menjadi kuning.

Hasil pengujian biokimia berdasarkan tabel diatas dapat disimpulkan bahwa jamur yang diamati adalah *Candida albicans*. Hasil pengujian identifikasi biokimia dapat dilihat pada lampiran 18.

12. Hasil pengujian aktifitas antijamur secara difusi

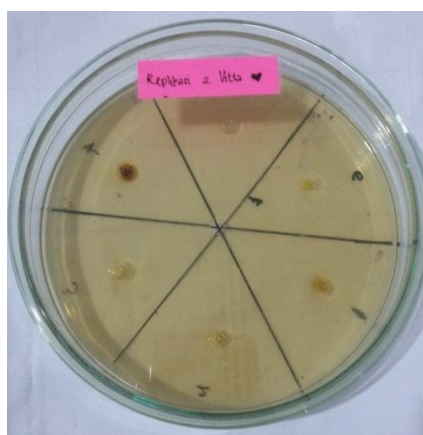
Pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Pengujian aktivitas antijamur menggunakan metode difusi. Metode difusi yang digunakan adalah difusi sumuran. Metode difusi bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur dari bahan uji, serta mengetahui kombinasi bahan uji yang paling efektif memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Hasil dari formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas, formula obat kumur tunggal ekstrak, dan formula obat kumur kontrol negatif dilakukan pengujian aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding adalah Betadine gargle (Providon iodine 1%).

Tabel 20. Hasil pengujian antijamur secara difusi

Sampel	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata \pm SD
	Replikasi			
	I	II	III	
F0 (Kontrol negatif)	0	0	0	0 \pm 00
F1 (2:1)	11	12	11	11,33 \pm 0,58
F2 (1:1)	18	14	15	15,67 \pm 2,08
F3 (1:2)	19	18	18	18,33 \pm 0,58
F4 (Daun sirih)	12,5	12,8	12	12,43 \pm 0,40
F5 (Lengkuas)	18	17	14	16,33 \pm 2,08
Kontrol (+)	21	20	20,5	20,50 \pm 0,50

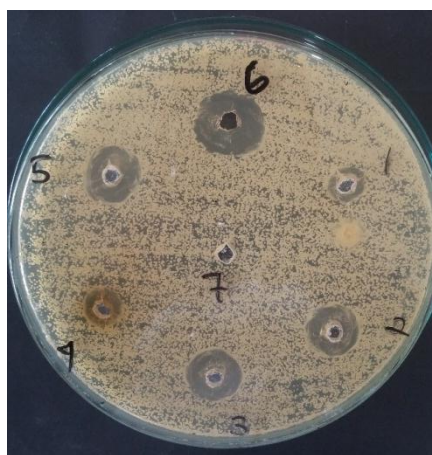
Suspensi jamur uji yang digunakan dibandingkan kekeruhan dengan standart Mc. Farland 0,5. Metode difusi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode sumuran. Larutan uji disterilkan, kemudian diambil sebanyak 50 μ l dan dimasukkan ke dalam sumuran menggunakan mikro pipet. Sumuran dibuat pada media SGA yang telah diinokulasikan jamur uji, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37⁰C. hasil yang diperoleh diamati zona bening di sekitar lubang sumuran yang merupakan daya hambat yang terbentuk dalam satuan milimeter (mm). Hasil pengujian aktivitas antijamur dapat dilihat pada tabel 21.



Gambar 16. Foto pemasukan sediaan dalam lubang sumuran

Pengujian aktivitas antijamur obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak lengkuas dan obat kumur ekstrak tunggal menunjukkan daya hambat pada pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona bening yang mengelilingi daerah lubang sumuran.

Berdasarkan tabel 21 menunjukkan bahwa formula obat kumur kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:2 (F3) memiliki daya hambat yang lebih efektif dibandingkan dengan formula tunggal masing-masing ekstrak dan formula kombinasi ekstrak dengan perbandingan yang lain. Hal ini dapat dilihat dari hasil tabel 22 rata-rata diameter zona hambat formula obat kumur kombinasi ekstrak 2:1, 1:1, dan 1:2 berturut-turut adalah 11,33 mm, 15,67 mm, dan 18,33 mm, sedangkan formula ekstrak tunggal daun sirih hijau memiliki rata-rata zona hambatan sebesar 12,43 mm, formula ekstrak tunggal rimpang lengkuas memiliki rimpang lengkuas sebesar 16,33 mm. Kontrol positif (Betadine gargle dengan kandungan providone iodine 1%) memiliki rata-rata zona hambat 20,50 mm dan kontrol negatif (F0) formula tanpa zat aktif tidak memiliki diameter zona hambat.



Gambar 17. Hasil pengujian aktivitas *Candida albicans* ATCC 10231

Hasil uji difusi dianalisis dengan menggunakan program SPSS Analisis statistik yang dilakukan terlebih dahulu adalah melihat adanya suatu perbedaan efektivitas yang bermakna dari masing-masing konsentrasi yang di analisis menggunakan metode *Kolmogorov Smirnov*. Hasil yang diperoleh apabila terdistribusi tidak normal ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan metode uji non

parametrik, sedangkan jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan menggunakan metode ANOVA *one way*.

Hasil uji distribusi data menggunakan *Kolmogorov Smirnov* sebesar 0,334 $> 0,05$ maka H_0 diterima, data dinyatakan terdistribusi normal. Berdasarkan data yang terdistribusi normal, dilanjutkan menganalisis ANOVA *one way*. Uji ini digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap formulasi untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang signifikan. Berdasarkan tabel tukey test menunjukkan (*) pada angka mean difference, artinya hasil diameter zona hambat obat kumur kombinasi ekstrak, obat kumur ekstrak tunggal, dan obat kumur tanpa ekstrak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Tabel hasil homogeneous subsets, menunjukkan perbedaan signifikan pada tiap sampel. Sampel yang berada pada satu kolom menandakan tidak adanya perbedaan signifikan, sementara sampel yang berada pada kolom yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada tiap sampel. Sampel yang berada paling dekat dengan kontrol positif menandakan bahwa sampel tersebut memiliki aktivitas antijamur yang paling efektif diantara sampel yang lain walaupun sampel tersebut aktivitasnya tidak sebanding dengan kontrol positif.

Berdasarkan tabel homogenous subsets, formula 3 berada pada kolom 6 sedangkan kontrol positif betadine gargle berada pada kolom 7, melihat dari hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas dengan perbandingan 1:2 memiliki aktivitas antijamur yang paling efektif walaupun aktifitasnya tidak sebanding kontrol positif yaitu betadine gargle. Analisis ANOVA *one way* dapat dilihat pada lampiran 24.

Formula 3 yaitu formula obat kumur kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas dengan perbandingan 1:2 mempunyai aktivitas antijamur yang paling efektif. Formula 3 ini memiliki kandungan ekstrak rimpang lengkuas lebih besar dibandingkan dengan formula obat kumur kombinasi ekstrak lainnya. Rimpang lengkuas sendiri memang lebih ampuh dibandingkan dengan daun sirih hijau menurut penelitian terdahulu, dan dosis yang dibutuhkan sebagai antijamur lebih kecil sudah mampu menghambat pertumbuhan jamur bila

dibandingkan dengan daun sirih hijau meskipun keduanya dapat digunakan sebagai antijamur. Masing-masing ekstrak baik itu dari daun sirih hijau maupun rimpang lengkuas mengandung senyawa-senyawa seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang saling bekerja sama dalam menghambat pertumbuhan jamur.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antijamur dengan cara mendenaturasi protein dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisiskan dinding sel jamur karena flavonoid akan membentuk kompleks dengan protein membran sel. Pembentukan kompleks menyebabkan rusaknya membran sel karena terjadi perubahan permeabilitas sel dan hilangnya kandungan isi sel di dalam sitoplasma yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Tanin memiliki aktivitas antimikroba dengan berperan dalam mempengaruhi perubahan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan penurunan volume sel, sel-sel berlubang, dan menyusut lalu kehilangan fungsi metabolisme dan akhirnya hancur (Sinambela 2002).

Saponin merupakan senyawa yang menghambat atau membunuh mikroba dengan cara berinteraksi dengan membran sterol. Efek utama saponin terhadap mikroba adalah adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel. Saponin berkontribusi sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* dengan mekanisme menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel *Candida albicans* sehingga permeabilitasnya meningkat. Permeabilitas yang meningkat mengakibatkan cairan intraselular yang lebih pekat tertarik keluar sel sehingga nutrisi, zat-zat metabolisme, enzim, protein dalam sel keluar dan jamur mengalami kematian (Robinson 1996)

13. Hasil pengujian pita kombinasi

Pengujian pita kombinasi ini bertujuan untuk mengetahui efek yang ditimbulkan dari kombinasi kedua ekstrak yang digunakan apakah sinergis, aditif, atau antagonis. Pengujian pita kombinasi dilakukan setelah uji aktivitas karena uji ini tidak digunakan untuk mengukur daya hambat yang terbentuk melainkan melihat sifat interaksi yang ditimbulkan dari kombinasi ekstrak yang digunakan. Metode pita dirasa cocok karena media yang digunakan sama dengan media untuk

pengujian aktivitas sehingga faktor media tidak akan mempengaruhi hasil yang terbentuk.

Sifat interaksi yang terjadi pada metode pita kertas ditentukan dengan melihat secara visual pola yang terjadi pada kombinasi ekstrak uji yang dicelupkan pada kertas pita kemudian diletakkan diatas media agar yang telah dicampurkan dengan suspensi jamur pada cawan petri. Cawan petri yang sudah siap diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.



Gambar 18. Hasil penentuan sifat kombinasi menggunakan metode pita kertas

Hasil penentuan sifat kombinasi menggunakan pita kertas terhadap ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang lengkuas bersifat sinergis. Kombinasi sinergis dilihat oleh adanya peningkatan atau penghubung antara atau dekat 2 zona hambatan. Hasil tersebut ditunjukkan oleh adanya pelebaran zona bening yang terbentuk pada sudut L pertemuan kedua pita. Pada pertemuan sudut zona bening lebih luas bila dibanding pada masing-masing sisi pita yang saling tidak disatukan.