

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **1. Hasil determinasi tanaman**

Determinasi tanaman daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dilakukan di Laboratorium Jurusan Biologi Universitas Sebelas Maret. Hasil determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) adalah sebagai berikut:

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 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 yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

Determinasi tanaman rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) dilakukan di Laboratorium Jurusan Biologi Universitas Sebelas Maret. Hasil determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963,1968) adalah 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 207. *Zingiberaceae* 1a – 2a – 3b – 4b. 2. *Alpinia* 1a. *Alpinia galanga* (L.) Willd.

Berdasarkan hasil determinasi, tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 2.

## 2. Hasil pengambilan sampel

Bahan pertama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd. yang diambil dari petani Tawangmangu secara acak, rimpang berwarna putih, tidak busuk dan tidak terkena hama. bahan kedua yang digunakan yaitu daun sirih hijau *Piper betle* L. yang dipetik secara acak, bewarna hijau, tidak busuk dan tidak terkena hama yang diambil dari Tawangmangu dan diambil pada bulan Agustus 2019.

## 3. Pembuatan serbuk dan ekstrak rimpang lengkuas putih dan daun sirih

Simplisia yang sudah diambil dari Tawangmangu selanjutnya dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, dan pengeringan dengan oven pada suhu 50°C. Tujuan pengeringan untuk menghilangkan aktivitas enzimatik yang dapat mengurangi zat aktif dan untuk mengurangi kadar air suatu tanaman agar tidak mudah ditumbuhi mikroorganisme. Simplisia yang sudah kering kemudian digiling dengan alat penggiling untuk mendapatkan serbuk, selanjutnya serbuk diayak dengan pengayak P40. Rimpang lengkuas putih dan daun sirih kemudian dihitung presentase bobot kering terhadap bobot basah untuk mengetahui rendemen dari kedua simplisia tersebut.

**Tabel 2. Rendemen dari serbuk rimpang lengkuas putih dan daun sirih**

Nama Serbuk	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
Rimpang lengkuas putih	2500	565	22,6
Daun sirih	4000	650	16,25

Serbuk rimpang lengkuas putih didapatkan hasil rendemen yaitu 22,6%, sedangkan rendemen serbuk daun sirih yaitu 16,25%. perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 5

Serbuk rimpang lengkuas putih dan daun sirih selanjutnya dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%, dengan sesekali digojok dan diendapkan selama 3 hari. Maserat yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kain planel selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring. Hasil maserat kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 3 jam pada suhu 40°C, selanjutnya hasil diuapkan sampai diperoleh ekstrak yang kental.

**Tabel 3. Rendemen dari ekstrak rimpang lengkuas putih dan daun sirih**

<b>Nama Ekstrak</b>	<b>Bobot serbuk (gram)</b>	<b>Bobot ekstrak (gram)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
Rimpang lengkuas putih	500	93	18,6
Daun sirih	500	67	13,4

Ekstrak rimpang lengkuas putih didapatkan hasil rendemen yaitu 18,6%, sedangkan rendemen ekstrak daun sirih yaitu 13,4%, perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 5. Menurut Farmakope Herba Indonesia syarat rendemen ekstrak yaitu kurang dari 16%, namun hasil penelitian rendemen ekstrak rimpang lengkuas yaitu 18% artinya rendemen ekstrak rimpang lengkuas yang dibuat tidak sesuai dengan Farmakope Herba Indonesia, sedangkan hasil rendemen ekstrak daun sirih yaitu 13% artinya rendemen ekstrak yang dibuat sesuai dengan Farmakope Herba Indonesia.

#### **4. Penetapan kadar air rimpang lengkuas putih dan daun sirih**

Rimpang lengkuas putih dan daun sirih dilakukan penetapan kadar air menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Uji penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui presentase kadar air yang terkandung dalam kedua simplisia tersebut. Syarat presentase kadar air yang baik yaitu kurang dari 10%. Tingginya kadar air dapat menyebabkan tempat pertumbuhan mikroorganisme, sehingga dapat merusak dan menurunkan mutu serbuk. Hasil penetapan uji kadar air dapat dilihat pada tabel 3. Perhitungan uji penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 7

**Tabel 4. Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak rimpang lengkuas putih dan daun sirih**

<b>Bahan</b>	<b>Replikasi</b>	<b>Volume air (ml)</b>	<b>Kadar air (%)</b>	<b>Rata rata ± SD (%)</b>
Serbuk rimpang lengkuas putih	1	1,0	5	6 ± 1
	2	1,2	6	
	3	1,4	7	
Serbuk daun sirih	1	0,9	4,5	4,8 ± 0,29
	2	1,0	5	
	3	1,0	5	
Ekstrak rimpang lengkuas putih	1	1,0	5	5,3 ± 0,58
	2	1,2	6	
	3	1,0	5	
Ekstrak daun sirih	1	1,4	7	6,5 ± 1,32
	2	1,0	5	
	3	1,5	7,5	

Hasil rata-rata serbuk rimpang lengkuas putih adalah 6% sedangkan untuk kadar air serbuk daun sirih yaitu 4,8%. Kadar air ekstrak rimpang lengkuas putih

didapatkan hasil kadar air yaitu 5,3% sedangkan kadar air daun sirih yaitu 6,5%. Menurut Farmakope Herba Indonesia bahwa syarat kadar air untuk rimpang lengkuas putih dan daun sirih yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes 2008). Hasil penelitian dari pengujian kadar air yang didapatkan bahwa rimpang lengkuas putih dan daun sirih masih masuk ke dalam rentang kadar air yang sesuai dengan Farmakope Herba Indonesia.

### 5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak

Identifikasi kandungan senyawa kimia dari serbuk dan ekstrak rimpang lengkuas putih dan daun sirih dilakukan untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan benar mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan tanin.

**Tabel 5. A. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak rimpang lengkuas putih dan daun sirih**

Senyawa	Hasil pengamatan				
	Serbuk rimpang lengkuas putih	Serbuk daun sirih	Ekstrak rimpang lengkuas putih	Ekstrak daun sirih	Pustaka
Alkaloid	Terdapat endapan warna coklat (+)	Tidak endapan warna coklat (-)	Terdapat endapan warna coklat (+)	Tidak terdapat endapan warna coklat (-)	Ada keruhan atau endapan warna coklat (Depkes 1989)
Steroid	Warna merah (+)	Warna hijau (+)	Warna hijau (+)	Warna hijau (+)	Terbentuknya warna biru sampai hijau dan warna merah sampai ungu (Depkes 1989).
Flavonoid	Larutan berwarna kuning pada lapisan amil alkohol (+)	Larutan berwarna kuning pada lapisan amil alkohol (+)	Larutan berwarna kuning pada lapisan amil alkohol (+)	Larutan berwarna kuning pada lapisan amil alkohol (+)	Larutan warna merah/jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1989)
Saponin	Terdapat busa mantap setinggi 1 cm (+)	Terdapat busa yang mantap setinggi 1-10 cm + HCL, busa tidak hilang (Depkes 1989)			
Tanin	Larutan berwarna hijau kehitaman (+)	Warna biru kehitaman atau hijau kehitaman (Depkes 1980)			

Berdasarkan tabel 5 terbukti bahwa serbuk rimpang lengkuas putih dan daun sirih mengandung senyawa kimia steroid, flavonoid, saponin dan tanin, gambar terdapat pada lampiran 12 dan 13. Ekstrak dan serbuk rimpang lengkuas putih setelah dilakukan identifikasi golongan mengandung senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin, sedangkan pada ekstrak dan serbuk daun sirih setelah dilakukan identifikasi golongan mengandung senyawa kimia yaitu flavonoid, steroid, saponin dan tanin, gambar terdapat pada lampiran 14 dan 15.

Perbedaan dari kedua simplisia tersebut terletak pada kandungan kimia dan mekanisme kerjanya, dimana pada rimpang lengkuas memiliki kandungan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan jamur, sedangkan pada daun sirih terdapat kandungan tanin yang memiliki aktivitas sebagai antifungi. Flavanoid mempunyai senyawa ganestein yang terdapat pada daun salam berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel. Senyawa ini mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur (Roller 2003).

Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid, karena sifatnya yang permeable terhadap senyawa-senyawa lipofilik dan menyebabkan membrane sel terganggu sehingga sel mengalami lisis dan rapuh. Steroid bekerja dengan cara merusak membran lipid sehingga liposom mengalami lisis (Madduluri *et al* 2013)

Saponin bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecah lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, hal tersebut mengakibatkan bahan atau zat-zat yang diperlukan oleh jamur dapat terganggu, akhirnya sel membengkak dan pecah (Raharjo & Rostiana 2003).

Tanin bersifat mencuitkan dan mengendapkan protein dari larutan dengan membentuk senyawa yang tidak larut. Selain itu, tanin berperan dalam sistem pertahanan tubuh dan mempunyai aktivitas antioksidan serta antiseptik (Sulistyawati & Mulyati 2009).

Rimpang lengkuas putih dan daun sirih dilakukan Kromatografi Lapis Tipis pada lempeng KLT Silika gel GF<sub>254</sub>. Fase gerak yang digunakan yaitu toluene - etil asetat (93 : 7), dengan baku pembanding eugenol. Diamati dibawah sinar UV 254 um dan 366 um. Penampak noda dengan pereaksi anisaldehid asam sulfat. Noda berwarna biru, violet, merah atau coklat pada sinar tampak yang mengandung minyak atsiri (Depkes RI 2010).

**Tabel 6. B. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak rimpang lengkuas putih dan daun sirih menggunakan KLT**

Ekstrak	Kode bercak	Nilai Rf	Warna Bercak				Pustaka
			Visual	UV 254 nm	UV 366 nm	Vanilin Asam sulfat	
Lengkuas	A	0,61	Kuning	Meredam	Meredam biru	Coklat	Coklat keunguan
	B (2)	0,55	Kuning	meredam	Meredam biru	Coklat keunguan	Coklat keunguan
Daun Sirih	A	0,46	Coklat	Meredam	Flouresensi biru muda	Coklat jingga	Coklat jingga
	B (1)	0,49	Coklat	Meredam	Flouresensi biru muda	Coklat jingga	Coklat jingga

Keterangan      A: Minyak atsiri sampel  
                  B: Baku pembanding eugenol (1), curcumin (2)

Berdasarkan hasil dari kromatografi lapis tipis rimpang lengkuas putih dan daun sirih, dimana lempeng silika gel GF<sub>254</sub> diamati dibawah sinar tampak pada UV 254 nm dan UV 366 nm. Hasil penelitian yang didapat menunjukkan bahwa daun sirih positif mengandung minyak atsiri dengan nilai Rf 0,55 dan pembanding eugenol Rf 0,61, sedangkan pada penelitian ini rimpang lengkuas putih belum dapat dipastikan terdapat minyak atsiri, namun menurut literatur Farmakope Herba Indonesia bahwa rimpang lengkuas putih mengandung minyak atsiri. Gambar profil kromatografi lapis tipis rimpang lengkuas putih dan daun sirih dapat dilihat pada lampiran 15.

## 6. Uji mutu fisik sediaan sabun pembersih kewanitaan

Ekstrak etanol tunggal dan kombinasi rimpang lengkuas putih dan daun sirih dapat dibuat sediaan sabun pembersih kewanitaan. Sediaan dibuat dengan 6 formula, dimana formula 1 berisi ekstrak rimpang lengkuas tunggal, formula 2 ekstrak tunggal daun sirih. Formula 3 berisi kombinasi ekstrak lengkuas dan daun

sirih (1,5:1,5), formula 4 berisi kombinasi ekstrak lengkuas dan daun sirih (2:1), formula 5 berisi kombinasi ekstrak lengkuas dan daun sirih (1:2), sedangkan formula 6 tidak berisi ekstrak yang digunakan sebagai kontrol negatif.

**6.1 Pemeriksaan organoleptik.** Pemeriksaan organoleptik dilakukan dengan mendeskripsikan warna, bentuk, bau dari sediaan sabun pembersih kewanitaan. Sediaan yang dihasilkan seharusnya memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan dengan kekentalan yang cukup agar nyaman dalam penggunaan (Djajadisastra *et al* 2009).

**Tabel 7. Hasil pemeriksaan organoleptik sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak rimpang lengkuas dan daun sirih.**

Formula	Warna	Bentuk	Bau
Formula 1(Lengkuas)	Coklat muda	Cairan	Khas rimpang lengkuas
Formula 2 (Sirih)	Hijau tua kecoklatan	Cairan	Khas daun sirih
Formula 3 (1,5:1,5)	Hijau kecoklatan	Cairan	Tidak berbau
Formula 4 (2:1)	Coklat tua	Cairan	Khas rimpang lengkuas
Formula 5 (1:2)	Hijau kecoklatan	Cairan	Khas daun sirih
Formula 6 (Kontrol)	Putih	Cairan	Tidak berbau

Berdasarkan tabel 7, formula 1 (lengkuas tunggal) memiliki bau khas rimpang, agak kental dan berwarna coklat muda. Formula 2 (sirih tunggal) memiliki bau khas daun, cairan berwarna hijau tua kecoklatan. Formula 3 (kombinasi lengkuas dengan sirih 1,5:1,5) tidak berbau, cairan berwarna hijau kecoklatan. Formula 4 (kombinasi lengkuas dengan sirih 2:1) memiliki bau khas rimpang, cairan berwarna coklat tua. Formula 5 (kombinasi lengkuas dengan sirih 1:2) memiliki khas bau daun, cairan berwarna hijau kecoklatan. Formula 6 (kontrol negatif) tidak berbau, cairan berwarna putih.

Formula 1 sampai 5 pada sediaan sabun pembersih kewanitaan ditambahkan dengan ekstrak sehingga dihasilkan sediaan sabun pembersih kewanitaan yang berwarna coklat dan hijau, hal tersebut karena ekstrak yang ditambahkan pada basis sediaan sabun pembersih kewanitaan memiliki warna coklat dan hijau. Intensitas warna pada sediaan akan bertambah dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang ditambahkan pada basis sediaan. Formula 6 berisi basis sediaan sabun pembersih kewanitaan tanpa penambahan ekstrak

sehingga dihasilkan warna sediaan yang putih. Standar yang ditetapkan SNI uji organoleptik sabun cair, yaitu berbentuk cair, memiliki bau dan warna yang khas. Berdasarkan hasil yang diperoleh, hasil pada penelitian ini sesuai dengan standar yang ditetapkan SNI.



**Gambar 8. Foto sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak etanol rimpang lengkuas putih dan daun sirih.**

**6.2 Pemeriksaan pH.** Pemeriksaan pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang dicelupkan ke dalam sediaan. Alat pH meter dikalibrasi menggunakan larutan dapar pH 7 dan pH 4 (Sudjono et al 2012). Syarat pH sediaan sabun pembersih kewanitaan menurut United States Patent (USP) antara 5,5 sampai 8,5. Nilai pH tersebut tidak akan mengganggu flora normal dalam vagina. Sediaan sabun pembersih kewanitaan penggunannya kontak langsung dengan kulit bagian kewanitaan sehingga jika pHnya tidak sesuai dengan pH pada daerah kewanitaan dapat menimbulkan masalah dan merusak flora normal dalam vagina. Menurut SNI, untuk pH sabun yang diperbolehkan untuk digunakan yaitu antara 8-11.

**Tabel 8. Hasil pemeriksaan pH sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak rimpang lengkuas dan daun sirih.**

Formula	Ph			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	<b>Rata rata ± SD (%)</b>
Formula 1 (Lengkuas)	7,79	7,90	7,92	7,87 ± 0,07
Formula 2 (Sirih)	7,87	7,90	7,93	7,9 ± 0,03
Formula 3(1,5:1,5)	7,89	7,97	7,99	7,95 ± 0,05
Formula 4 (2:1)	7,65	7,67	7,68	7,67 ± 0,02
Formula 5 (1:2)	7,49	7,60	7,60	7,57 ± 0,06
Formula 6 (Kontrol)	7,04	7,06	7,10	7,07 ± 0,03

Berdasarkan tabel 8, pengukuran pH bertujuan untuk mengamati adanya perubahan pH yang mungkin terjadi. Hasil yang diperoleh dari pengujian pH yaitu pada formula 1 sampai 6 merupakan sabun pembersih kewanitaan dengan penambahan ekstrak memiliki nilai pH diatas 7 atau basa, hal tersebut terjadi karena ekstrak mempengaruhi pH sediaan, adanya ekstrak juga dapat meningkatkan kebasaan dalam sediaaan.

Hasil pengujian pH pada formula 6 rata-rata dari 3 replikasi yaitu 7,07 hasil tersebut berbeda dengan formula 1 sampai 5, hal tersebut disebabkan karena pada formula 6 hanya berisi basis sediaan sabun pembersih kewanitaan tanpa penambahan ekstrak. Hasil yang didapat masih memenuhi syarat pH sediaan sabun pembersih kewanitaan karena menurut United States Patent (USP) antara 5,5 sampai 8,5. Nilai pH tersebut tidak akan mengganggu flora normal dalam vagina.

Lactobacilli umumnya merupakan mikrobiota vagina yang sehat karena mereka menghasilkan lingkungan asam (pH 4,0 - 4,5) dan menghasilkan antimikroba, yang membatasi pertumbuhan sebagian besar patogen (Hickey *et al* 2012). Sediaan sabun pembersih kewanitaan yang memiliki pH basa dikhawatirkan dapat merusak Lactobacilli yang merupakan mikrobiota vagina yang sehat, sehingga agar pH sediaan sesuai dengan lingkungan asam maka perlu ditambahkan buffer untuk menstabilkan pH, sehingga ketika digunakan pada vagina tidak merusak flora nrmal dalam vagina.



**Gambar 9. Foto hasil uji pH sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak etanol rimpang lengkuas putih dan daun sirih.**

**6.3 Pemeriksaan viskositas.** Pemeriksaan viskositas merupakan faktor penting dalam sediaan agar sediaan mudah digunakan. Viskositas berfungsi untuk meningkatkan stabilitas sediaan yang akan di formulasikan (Allen 2002).

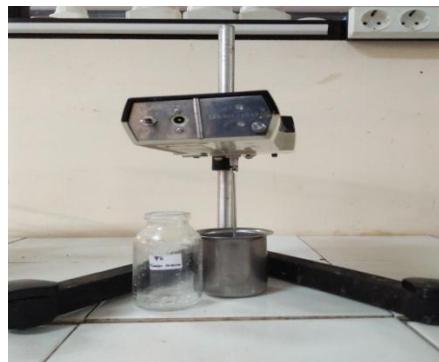
**Tabel 9. Hasil pemeriksaan viskositas sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak rimpang lengkuas dan daun sirih.**

Formula	Viskositas (dpas)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata rata $\pm$ SD (%)
Formula 1 (Lengkuas)	0,3	0,4	0,4	0,4 $\pm$ 0,06
Formula 2 (Sirih)	0,4	0,4	0,3	0,4 $\pm$ 0,06
Formula 3 (1,5:1,5)	0,3	0,4	0,4	0,4 $\pm$ 0,06
Formula 4 (2:1)	0,3	0,4	0,4	0,4 $\pm$ 0,06
Formula 5 (1:2)	0,3	0,4	0,4	0,4 $\pm$ 0,06
Formula 6 (Kontrol)	0,4	0,3	0,3	0,3 $\pm$ 0,06

**Keterangan :** Formula 3 (laos : sirih 1,5:1,5)      Formula 4 (laos:sirih 2:1)      Formula 5 (laos:sirih 1:2)

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui besarnya suatu viskositas dari sediaan, dimana nilai viskositas tersebut menyatakan besarnya tahanan suatu cairan untuk mengalir. Makin tinggi nilai viskositas maka makin besar daya tahan untuk mengalir. Pemeriksaan viskositas bertujuan untuk mengetahui konsistensi sediaan yang nantinya akan berpengaruh terhadap pengaplikasian sediaan, seperti mudah dalam penggunaan dan mudah dikeluarkan dari wadahnya.

Pengujian viskositas pada penelitian ini menggunakan viskometer *Cup and Bob* dengan menggunakan rotor 3. Hasil yang diperoleh pada rata-rata formula 1 sampai 5 yaitu 0,4 dpas, rata-rata formula 6 yaitu 0,3 dpas Berdasarkan tabel 9 hasil pemeriksaan viskositas pada formula 1 dan formula 6. Hasil rata-rata yang didapatkan pada formula 6 lebih kecil dari pada formula 1 sampai 5, hal tersebut karena pada formula 6 sediaan hanya berisi basis tanpa ada penambahan dari ekstrak. Berdasarkan Kolmogrov uji pH bahwa formula 1 sampai 6 diperoleh signifikansi  $0,171 > 0,05$  sehingga data terdistribusi normal dan dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh  $0,002 < 0,05$  sehingga ada perbedaan pada ke enam formula tersebut



**Gambar 10. Foto hasil uji viskositas sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak etanol rimpang lengkuas putih dan daun sirih.**

**6.4 Pemeriksaan tinggi busa.** Busa merupakan salah satu parameter yang paling penting dalam menentukan mutu produk-produk kosmetik, terutama sabun. Tujuan pengujian busa adalah untuk melihat daya busa dari sabun cair. Karakteristik busa sabun dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu adanya bahan surfaktan, penstabil busa dan bahan-bahan penyusun sabun cair lainnya (Amin, 2006).

**Tabel 10. Hasil pemeriksaan tinggi busa sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak rimpang lengkuas dan daun sirih.**

Formula	Tinggi Busa (%)			Rata rata ± SD (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Formula 1 (Lengkuas)	80	80	82	81 ± 1,15
Formula 2 (Sirih)	85	81	80	82 ± 2,65
Formula 3 (1,5:1,5)	83	97	83	88 ± 8,08
Formula 4 (2:1)	94	91	94	93 ± 1,73
Formula 5 (1:2)	91	86	86	88 ± 2,89
Formula 6 (Kontrol)	80	70	80	77 ± 5,77

Hasil yang diperoleh dari pengujian tinggi busa pada formula 6 diperoleh rata-rata stabilitas busa yaitu 77. Formula 6 memiliki rata-rata stabilitas busa yang lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata formula 1 sampai 5, hal tersebut terjadi karena pada formula 6 hanya berisi basis sediaan sabun sedangkan pada formula 1 sampai 5 sediaan sabun ditambahkan dengan ekstrak. Kandungan kimia dari rimpang lengkuas putih dan daun sirih seperti saponin dapat mempengaruhi tinggi busa yang terbentuk. Saponin berfungsi sebagai pembersih dan memiliki sifat-sifat antiseptik. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika

direaksikan dengan air dan dikocok, maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin akan menghasilkan busa apabila bercampur dengan air (Saeed 2003).

Berdasarkan tabel 10 hasil pemeriksaan tinggi busa pada formula 1 dan formula 6. Berdasarkan Kolmogrov uji tinggi busa bahwa formula 1 sampai 6 diperoleh signifikansi  $0,512 > 0,05$  sehingga data terdistribusi normal dan dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh  $0,005 < 0,05$  sehingga ada perbedaan pada ke enam formula tersebut.



**Gambar 11. Foto hasil uji tinggi busa sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak etanol rimpang lengkuas putih dan daun sirih.**

**6.5 Pemeriksaan stabilitas.** Pengujian stabilitas dilakukan untuk mengetahui kestabilan sediaan sabun pembersih kewanitaan setelah pengocokan dengan kecepatan tinggi. Pengujian stabilitas menggunakan metode uji mekanik dengan alat sentrifugator. Uji sentrifugasi merupakan salah satu indikator kestabilan fisik. Hasil pengujian stabilitas ditandai dengan terbentuknya endapan atau pemisahan fase yang disebut dengan creaming, hal tersebut terjadi karena dipengaruhi oleh gaya gravitasi, partikel yang memiliki kerapatan lebih rendah akan naik ke permukaan dan kerapatan yang lebih tinggi akan membentuk lapisan pada bagian bawah sediaan. Creaming merupakan salah satu bentuk ketidakstabilan emulsi yang bersifat reversible, yaitu sediaan dapat terdispersi kembali dengan penggojukan ringan dan dapat membentuk suatu campuran yang homogen (Ansel, 1989).

**Tabel 11. Hasil pemeriksaan stabilitas sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak rimpang lengkuas dan daun sirih.**

Formula	Stabilitas		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
Formula 1 (Laos)	TE	TE	TE
Formula 2 (Sirih)	TTE	TE	TE
Formula 3 (1,5:1,5)	TTE	TE	TE
Formula 4 (2:1)	TE	TE	TE
Formula 5 (1:2)	TE	TTE	TTE
Formula 6 (Kontrol)	TTE	TTE	TTE

**Keterangan : TTE (Tidak Terdapat Endapan) dan TE (Terdapat Endapan)**

Berdasarkan tabel 11 hasil pemeriksaan stabilitas pada formula 1 dan formula 6. Hasil pengujian stabilitas pada replikasi 2 dan 3 diperoleh hasil yang sama yaitu pada formula 1,2,3, dan 4 terbentuk endapan, sedangkan pada formula 5 dan 6 tidak terbentuk endapan. Hal ini terjadi karena formula 6 tidak berisi ekstrak. Uji sentrifugasi dipengaruhi oleh gaya sentrifugal yang diberikan selama 30 menit pada kecepatan 3000 rpm. Hasil pengujian stabilitas menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit didapatkan formula yang stabil yaitu formula 6 sedangkan pada formula 4 hasil yang didapatkan tidak stabil karena saat dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit terbentuk endapan akibat adanya gaya sentrifugal.



**Gambar 12. Foto hasil uji stabilitas sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak etanol rimpang lengkuas putih dan daun sirih.**

## 7. Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans*

Mengambil beberapa ose biakan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan SGC. Campuran dikocok sampai homogen dan didapatkan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 yang

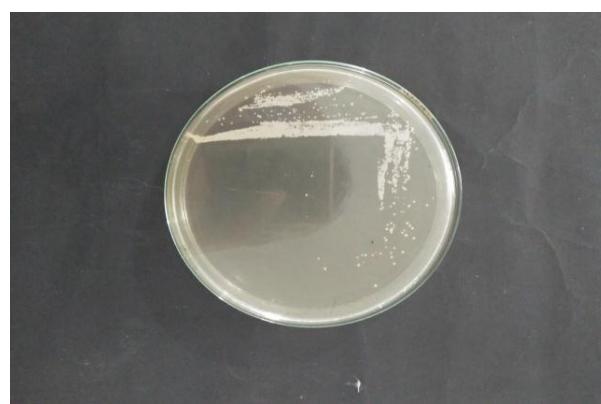
dianggap setara dengan  $1,5 \times 10^8$  juta per ml. Suspensi yang didapat, diencerkan dengan perbandingan 1 : 1000 pada semua tabung dengan menggunakan larutan sabouraud glukosa cair (SGC). Hasil pengenceran digunakan untuk pengujian antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Hasil pembuatan suspense jamur *Candida albicans* dapat dilihat pada gambar 4.



**Gambar 13. Foto suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10231**

#### **8. Hasil identifikasi jamur uji dengan medium selektif SGA**

Identifikasi jamur *Candida albicans* secara makroskopis dilakukan dengan cara menginokulasi dari biakan murni pada media Sabouroud Glucosa Agar (SGA). Di medium agar dalam waktu 24 jam di suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , spesies *Candida albicans* menghasilkan koloni lunak bewarna krem dengan bau seperti ragi (Jawetz *et al.* 2008). Hasil identifikasi secara makroskopis dapat dilihat pada gambar 4.



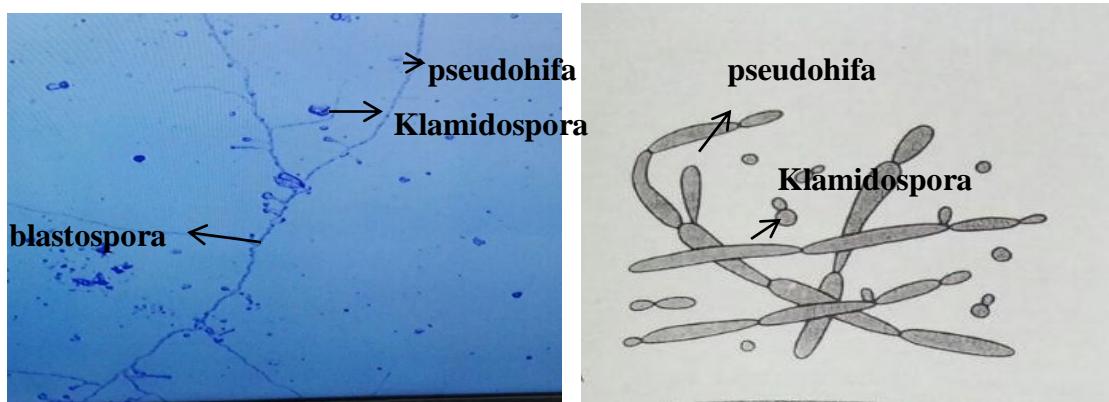
**Gambar 14. Hasil isolasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 pada media SGA.**

Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis adalah terbentuk koloni-koloni lunak bewarna krem yang mempunyai bau seperti ragi dengan permukaan berbentuk bulat sedikit cembung.

#### 9. Hasil identifikasi jamur uji dengan serum

Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan menggunakan serum. Biakan murni *Candida albicans* ATCC 10231 diletakkan dalam serum selama 3 jam pada suhu 37°C, kemudian diamati dibawah mikroskop dengan cara diambil sediaan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 kurang lebih 2 ose, sediaan tersebut diletakkan pada object glass yang sudah ditetesi *Lactofenol Cotton Blue* kemudian ditutup dengan menggunakan cover glass.

*Candida albicans* ATCC 10231 tampak seperti ragi lonjong, bertunas, yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa). Biakan muda membentuk tabung-tabung bening. Pertumbuhan permukaan terdiri atas sel-sel bertunas yang lonjong. Pertumbuhan yang tertutup terdiri atas pseudomiselium yaitu berupa pseudohifa yang membentuk blastospora pada nodus-nodus dan kadang-kadang klamidospora pada ujung-ujungnya. Blastospora merupakan tunas atau kuncup yang tumbuh pada sel khamir. Hasil pengamatan mikroskop dapat dilihat pada gambar 4.



Hasil penelitian identifikasi

Gambar berdasarkan pustaka  
(Jawetz et al., 2008)

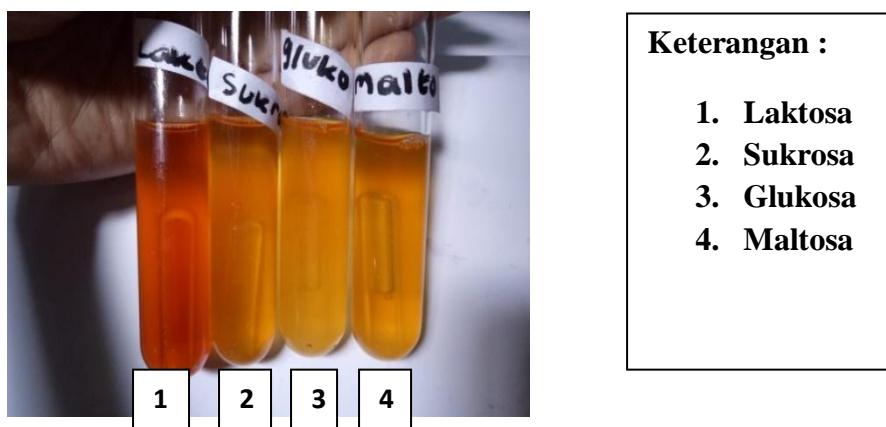
**Gambar 15. Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskop**

Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis adalah terlihatnya blastospora yang melekat pada jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dan tampak sel ragi dengan membentuk lonjong dan tabung bening. Berdasarkan hasil pengamatan kemudian dibandingkan dengan

yang ada di pustaka (Jawetz et al, 2008) menunjukkan bahwa jamur yang diamati adalah benar *Candida albicans* ATCC 10231.

#### 10. Hasil identifikasi biokimia jamur *candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi biokimia dilakukan dengan mengambil 1 ose dari biakan *Candida albicans* kemudian diinokulasi dalam media Glukosa, Sukrosa, Maltosa, dan Laktosa untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat dari jamur *Candida albicans* yang telah ditambahkan *Phenol Red* 1% sebagai indikator. Masing-masing tabung tersebut dimasukkan tabung durham yang diletakkan secara terbalik untuk mengetahui pembentukan gas kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil identifikasi biokimia *Candida albicans* dapat dilihat pada gambar 5.



**Gambar 16.** Identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231 dengan media Laktosa, Sukrosa, Glukosa, Maltosa.

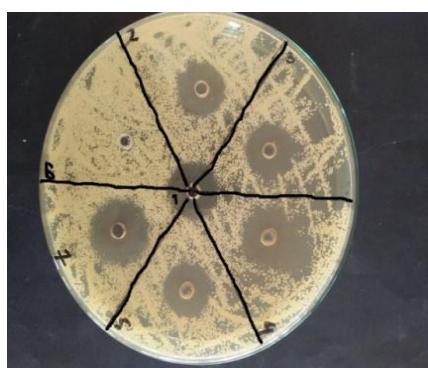
Identifikasi secara biokimia *Candida albicans* menunjukkan adanya perubahan wana merah menjadi kuning pada reaksi fermentasi karena adanya indikator phenol red. Gas yang terbentuk dalam tabung durham menunjukkan adanya reaksi fermentasi, jamur ini menunjukkan reaksi fermentasi dan gas pada glukosa dan maltosa, terjadi proses fermentasi tanpa menghasilkan gas pada sukrosa dan tidak terjadi proses fermentasi pada medium laktosa. Berdasarkan pada gambar gas yang terbentuk tidak begitu jelas dikarenakan gas berada diatas tabung durham dan ukuran gas tidak terlalu besar. *Candida albicans* mampu melakukan metabolisme sel pada kondisi aerob dan anaerob.

Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Biswas & Chaffin, 2005). Proses peragian (fermentasi) pada *Candida albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  dalam suasana aerob sedangkan pada suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan  $\text{CO}_2$  (Waluyo, 2004). Berdasarkan dari hasil pengujian identifikasi yang telah dilakukan kemudian dibandingkan dengan pustaka menunjukkan bahwa benar jamur yang diamati adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

### 11. Hasil uji difusi jamur *candida albicans* ATCC 10231

Sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak etanol lengkuas putih dan daun sirih yang diperoleh dilakukan pengujian daya antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan menggunakan metode difusi sumuran. Sediaan sabun pembersih kewanitaan dibuat sebanyak 7 formula dengan kombinasi yang berbeda-beda. Formula 1 berisi ekstrak etanol lengkuas tunggal. Formula 2 berisi ekstrak etanol sirih tunggal. Formula 3 berisi kombinasi ekstrak etanol lengkuas dan sirih dengan perbandingan (1,5:1,5). Formula 4 berisi kombinasi ekstrak etanol lengkuas dan sirih dengan perbandingan (2:1). Formula 5 berisi kombinasi ekstrak lengkuas dan sirih dengan perbandingan (1:2). Formula 6 berisi sediaan sabun pembersih kewanitaan tanpa ekstrak yang digunakan sebagai kontrol negatif. Formula 7 digunakan sebagai pembanding yang berisi povidone iodin 10%.

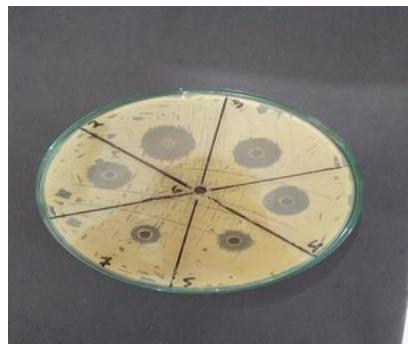
Uji aktivitas replikasi 1



Uji aktivitas replikasi 2



Uji aktivitas replikasi 3



**Gambar 17. Hasil replikasi 1,2, dan 3 uji aktivitas sediaan sabun pembersih kewanitaan terhadap *Candida albicans* ATCC 10231**

Metode difusi sumuran dapat menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dari pada metode difusi cakram. Metode difusi sumuran terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang tinggi. Osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen serta konsentrasi esktrak yang dihasilkan lebih tinggi dan lebih kuat untuk menghambat pertumbuhan jamur.

**Tabel 12. Hasil uji aktivitas sediaan sabun pembersih kewanitaan terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231**

Formula A	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Formula 1 (lengkuas)	18	12	16	15,3 ± 3,06
Formula 2 (sirih)	16	18	18	17,3 ± 1,15
Formula 3 (1,5:1,5)	18	20	20	19,3 ± 1,15
Formula 4 (2:1)	20	24	22	22 ± 2
Formula 5 (1:2)	16	18	14	16 ± 2
Formula 6 (kontrol)	0	0	0	0 ± 0
Formula 7 (pembanding)	18	14	12	14,7 ± 3,06

**Keterangan : Formula 3 (laos : sirih 1,5:1,5) Formula 4 (laos:sirih 2:1) Formula 5 (laos:sirih 1:2)**

Berdasarkan tabel 12 hasil pemeriksaan uji aktivitas pada formula 1 dan formula 6. Pada replikasi 1 diperoleh rata-rata SD yaitu 1,5%, sedangkan pada replikasi 2 yaitu 4,2% dan pada replikasi 3 yaitu 3,7%. Berdasarkan Kolmogrov uji pH bahwa formula 1 sampai 6 diperoleh signifikansi  $0,230 > 0,05$  sehingga data terdistribusi normal dan dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh  $0,000 < 0,05$  sehingga ada perbedaan pada ke enam formula tersebut.

Formula 1 sediaan sabun pembersih kewanitaan berisi ekstrak etanol lengkuas tunggal, pada replikasi 1, 2 dan 3 diperoleh diameter zona hambat 18; 12; 16 mm yang memiliki respon sedang (16-20 mm) dalam menghambat pertumbuhan jamur uji. Formula 2 sediaan sabun pembersih kewanitaan berisi ekstrak sirih tunggal, pada replikasi 1, 2 dan 3 diperoleh diameter zona hambat 16; 18; 18 mm yang memiliki respon sedang (16-20 mm) dalam menghambat pertumbuhan jamur uji. Formula 3 sediaan sabun pembersih kewanitaan berisi kombinasi ekstrak lengkuas dengan sirih (1,5:1,5) pada replikasi 1, 2 dan 3 diperoleh diameter zona hambat 18; 20; 20 mm yang memiliki respon sedang (16-20 mm) dalam menghambat pertumbuhan jamur uji.

Formula 4 sediaan sabun pembersih kewanitaan berisi kombinasi ekstrak lengkuas dengan sirih (2:1) pada replikasi 1, 2 dan 3 diperoleh diameter zona hambat 20; 24; dan 22 mm yang memiliki respon kuat (> 20 mm) dalam menghambat pertumbuhan jamur uji. Formula 5 sediaan sabun pembersih kewanitaan berisi kombinasi ekstrak lengkuas dengan sirih (1:2) pada replikasi 1, 2 dan 3 diperoleh diameter zona hambat 16; 18; 14 mm yang memiliki respon sedang (16-20 mm) dalam menghambat pertumbuhan jamur uji.

Formula 6 sediaan sabun pembersih kewanitaan tidak terdapat ekstrak lengkuas dan etanol sehingga pada formula 6 tidak terdapat zona bening karena formula 6 digunakan sebagai kontrol. Formula 7 digunakan sebagai pembanding yaitu sabun pembersih kewanitaan yang berisi povidone iodin 10%, pada replikasi 1, 2 dan 3 diperoleh diameter zona bening 18; 14 dan 12 mm yang memiliki respon sedang (16-20 mm) terhadap menghambat pertumbuhan jamur uji.

Sediaan tunggal dengan kombinasi yang memberikan respon sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan jamur uji yaitu bila sediaan tersebut dikombinasi. Menurut Salni *et al.*, 2013 dan Nanayakkara *et al.*, 2014 bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) senyawa aktif rimpang lengkuas putih adalah 0,015% terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, sedangkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun sirih 0,064% - 0,32% terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

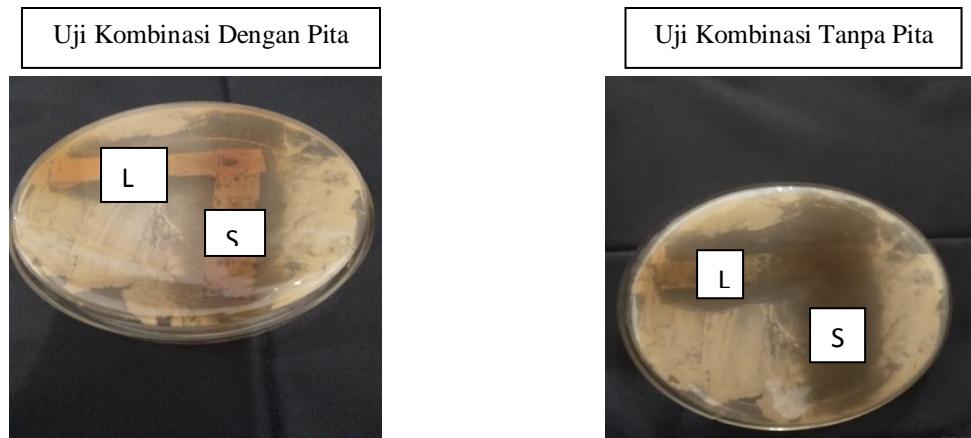
Kombinasi sediaan sabun pembersih kewanitaan dengan menggunakan ekstrak etanol rimpang lengkuas putih dan daun sirih yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* yaitu pada formula 4 dengan perbandingan ekstrak lengkuas dan sirih (2:1). Formula 4 sediaan sabun pembersih kewanitaan berisi kombinasi ekstrak lengkuas dengan sirih (2:1) pada replikasi 1, 2 dan 3 diperoleh diameter zona hambat 20; 24; dan 22 mm yang memiliki respon kuat (> 20 mm) dalam menghambat pertumbuhan jamur uji.

Kandungan senyawa aktif dari rimpang lengkuas putih dan daun sirih juga berpengaruh pada diameter zona hambat yang dibentuk dalam menghambat pertumbuhan jamur uji. Rimpang lengkuas putih salah satunya memiliki kandungan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan cara mengganggu permeabilitas sel jamur. Daun sirih memiliki kandungan senyawa tanin dan fenolik yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan cara mendenaturasi sel jamur.

## **12. Penentuan sifat kombinasi rimpang lengkuas putih dan daun sirih dengan metode pita kertas**

Metode pita kertas digunakan untuk melihat sifat interaksi dengan melihat secara visual pola yang terjadi pada kombinasi ekstrak rimpang lengkuas putih dan daun sirih yang dicelupkan pada pita kertas kemudian diletakkan diatas media agar yang telah dicampurkan dengan suspensi jamur pada cawan petri. Cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Pola yang menunjukkan kombinasi aditif dilihat dari 2 zona hambatan masing-masing obat yang berdiri sendiri. Kombinasi sinergis dilihat oleh adanya peningkatan atau penghubung antara atau dekat 2 zona hambatan. Kombinasi antagonis dapat dilihat dari potongan atau pengecilan kedua zona hambatan.

Hasil pengujian pita kombinasi sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak rimpang lengkuas dan daun sirih adalah sinergis, karena zona hambat yang terbentuk pada masing-masing pita ekstrak rimpang lengkuas dan daun sirih ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang berdekatan antara 2 zona hambat tersebut.



Keterangan : L : Pita Lengkuas

S : Pita Daun Sirih

**Gambar 18.** Foto hasil uji pita kombinasi sediaan sabun pembersih kewanitaan ekstrak etanol rimpang lengkuas putih dan daun sirih