

FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus* SEDIAAN OBAT KUMUR DENGAN KOMBINASI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrik D.C.*)

Radho Al Kausar^{1*}, Andi Akbar Kurnia², Devi Nur Anisa¹, Ratri Mauluti Larasati³
email :radho.alkausar@fmipa.unila.ac.id

ABSTRAK

Kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C*) memiliki senyawa metabolit skunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri diantaranya alkaloid, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. Pada penelitian ini tanaman tersebut diformulasikan menjadi sediaan obat kumur dengan menggunakan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C*) pada sebuah formulasi. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C*) dapat diformulasikan menjadi sediaan obat kumur dan untuk mengetahui apakah formulasi sediaan obat kumur memiliki aktivitas antibakteri terhadap *staphylococcus aureus*. Metode penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium, daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C*) dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%, dibuat menjadi sediaan obat kumur dari kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C*) sebagai antibakteri dengan variasi formulasi yaitu FI daun sirih merah 2% daun jeruk purut 1%, FII daun sirih merah 1% daun jeruk purut 2%, FIII daun sirih merah 2% daun jeruk purut 2% dengan evaluasi sediaan fisik dan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi dengan teknik sumuran. Didapatkan hasil pada penelitian ini ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C*) yang paling efektif sebagai antibakteri pada formulasi ke III dengan diameter rata-rata daya hambat sebesar 29,88 mm.

Kata Kunci : Ekstrak, Formulasi, Daun Sirih Merah, Obat Kumur, Antibakteri.

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut adalah hal yang melekat pada masyarakat dan kebersihannya tidak bisa dilupakan begitu saja. Kebersihan gigi dan mulut yang tidak diperhatikan tidak hanya dapat berdampak pada kesehatan di rongga mulut saja, tetapi bisa berdampak pada kesehatan bagian tubuh yang lainnya,

seperti meningkatnya resiko serangan jantung dan stroke, meningkatkan keparahan diabetes, mengganggu pencernaan, berkontribusi terhadap penyakit pernapasan, serta menurunkan ketahanan tubuh terhadap infeksi. Menurut Kementerian Kesehatan (Kemkes) RI berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar Riskesdas (2018),

-
1. Program Studi Kimia FMIPA, Universitas Lampung
 2. D3 Analisis Farmasi dan Makanan, Universitas Malahayati
 3. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

45,3% masyarakat Indonesia memiliki masalah karies karena kurangnya kesadaran terkait pentingnya kesehatan gigi dan mulut jadi salah satu cara untuk menjaga kesehatan gigi dan mulut dapat menggunakan sediaan obat kumur. Obat kumur adalah larutan obat yang digunakan untuk berkumur dan membilas mulut. Banyak kondisi oral yang dibutuhkan penggunaan obat kumur, yang dapat bervariasi dari malodour oral sampai penyakit periodontal hingga pengobatan infeksi sekunder seperti mucositis oral. Obat kumur dapat direkomendasikan sebagai antimikroba, agen antiinflamasi topikal, topikal analgesik atau untuk pencegahan karies. Banyak obat kumur yang berbeda tersedia setiap hari. Pemilihan yang tepat obat kumur tergantung pada kondisi mulut pasien, risiko penyakit dan efisiensi dan keamanan obat kumur (Rostikawati *et al.*, 2015).

Salah satu tanaman obat tradisional yang banyak digunakan masyarakat umumnya daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang digunakan sebagai obat yaitu daunnya. Sebagian besar masyarakat menggunakan daun segarnya dengan cara direndam lalu diasuhkan kebagian yang akan diobati. Daun sirih merah mengandung senyawa fitokimia meliputi alkaloid, flavonoid, karvakol, eugenol, saponin, dan tanin. Kandungan karvakol pada daun sirih merah bermanfaat sebagai desinfektan dan antijamur sehingga berfungsi sebagai obat kumur dan obat keputihan.

Kandungan senyawa eugenol berfungsi sebagai obat pereda nyeri atau analgesik. Kandungan tanin berfungsi sebagai penyembuh sakit perut khususnya diare. Sementara itu senyawa tanin dan saponin juga dipakai sebagai antimikroba (Mardiana *et al.*, 2013).

Selain ekstrak daun sirih merah, daun jeruk purut juga merupakan salah satu tanaman hortikultura yang lazim digunakan masyarakat. Cita rasa dari daun jeruk purut berasal dari minyak atsiri yang dikandungnya yang komponen utamanya yaitu sitronellal. Sitronellal termasuk senyawa minyak atsiri yang berwarna kekuningan dan mudah menguap, Kandungan sitronellal yang tinggi menjadi salah satu kelebihan minyak daun jeruk purut (Khasanah *et al.*, 2015).

Bakteri patogen manusia *Staphylococcus aureus* ialah bakteri gram positif berbentuk bulat. Bakteri ini mampu menginfeksi jaringan tubuh mana pun dan menyebabkan penyakit dengan gejala khas seperti peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Strain *Staphylococcus aureus* bersifat patogen karena sifatnya yang invasif. sifat proliferasif dan interaksi faktor dan toksin. Ini bisa saja karena asupan enterotoksin, atau bisa juga karena bakteremia dan penyebaran abses ke organ lain. Sifat berbagai bahan ekstraseluler menentukan bagaimana mereka berkontribusi terhadap patogenesis. (Pratiwi *et al.*, 2022). *Staphylococcus aureus* yaitu salah satu

mikroflora normal yang berada di dalam mulut yang dapat menyebabkan penyakit dalam rongga mulut seperti *gingivitis*, *Angular cheilitis*, *parotitis*, *staphylococcal mucositis*, *denture stomatitis*, dan juga abses. Abses merupakan infeksi khas yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (Pakekong, 2016). Dan alasan dalam mengkombinasikan daun sirih merah dan jeruk purut berkaitan dengan dua faktor, yaitu kelarutan dari sekelompok zat dengan berbagai polaritas, dan banyaknya target yang dapat ditambatkan, diantaranya enzim, reseptor, ion *channels*, protein *transport*, antibodi dan lain sebagainya (Lukas *et al.*, 2012).

METODOLOGI PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratorium, yaitu daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C.*) yang diformulasikan dalam bentuk sediaan obat kumur dengan dengan formulasi 0, I, II, III, evaluasi fisik masing-masing sediaan berupa organoleptis, pH, dan bobot jenis.

Data penelitian disajikan secara deskriptif untuk melihat aktivitas antibakteri. Penelitian ini dilakukan di Universitas Politeknik Negeri Lampung dan Universitas Malahayati Bandar Lampung.

Alat dan Bahan

Alat

Pada penelitian ini digunakan peralatan yang terdiri dari ayakan, autoklaf, batang pengaduk, bunsen, kertas saring, labu ukur, mortir dan stamper, botol, cawan petri, corong, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala 100 mL, oven, *hot plate*, jangka sorong, lampu spiritus/bunsen, ose bulat/lurus, pemanas air, pencadangan silinder besi, pinset, pipet volume, rak tabung, *rotary evaporator*, spuit 1 mL, piknometer, pH meter, aluminium foil, kapas, tisu, alat maserasi, tabung reaksi, dan timbangan analitik.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C.*), biakan *Staphylococcus aureus*, *aquadest*, Ethanol 96%, Gliserin, Sorbitol, *Medium Nutrient Agar (NA)*, NaCl, *Peppermint Oil*, Magnesium dan HCl pekat.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Bahan daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C.*) dipetik dan disortir. Kemudian dicuci bersih dibawah air mengalir dan ditiriskan. Lalu daun dibagi menjadi bagian yang terpisah dengan tangkainya dan di keringkan sampai benar-benar kering. Sampel yang sudah kering diambil kemudian dihaluskan menjadi serbuk (Sari *et al.*, 2017).

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah dan Daun Jeruk Purut

Timbang 500 gram sampel ekstrak daun sirih merah dan 500 gram sampel ekstrak daun jeruk purut yang sudah menjadi serbuk kering. Kemudian serbuk tersebut direndam dalam pelarut ethanol 96% sebanyak 7 liter, diamkan selama 7 x 24 jam, lalu dilakukan pengadukan. Setelah 7 hari, kemudian diambil filtratnya menggunakan penyaringan dengan corong dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas. Hasil maserasi dimasukkan ke labu ukur untuk diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Flavonoid Ekstrak Daun Sirih Merah

Sebanyak 1 tetes ekstrak daun sirih merah diteteskan diplat tetes, kemudian ditambahkan natrium hidroksida (NaOH) sebanyak 3 tetes. Sampel positif mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok

menjadi warna kuning, merah, atau coklat (Mulyani *et al.*, 2011).

Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut

Sebanyak 1 tetes ekstrak daun jeruk purut diteteskan diplat tetes, kemudian ditambahkan natrium hidroksida (NaOH) sebanyak 3 tetes. Sampel positif mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok menjadi warna kuning, merah, atau coklat (Mulyani *et al.*, 2011).

Penyiapan dan Pembuatan Sediaan Obat Kumur

a. Rancangan Formula

Pada penelitian ini menggunakan formula sediaan obat kumur dengan menggunakan kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrik D.C.*)

Tabel 1. Formulasi Sediaan Obat Kumur Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrik D.C.*)

Bahan	Konsentrasi (%)				Fungsi
	Kontrol	Formula I	Formula II	Formula III	
Ekstrak Daun Sirih Merah	-	2 %	1 %	2 %	Zat Aktif
Ekstrak Daun Jeruk Purut	-	1 %	2 %	2 %	Zat Aktif
Gliserin	10 %	10 %	10 %	10 %	Humektan

Sorbitol	8 %	8 %	8 %	8 %	Pemanis
Peppermint Oil	q.s	q.s	q.s	q.s	Perasa
Aquadest	Ad. 100 mL	Ad. 100 mL	Ad. 100 mL	Ad. 100 mL	Pelarut

b. Pembuatan Sediaan Obat Kumur

Formula ini dibuat berdasarkan (Lismayani *et al.*, 2023) yang dimodifikasi dengan zat aktif yang berasal dari daun turi (*Sesbania grandiflora L.*) dan daun sirih hijau (*Piper betle L.*). Formula sediaan obat kumur dapat dilihat pada Tabel 1. Bahan yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan takarannya. Ekstrak daun sirih merah dan daun jeruk purut dimasukkan ke dalam mortir ditambah 10 mL gliserin, lalu digerus hingga homogen. Ekstrak yang telah homogen ditambahkan sorbitol 8 mL dan digerus kembali hingga halus. Bahan di atas ditambahkan air suling secukupnya lalu digerus hingga bisa dituang, kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam botol lalu ditambahkan air suling hingga 100 mL kemudian diaduk hingga homogen lalu dikemas.

Uji Evaluasi Fisik Obat Kumur

a. Uji Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi warna, bau dan rasa. Pengamatan warna dilakukan secara visual terhadap larutan obat kumur yang dikemas dalam botol. Bau dari larutan obat kumur yang telah disimpan dalam wadah yang sesuai dengan cara membuka tutup botol dan mencium aromanya. Rasa dari larutan obat

kumur itu diuji dengan cara mencicipi (berkumur) sesuai takaran.

b. Uji pH

Penentuan pH larutan obat kumur menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi. Larutan pencuci mulut yang akan diukur disiapkan. Elektrode pH meter dicelupkan sampai ujung elektroda tercelup ke dalam sediaan. pH yang didapat dicatat, pembacaan dilakukan 3 kali. Pengukuran pH menggunakan pH meter, rentang pH obat kumur adalah 6-7 (Tranggono dan Latifa, 2007).

c. Uji Bobot Jenis

Penentuan bobot jenis menggunakan piknometer dan didasarkan pada perbandingan bobot cairan di udara pada suhu 25°C terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Larutan pencuci mulut yang suhunya telah diatur $\pm 25^\circ\text{C}$ dimasukkan ke dalam piknometer. Suhu piknometer yang telah diisi kemudian diatur hingga 25°C. Kelebihan zat uji dibuang kemudian ditimbang. Bobot jenis zat diartikan sebagai bobot zat terhadap bobot air dengan volume yang sama yang ditimbang di udara pada suhu yang sama. Sediaan obat kumur memenuhi persyaratan jika bobot jenis sediaan mendekati bobot jenis air yaitu 1g/cm (Sari *et al.*, 2023).

Uji Aktivitas Antibakteri Obat Kumur (Roddu et al., 2016)

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat kaca seperti *beaker glass*, gelas ukur, erlenmeyer, dan tabung reaksi, cawan petri, cakram kertas steril, batang pengaduk dibungkus dengan kertas HVS. Kemudian alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 180° C selama 1 jam. Ose di sterilisasi dengan cara dibakar di atas lampu bunsen sampai pijar.

2. Pembuatan Media Nutrient Agar (Plating)

Ditimbang seberat 15 gram *nutrient agar* dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Ditambahkan dengan 1.000 mL *aquadest*. Lalu dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih sambil diaduk sampai homogen. Kemudian media disterilisasi dengan cara bagian mulut erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dengan kertas yang diikat dengan karet gelang. Kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C. Tuang media steril ke dalam cawan petri steril secara aseptis didalam LAF.

3. Inokulasi Bakteri (Peremajaan)

Inokulasi bakteri adalah menumbuhkan bakteri dalam tabung reaksi agar yang telah dibuat. Cara yang dilakukan dalam inokulasi bakteri

adalah :

1. Diambil 1 ose bakteri dan digoreskan di media agar miring.
2. Lalu diinkubasi selama 24 jam.

4. Pembuatan Suspensi Bakteri

Membuat larutan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diambil 1 ose bakteri. Dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 mL larutan NaCl fisiologi 0,9%. Dengan biakan murni *Staphylococcus aureus* didalam tabung reaksi dikocok sampai homogen. Kemudian disamakan dengan standar Mc. Farland.

5. Prosedur Metode Difusi

Penentuan aktifitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan metode difusi dengan cara sumuran. Prosedurnya yaitu :

1. Dibuat sumuran pada media agar yang telah dipadatkan dengan menggunakan alat lubang tips atau pencadang.
2. Diberi label pada masing-masing lubang sumuran dengan masing-masing konsentrasi serta kontrol negatif dan positif.
3. Setelah diberi label dimasukkan ekstrak ke dalam lubang sumuran pada masing-masing konsentrasi, perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali.
4. Cawan agar diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37° C.
5. Setelah diinkubasi, zona hambatan yang terbentuk diamati dan diukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian pertama uji fisik dari uji organoleptis, bobot jenis dan pH yang dilakukan di Laboratorium Universitas Malahayati dan hasil pengujian kedua yaitu uji antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan formulasi 0, formulasi I, formulasi II, formulasi III. Berikut adalah hasil uji fisik dan uji antibakteri yang telah dilakukan yang dapat dilihat pada tabel dibawah ini sebagai berikut :

Uji Organoleptis

Sediaan	Warna	Bau	Rasa
F0	Bening	Peppermint	Hambar
FI	Coklat	Peppermint	Pahit
FII	Coklat	Peppermint	Pahit
FIII	Coklat	Peppermint	Pahit

Berdasarkan hasil pengamatan organoleptis yang meliputi warna, bau dan rasa. Untuk warna yang dihasilkan yaitu F0 bening dan untuk FI, FII, serta FIII berwarna coklat, adanya perbedaan dalam setiap konsentrasi obat kumur ini disebabkan oleh penambahan ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrik D.C.*) yang berbeda setiap formulasi. Bau yang dihasilkan yaitu untuk F0, FI, FII dan FIII adalah peppermint. Didapatkan rasa yang dihasilkan yaitu F0 hambar dan untuk FI, FII dan FIII pahit.

Dari hasil pengujian fisik uji organoleptis pada warna, bau dan rasa sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang dikandungnya, sehingga hasil ini telah

memenuhi syarat.

Uji pH

Sediaan	R1	R2	R3	Rata-rata	Keterangan
F0	6,64	7,05	7,30	6,99	Memenuhi syarat
FI	6,28	6,20	6,17	6,21	Memenuhi syarat
FII	6,65	6,44	6,30	6,46	Memenuhi syarat
FIII	6,05	6,00	5,96	6,00	Memenuhi syarat

Nilai pH sediaan untuk mulut umumnya antara 4,5 hingga sekitar 9 atau 10 dan lebih baik sekitar 6,5 hingga 7,5 atau 8. Nilai pH bervariasi dimana pH normal antara 5,6-7,6 (Lucida *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil pengujian pH didapatkan bahwa kombinasi ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrik D.C.*) memiliki pH yang cukup asam sehingga mempengaruhi sediaan. Hal ini menunjukkan bahwa dari masing-masing konsentrasi obat kumur telah memenuhi syarat.

Uji Bobot Jenis

Sediaan	Bobot Jenis (g/mL)	Keterangan
F0	1,1179	Memenuhi syarat
FI	1,1441	Memenuhi syarat
FII	1,2857	Memenuhi syarat
FIII	1,2638	Memenuhi syarat

Sediaan obat kumur memenuhi persyaratan jika bobot jenis sediaan mendekati bobot jenis air yaitu 1g/cm (Sari *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil pengujian bobot jenis pada sediaan F0, FI, FII dan FIII telah mencapai 1g/cm dan juga memenuhi syarat.

Uji Skrining Fitokimia

Sediaan	Warna	Keterangan
Ekstrak daun sirih merah	Orange	Mengandung flavonoid
Ekstrak daun jeruk purut	Orange	Mengandung flavonoid

Sebanyak 1 tetes ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan 1 tetes Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C.*) diteteskan diplat tetes, kemudian ditambahkan natrium hidroksida (NaOH) sebanyak 3 tetes. Sampel positif mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok menjadi warna kuning, merah, atau coklat (Mulyani *et al.*, 2011).

Uji Antibakteri *Staphylococcus Aureus*

No.	Sediaan	Diameter zona hambat (mm)	Kategori
1	F0	26,10	Sangat kuat
2	FI	27,03	Sangat kuat
3	FII	27,50	Sangat kuat
4	FIII	29,88	Sangat kuat
5	Kontrol positif	19,43	Kuat
6	Kontrol negatif	0	-

Keterangan :

<5 : Lemah

10-20 : Kuat

5-10 : Sedang

>20 : Sangat kuat

Penelitian ini dilakukan terhadap Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Daun Jeruk Purut

(*Citrus hystrix D.C.*) dalam sediaan obat kumur sebagai anti bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* sampel daun sirih merah dan daun jeruk purut di dapatkan di daerah Liwa, Lampung Barat.

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Universitas Malahayati dan Universitas Politeknik Negeri Lampung. Ekstraksi secara maserasi merupakan proses ekstraksi secara dingin dan sederhana. Maserasi digunakan untuk menyaring simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, simplisia yang tidak mengembang dalam cairan penyari, simplisia yang tidak mengandung benzoin, stirok dan lilin dan simplisia yang bertekstur lunak. Maserasi menggunakan cairan pelarut etanol 96% selama 7 x 24 jam, etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar dan polar. Etanol digunakan karena ada Beberapa alasan penggunaan etanol yang sangat luas antara lain karena etanol relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya murah, dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi, serta aman untuk ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan dan makanan. Hasil ekstrak yang sudah pekat dibagi menjadi 2 bagian, sebagian untuk uji fisik dan sebagian lagi untuk uji aktivitas antibakteri.

Uji flavonoid menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna merah/orange. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus -OH dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen (Sri *et al.*, 2010). Flavonoid adalah golongan senyawa polifenol yang diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, dan bekerja sebagai antiinflamasi (Pourmourad *et al.*, 2006).

Kemudian ekstrak kental daun sirih merah dan daun jeruk purut dibuat obat kumur dengan variasi formula yaitu formula 0, formula I, formula II, formula III. Formulasi ini dibuat untuk membandingkan hasil dari tiap formulasi yang berbeda. Sebelum dilakukan uji antibakteri, bakteri yang digunakan sebelumnya dilakukan peremajaan terlebih dahulu untuk meregenerasi bakteri agar diperoleh bakteri yang mudah dan tidak terkontaminasi, media yang digunakan untuk peremajaan dan pengujian adalah nutrient agar, karena media NA sumber nitrogen dan sumber karbon Pada medium ini juga ditambal gram (NaCl) untuk menyeimbangkan tekanan osmotik sel bakteri dan medium agar bakteri yang ditumbuhkan tidak mati Biakan mikroba pada penelitian ini dapat

dari stok murni bakteri dengan cara diambil koloni bakteri dari stok murni menggunakan jarum ose yang sudah steril kemudian di isolasi pada media NA pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri *Staphylococcus aureus* (Roddu *et al.*, 2016)

Hasil peremajaan bakteri kemudian dibuat suspensi bakteri dengan melarutkan beberapa ose bakteri kedalam NaCl 0,9%. Penelitian ini menggunakan metode sumuran, metode sumuran yaitu membuat lubang pada media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Sebagai kontrol negative menggunakan aquadest steril berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri sehingga dapat diketahui bahwa mempunyai aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut. Lalu kontrol positif menggunakan Betadine kumur tersebut bersifat antiseptik yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri. Pada lempeng media yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antibakteri uji. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C dan waktu sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat disekeliling lubang. Metode ini menjadi metode yang dipilih dalam uji aktivitas karena memiliki keuntungan yaitu prosedurnya yang sederhana, mudah dan praktis untuk dilakukan dan dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai jenis mikroba

terhadap antibakteri pada konsentrasi tertentu (Afni *et al.*, 2015).

Hasil penelitian memperlihatkan terbentuknya zona hamba yang berbeda-beda pada tiap fomulasi, formulasi 0 dengan diameter zonahambat 26.10 mm, formulasi I dengan diameter zonahambat 27.03 mm, formulasi II dengan diameter zona hambat 27.50 mm, formulasi III dengan diameter zona hambat 29.88 mm dan Betadine kumur terdapat zona hambat dengan berdiameter 19.43 mm. Pada formula III didapatkan hasil jumlah kombinasi ekstrak terbesar memiliki zona hambat yang paling besar dari ketiga formula tersebut yaitu 29.88 mm. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka zona hambat yang terbentuk semakin besar akibat semakin banyaknya senyawa aktif yang terkandung pada hambat yang terbentuk semakin besar akibat semakin banyaknya senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hysrtik D.C.*).

Setelah dilakukan uji aktivitas antibakteri didapatkan bahwa pada formulasi 0 tanpa kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun jeruk purut dapat membentuk zona hambat, hal ini kemungkinan terdapat bahan dari formulasi sediaan obat kumur yang dapat menghambat bakteri seperti dalam formulasi yaitu Sorbitol, sorbitol menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat biofilm pada bakteri. Sorbitol merupakan bahan

pengganti gula dari golongan gula alkohol yang paling banyak digunakan, terutama di Indonesia, sorbitol juga memiliki sifat nonkariogenik. Artinya, gula alkohol ini tidak lagi diuraikan oleh bakteri mulut. Bakteri tersebut biasanya memecah gula dan pati untuk melepaskan asam. Asam tersebut yang dapat menyebabkan gigi berlubang atau erosi email gigi (chan *et al.*, 2020). Dan komposisi dalam formulasi yang dapat menghambat bakteri yaitu peppermint dikarenakan kandungan peppermint terdapat metabolit skunder yaitu minyak atsiri sebesar (0,5-4%), yang mengandung mentol (30-55%) dan menthone (14-32%). Kedua bahan tersebut yang dapat menghambat bakteri sehingga saat pengujian pada formulasi 0 menggunakan bahan tersebut maka formulasi 0 dapat menghambat bakteri maka hasil dari formulasi 0 memperoleh zona hambat (Maulina *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

1. Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hysrtik D.C.*) mengandung senyawa aktif.
2. Sediaan obat kumur dengan kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun jeruk purut (*Citrus hysrtik D.C.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada formulasi 0 hingga formulasi III didapatkan zona hambat.

SARAN

1. Saran untuk peneliti selanjutnya untuk memastikan kembali komposisi bagi formulasi obat kumur tidak mempunyai aktivitas antibakteri.
2. Sebaiknya peneliti selanjutnya melakukan uji antibakteri sediaan obat kumur terhadap bakteri mulut lainnya.
3. Melakukan uji determinasi terlebih dahulu untuk tanaman obat yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Khasanah, L. U., Kawiji, K., Utami, R., Aji, Y. M. 2015. Pengaruh perlakuan pendahuluan terhadap karakteristik mutu minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 4(2).
2. Lismayani, I., Aliah, A. I., Ulandari, S. A. 2023. Uji AKTIVITAS SEDIAAN OBAT KUMUR KOMBINASI EKSTRAK DAUN TURI (*Sesbania grandiflora L.*) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(1), 9-14.
3. Lukas, A. 2012. Formulasi obat kumur gambir dengan tambahan *peppermint* dan minyak cengkeh. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*, 23(2), 67-76.
4. Mardiana, L., Buku, T. K. 2012. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Penebar Swadaya Grup.
5. Maulina, Dara. 2012. Teknik Budidaya Tanaman Rempah Dan Penyegar (Daun Mint). *Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh*.
6. Mulyani, S., Laksana, T. 2011. Analisis flavonoid dan tannin dengan metoda mikroskopi-mikrokimiawi. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 109-114.
7. Pakekong, E. D. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. *PHARMACON*, 5(1).
8. Pratiwi, A. R., Putri, D. K. T. 2022. *Biofilm Oral dan Implikasi Klinis pada Rongga Mulut*. Universitas Brawijaya Press.
9. Roddu, A. K., Zainuddin, Z. 2016. Uji Efektivitas Anti Bakteri Sediaan Obat Kumur Dengan Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz*) Dan Akar Wangi (*Andropogon zizanoides Urban*) Pada *Streptococcuss mutans*. *Majalah Farmasi Nasional*, 13(2), 55-67.
10. Rostikawati, R. T., Supratman, L. 2021. Uji antibakteri obat kumur ekstrak etanol tanaman ciplukan (*Physalis angulata L.*) Terhadap bakteri gram positif. *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 13(1), 103-107.
11. Sari, A., Hayati, R., Irwani, M. 2023. FORMULASI MOUTHWASH DARI EKSTRAK GETAH ANGSANA (*Pterocarpus indicus Willd*). *Journal Pharmacopoeia*, 2(1), 13-22.
12. Sari, R., Muhani, M., Fajriaty, I. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa Baill.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus Mirabilis*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(3), 4.
13. Tranggono R.I., Latifa F. 2007. Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta; Hal. 11, 90-93, 167.