

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Penelitian ini menggunakan 1 kg simplisia basah yang dijemur lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C untuk menghilangkan kadar airnya. Setelah itu, dihaluskan dan didapatkan 400 gram serbuk daun jeruk purut. Metode ekstraksi yang dilakukan adalah metode maserasi dengan menggunakan etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena pengerjaan yang cepat, sederhana, dan peralatan yang digunakan relatif murah dan mudah didapatkan (Restasari, 2008). Pemilihan larutan yang digunakan untuk ekstraksi memiliki beberapa kriteria yaitu, stabil secara fisika dan kimia, selektif, tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat, murah dan mudah diperoleh serta diperbolehkan oleh peraturan (Ibtisam, 2008). Penggunaan larutan etanol 96% untuk mendapatkan ekstrak kental karena tidak mengandung banyak kadar air (Munawaroh, 2010). Hasilnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C dan menggunakan *waterbath* pada suhu 70°C untuk menghilangkan pelarut agar mendapatkan ekstrak kental. Dari 1 kg simplisia basah diperoleh ekstrak sebanyak 24,42 gram dengan rendemen 6,1%.

B. Identifikasi Senyawa Ekstrak

Antibakteri dari senyawa-senyawa yang ada pada daun jeruk purut diuji menggunakan uji fitokimia untuk mengetahui apakah senyawa-senyawa tersebut

ada dalam daun jeruk purut yang akan diteliti. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa keempat senyawa tersebut ada pada ekstrak. Pemeriksaan senyawa alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak yang telah diencerkan direaksikan dengan kloroform dan pereaksi Dragendorff menghasilkan warna merah orange yang berarti senyawa alkaloid ada dalam ekstrak (Kusmita dkk., 2011). Warna merah orange yang dihasilkan karena ada pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dalam reagen dan senyawa alkaloid. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa alkaloid karena pereaksi ini mengandung Bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sitrait, 2007).

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak yang telah diencerkan direaksikan dengan logam Mg dan HCl pekat menghasilkan larutan berwarna merah orange hingga orange yang diartikan bawah flavonoid ada didalam ekstrak daun jeruk purut. Hasil yang didapatkan larutan berubah menjadi warna orange. Hal ini dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid ada dalam ekstrak (Kusmita dkk., 2011). Pada uji senyawa flavonoid dilakukan penambahan HCl pekat seperti pada metode Wilstater bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl menghasilkan warna merah atau orange pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Harborne, 1987)

Pemeriksaan senyawa tanin dilakukan dengan cara ekstrak yang diencerkan direaksikan dengan besi (III) klorida 2% menghasilkan larutan berwarna hitam kehijauan yang berarti senyawa tanin ada dalam ekstrak (Kusmita dkk., 2011). Uji senyawa dengan menggunakan besi (III) klorida bermaksud untuk menentukan apakah ekstrak daun jeruk purut mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol dilihat dari larutan yang berubah warna menjadi hitam kehijauan atau biru kehitaman. Dalam penelitian ini, larutan yang direaksikan dengan besi (III) klorida menghasilkan warna hitam kehijauan disebabkan gugus fenol yang ada didalam ekstrak berikatan kompleks dengan ion Fe^{3+} (Harborne, 1987).

Ekstrak daun jeruk purut juga dilakukan pemeriksaan senyawa minyak atsiri dengan menguapkan ekstrak yang telah diencerkan terlebih dahulu. Ekstrak dikatakan mengandung minyak atsiri apabila tercium bau khas minyak atsiri daun jeruk purut dari residu tersebut. Hasil yang didapatkan menunjukkan adanya kandungan minyak atsiri pada ekstrak (Kusmita dkk., 2011). Minyak atsiri memiliki ciri-ciri yaitu mudah larut dalam pelarut organik, mudah menguap, dan juga memiliki bau khas yang tergantung pada jenis tanamannya (Pramono, 1985).

C. Formulasi Pasta Gigi

Ekstrak kental yang telah didapatkan diformulasi menjadi pasta gigi ekstrak daun jeruk purut yang mengacu pada formula Volk & Ash (1977) yang telah dioptimasi oleh Sari (2014) seperti pada Tabel 2. Formula pada penelitian ini sudah dipertimbangkan dengan perhitungan yang sesuai agar konsistensi dari

sediaan juga baik walaupun ditambah dengan ekstrak. Dari formulasi yang belum dioptimasi maupun yang telah dioptimasi didapatkan pasta yang encer, maka dari itu untuk mendapatkan hasil yang baik dilakukan *trial* dan *error* komposisi dari bahan pasta gigi. Hal ini tidak hanya dilakukan pada formulasi pasta gigi dasar melainkan juga dilakukan pada formulasi pasta gigi yang telah ditambahkan dengan ekstrak. Hasilnya adalah peneliti memutuskan untuk menggunakan formulasi yang telah dioptimasi oleh Sari (2014) karena apabila pasta gigi ditambahkan dengan ekstrak maka hasil akhir dari pasta gigi tidak encer seperti pasta gigi tanpa ekstrak. Penambahan ekstrak pada formula pasta gigi disesuaikan dengan banyaknya gliserin yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak dalam pasta gigi maka akan semakin sedikit gliserin yang digunakan. Hal ini dilakukan karena mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sari (2014) yang meneliti bahwa konsentrasi gliserin yang dipakai akan mempengaruhi hasil akhir dari pasta gigi.

D. Uji Kualitas Pasta Gigi

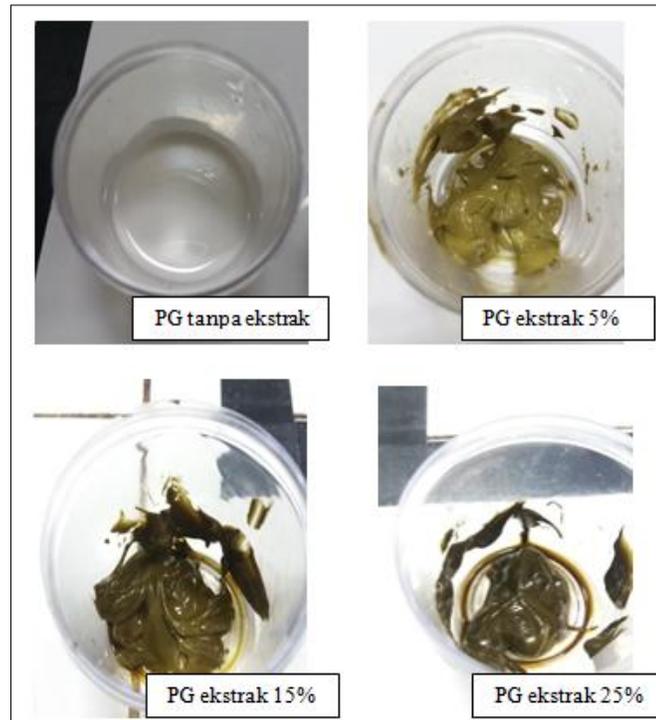
Pasta gigi yang telah dibuat diuji kualitasnya. Hal ini bertujuan untuk mengetahui apakah pasta gigi sudah sesuai dengan syarat yang ada atau tidak. Uji kualitas yang dilakukan adalah uji organoleptik, uji homogenitas dan uji pH. Uji organoleptik dan uji homogenitas dilakukan dengan mengamati sediaan selama 2 minggu dan didapatkan hasilnya pada Tabel 4.

Table 4. Hasil pengamatan uji kualitas pasta gigi

Parameter	Formula	Hasil Pengamatan				Ket.
		Hari 2	Hari 3	Minggu 1	Minggu 2	
Warna	PG tanpa ekstrak	Putih	Putih	Putih	Putih	Sesuai
	PG ekstrak 5%	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda	Sesuai
	PG ekstrak 15%	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau	Sesuai
	PG ekstrak 25%	Hijau pekat	Hijau pekat	Hijau pekat	Hijau pekat	Sesuai
Aroma	PG tanpa ekstrak	Mint	Mint	Mint	Mint	Sesuai
	PG ekstrak 5%	Mint	Mint	Mint	Mint	Sesuai
	PG ekstrak 15%	Mint	Mint	Mint	Mint	Sesuai
	PG ekstrak 25%	Mint	Mint	Mint	Mint	Sesuai
Tekstur	PG tanpa ekstrak	Lembut	Lembut	Lembut	Lembut	Sesuai
	PG ekstrak 5%	Lembut	Lembut	Lembut	Lembut	Sesuai
	PG ekstrak 15%	Lembut	Lembut	Lembut	Lembut	Sesuai
	PG ekstrak 25%	Lembut	Lembut	Lembut	Lembut	Sesuai
Homogenitas	PG tanpa ekstrak	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Sesuai
	PG ekstrak 5%	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Sesuai
	PG ekstrak 15%	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Sesuai
	PG ekstrak 25%	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Sesuai

Pada uji organoleptik, hal yang diamati adalah aroma, warna dan tekstur dari sediaan dalam 2 minggu penyimpanan pada suhu kamar (Poucher, 2000). Hasilnya selama 2 minggu penyimpanan tidak terjadi perubahan pada aroma, warna dan tekstur yang dapat diartikan bahwa pasta gigi tersebut baik dan stabil

selama penyimpanan 2 minggu. Tampilan akhir pasta gigi dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Tampilan pasta gigi

Pada uji homogenitas yang diamati yaitu ada atau tidak butiran-butiran kasar dan pemisahan fase selama 2 minggu penyimpanan pada suhu kamar (Poucher, 2000). Tabel 3 menunjukkan hasil pasta gigi ekstrak daun jeruk purut tetap homogen dan stabil bahkan setelah penyimpanan selama 2 minggu. Uji organoleptik dan uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah bahan pengikat yang digunakan dalam pasta gigi mampu mencegah terjadinya pemisahan fase sehingga sediaan tetap homogen dan stabil (Elfiyani dkk., 2015)

Pasta gigi ekstrak daun jeruk purut juga diuji pHnya sesuai dengan persyaratan mutu pasta gigi pada SNI 12-3524-1995, yaitu 4,5-10,5. Hal ini dilakukan agar pada saat digunakan, pasta gigi tidak mengiritasi mukosa mulut (Elfiyani dkk., 2015). Nilai pH diukur menggunakan kertas pH yang dicelupkan pada pasta gigi. Hasil yang didapatkan dari pengukuran pH sudah sesuai dengan persyaratan yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Table 5. Nilai pH pasta gigi

Formula	pH	Keterangan
Pasta gigi ekstrak 5%	6	Sesuai
Pasta gigi ekstrak 15%	6	Sesuai
Pasta gigi ekstrak 25%	6	Sesuai
Pasta gigi tanpa ekstrak	7	Sesuai

E. Uji Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Daun Jeruk Purut

Pada penelitian ini pasta gigi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) yang telah diuji kualitasnya selanjutnya diuji efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Prosedur yang dilakukan diawali dengan mensterilisasi semua alat yang digunakan. Tujuannya agar uji antibakteri yang dilakukan tidak terkontaminasi oleh jamur dan bakteri lain atau dapat dikatakan prosedur yang dilakukan adalah secara aseptif. Selanjutnya dilakukan pembuatan stok bakteri yang bertujuan untuk meremajakan dan membiakkan bakteri. Di atas TSA yang telah dioleskan bakteri, ditanamkan cakram yang telah direndam dalam pasta gigi

ekstrak 5%, 15%, 25%, pasta gigi tanpa ekstrak dan pasta gigi anti plak serta diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yang dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil uji efektivitas antibakteri

Semua prosedur yang dilakukan harus sesuai dengan prosedur aseptik yang seluruh prosedurnya dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*. Diameter zona hambatnya diukur menggunakan penggaris. Hasil yang didapatkan diamati berdasarkan Tabel 6.

Table 6. Rata-rata diameter zona hambat

Perlakuan	N	X (mm) ± SD
Pasta gigi ekstrak 5%	3	2,06 ± 0,32
Pasta gigi ekstrak 15%	3	2,96 ± 0,15
Pasta gigi ekstrak 25%	3	3,83 ± 0,30
Kontrol negative	3	0 ± 0
Kontrol positif	3	12,50 ± 0,5

Berdasarkan data di atas, terlihat rata-rata diameter zona hambat yang paling besar adalah kontrol (+) dengan diameter 12,50 mm. Hasil penelitian menunjukkan semakin besar ekstrak daun jeruk purut dalam pasta gigi maka semakin besar juga daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, yaitu pada konsentrasi 5% berdiameter 2,06 mm, konsentrasi 15% berdiameter 2,96

mm dan konsentrasi 25% berdiameter 3,83 mm. Dari hasil tersebut menunjukkan diameter yang semakin besar.

Untuk mengetahui ada atau tidak perbedaan secara signifikan antar kelompok, maka data diuji dulu normalitasnya dan didapatkan bahwa data tersebut terdistribusi normal. Maka data tersebut diuji menggunakan metode *One-way* ANOVA. Hasil menunjukkan P value $< 0,05$ yaitu 0,000 yang berarti H1 diterima dan H0 ditolak, dimana H1 adalah terjadi perbedaan yang bermakna dan H0 adalah tidak terjadi perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan terjadi perbedaan yang bermakna pada zona hambat yang signifikan dan ada pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat.

Pada uji dengan metode *One-way* ANOVA hanya mengetahui adanya perbedaan bermakna atau tidak tanpa mengetahui perlakuan mana yang berbeda, maka dilakukanlah uji *Tukey* karena di penelitian ini menggunakan lebih dari 3 perlakuan yang berbeda. Hasil yang didapatkan adalah dari semua perbandingan antar perlakuan menunjukkan P value < 0.05 maka H1 diterima yang berarti data terjadi perbedaan yang bermakna antar setiap perlakuan. Berdasarkan hasil uji *Tukey* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh pasta gigi yang diujikan, yaitu pasta gigi ekstrak 5%, 15%, 25%, pasta gigi tanpa ekstrak dan pasta gigi antiplak.

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa pasta gigi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Semakin tinggi kadar ekstrak dalam pasta gigi maka semakin besar juga daya

hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil pengamatan dilihat dari 3 kali replikasi pengukuran diameter zona hambat. Dari perhitungan diameter zona hambat juga menunjukkan kalau pasta gigi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi terlalu lemah dibandingkan dengan pasta gigi antiplak.

Penelitian ini mengenai efektivitas antibakteri pasta gigi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang dilakukan menggunakan metode difusi. Hasil yang didapatkan menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun jeruk purut pada pasta gigi, maka makin besar daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, yaitu pada pasta gigi ekstrak daun jeruk purut 25%.

Efek antibakteri yang dihasilkan dari ekstrak daun jeruk purut karena ada kandungan alkaloid, flavonoid, tanin dan minyak atsiri. Alkaloid merupakan turunan dari asam amino, yang memiliki rasa pahit dan merupakan metabolit sekunder dari tanaman, hewan dan dapat diekstrak dari sumbernya dengan menggunakan asam (biasanya asam sulfur dan asam hidroklorik) (Maharti, 2007). Mekanisme alkaloid ialah mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk dengan utuh dan menyebabkan kematian bakteri (Noorhamdani dkk., 2014).

Flavonoid bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada

senyawa flavonoid yang menyebabkan dinding sel bakteri rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam sel bakteri (Gunawan, 2009).

Tanin memiliki mekanisme yang mampu menonaktifkan adhesi bakteri atau perlekatan bakteri pada inang, menonaktifkan enzim-enzim esensial, transport protein membran sel dan perampasan mineral yang dibutuhkan oleh bakteri (Bell dkk., 1965; Scalbert, 1991; Min dkk., 2003). Sedangkan minyak atsiri dalam daun jeruk purut yang memiliki efek antibakteri yang membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri (Yuliani dkk., 2011).

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan, daya hambat pasta gigi ekstrak daun jeruk purut dapat dipengaruhi oleh beberapa hal misalnya kualitas daun jeruk purut dan perlakuan daun jeruk purut sebelum dilakukan ekstraksi. Perlakuan terhadap daun jeruk purut sebelum dilakukan ekstraksi berpengaruh terhadap mutu dari minyak atsiri, dimana minyak atrisi memiliki efek sebagai antibakteri (Khasanah dkk., 2015). Hasil rata-rata zona hambat yang didapatkan lebih kecil dibandingkan hasil yang didapatkan oleh penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Miftahendrawati (2014), yaitu 9,3708 mm dan hasil yang didapatkan sebesar 3,83 mm.