



UNIVERSITAS INDONESIA

**FORMULASI SEDIAAN OBAT KUMUR YANG MENGANDUNG
MINYAK ATSIRI TEMULAWAK (*Curcuma xanthorriza*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Porphyromonas gingivalis* PENYEBAB BAU MULUT**

SKRIPSI

**MUTHIA RACHMA
0305050396**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
DESEMBER 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**FORMULASI SEDIAAN OBAT KUMUR YANG MENGANDUNG
MINYAK ATSIRI TEMULAWAK (*Curcuma xanthorriza*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Porphyromonas gingivalis* PENYEBAB BAU MULUT**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi

**MUTHIA RACHMA
0305050396**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
DESEMBER 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Muthia Rachma

NPM : 0305050396

Tanda Tangan : 

Tanggal : 3 Januari 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Muthia Rachma
NPM : 0305050396
Program Studi : S1 Farmasi
Judul Skripsi : Formulasi sediaan obat kumur yang mengandung minyak atsiri temulawak (*Curcuma xanthorriza*) sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis* penyebab bau mulut

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan telah diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra M.S., Ph.D. (.....)

Pembimbing II : Prof. Dr. Atiek Soemiati, M.S. (.....)

Penguji I : Dr. Maksum Radji, M.Biomed (.....)

Penguji II : Dr. Nelly D. Leswara (.....)

Penguji III : Dr. Abdul Mun'im, M.S. (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal :

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikannya. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan terima kasih yang tulus kepada:

1. Ibu Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra M.S., Ph.D, selaku dosen pembimbing I dan Ibu Prof. Dr. Atiek Soemiati, M.S., selaku dosen pembimbing II yang selalu sabar membimbing dan memberi saran serta menyediakan fasilitas laboratorium untuk menunjang penelitian.
2. Ibu Dra. Azizahwati, M.S., Apt selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan perhatian dan bimbingannya kepada penulis selama ini.
3. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, sebagai Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Keluarga tercinta, Papa, Mama, Abang, Almarhumah Oma, Nenek, Angku, Mamak, dan Tante atas semua dukungan, kasih sayang, kesabaran, semangat, do'a yang tiada henti-hentinya dan dana yang diberikan untuk penulis.
5. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Farmasi FMIPA UI atas bimbingannya kepada penulis selama ini.
6. Bapak dan Ibu Laboran, Mbak Devfanny, Pak Imih, Mbak Catur, Mas Tri, Pak Hadison, Pak Surya, Pak Rustam dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI atas semua bantuan yang diberikan, terutama saat penelitian berlangsung.
7. Sahabatku, Hasma, yang selalu menemani di kala susah maupun senang, serta memberikan dukungan serta semangat yang tiada henti kepada penulis.
8. Teman-teman terbaikku, Gina, Anis, Niken, Samira, Meta, Wulan, Disa, Okta, Rachel, Nuel, Itina, Dinda, Githa, Merylin, Ndit, Olin, Wilzar, Tami, Radit

atas dukungan, persahabatan dan kenangan indah bersama kalian selama ini.

9. Teman-teman seperjuangan selama penelitian, Sista, Kucel, Yosmeita, Vivid, Novy, Yuli, Eka, Sari, Yoyon, Dhea, Mitha, Irma, Eja, Ani, Nisa, Rindo, Christina, Pak Zul, Hifdzi, Indra, atas dukungan semangat dan kerjasamanya selama penelitian.
10. Teman-teman Farmasi Angkatan 2005 serta kakak dan adik kelas penulis atas dukungan dan kerjasamanya selama ini.
11. Teman teman penulis di Tim Futsal FMIPA UI, Agung, Febe, Ista, Eghie, Yuan, Tyass, Rendra, Agus, Hamzah, dan anggota lainnya, serta Keluarga Besar UKOR FMIPA UI, Tossaka 3rd, atas dukungan semangat, loyalitas, kerjasama, pengertian dan pengalaman berharga yang mungkin tidak penulis dapatkan di bangku kuliah.
12. Ibu Drg. Riska, PT. Insular, PT. Cognis, Pak Jaja, dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dalam dunia farmasi khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Penulis

2010

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muthia Rachma
NPM : 0305050396
Program Studi : S1
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Formulasi sediaan obat kumur yang mengandung minyak atsiri temulawak (*Curcuma xanthorriza*) sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis* penyebab bau mulut

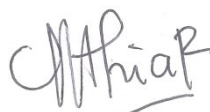
beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 3 Januari 2010

Yang menyatakan



(Muthia Rachma)

ABSTRAK

Nama : Muthia Rachma
Program Studi : Farmasi
Judul : Formulasi sediaan obat kumur yang mengandung minyak atsiri temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis* penyebab bau mulut

Tanaman temulawak telah dikenal memiliki banyak khasiat dan telah dipakai turun menurun sebagai tanaman obat. Pemanfaatan minyak atsiri temulawak sebagai antibakteri dengan komponen *xanthorrhizol* didalamnya cukup potensial bila diaplikasikan ke dalam sediaan obat kumur. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan minyak atsiri temulawak dengan berbagai variasi formula yang dikombinasikan dengan enzim-enzim seperti laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, dan lisozim, serta papain. Berbagai variasi formula tersebut diuji aktivitas antibakterinya dengan uji Kadar Hambat Minimal (KHM) melalui metode dilusi dan pengujian stabilitas fisik sediaan terhadap berbagai variasi suhu, yaitu penyimpanan pada suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu dengan parameter pengamatan organoleptis dan pH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan obat kumur yang mengandung minyak atsiri temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap salah satu bakteri penyebab bau mulut yaitu *Porphyromonas gingivalis*, dengan nilai KHM pada masing-masing formula yaitu pada kadar 50% untuk formula yang mengandung minyak atsiri temulawak; kadar 40% untuk formula yang mengandung minyak atsiri temulawak dan dikombinasikan dengan laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, dan lisozim; kadar 50% untuk formula yang mengandung minyak atsiri temulawak dan dikombinasikan dengan enzim papain; dan kadar 40% untuk formula yang mengandung minyak atsiri temulawak dan dikombinasikan dengan laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, dan lisozim, serta enzim papain. Hasil pengujian stabilitas fisik sediaan menunjukkan sediaan-sediaan obat kumur tersebut cenderung stabil pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Kata Kunci : minyak atsiri temulawak, obat kumur, antibakteri, *Porphyromonas gingivalis*, stabilitas fisik.

xvii + 77 halaman; 32 gambar; 13 tabel; 3 lampiran
Bibliografi : 42 (1977-2010)

ABSTRACT

Name : Muthia Rachma
Program Study : Farmasi
Title : Formulation of mouthwash containing java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza*) essential oils as antibacterial for *Porphyromonas gingivalis* caused halitosis

Java turmeric have been known to have many benefits and used as a medicinal plant from generation to generation. The utilization of java turmeric essential oils as an antibacterial with *xanthorrhizol* component has promising potential if applied into mouthwash preparations. This study aims to formulate the java turmeric essential oils with various formulations combine with enzymes such as lactoperoxidase, lactoferrin, glucose oxidase, lysozyme, and papain. The antibacterial activity was tested with the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) dilution method and the physical stability of these formulas were tested to temperature variations at low temperature ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), room temperature ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), and high temperature ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) for 8 weeks with the organoleptic and pH parameter observation. The results shows that the mouthwash containing java turmeric essential oils have antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis*, a bacteria caused halitosis, with MIC values of each formula at concentration of 50% for the formula that contains java turmeric essential oils; concentration of 40% for the formula that contains java turmeric essential oils and combined with lactoperoxidase, lactoferrin, glucose oxidase, lysozyme; concentration of 50% for the formula that contains java turmeric essential oils and combined with papain enzyme; also concentration of 40% for the formula that contains java turmeric essential oils and combined with lactoperoxidase, lactoferrin, glucose oxidase, lysozyme, and papain enzyme. Physical stability test results that the mouthwashes were stable at low temperature storage ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Keywords : java turmeric essential oils, mouthwash, antibacterial, *Porphyromonas gingivalis*, physical stability.

xvii + 77 pages; 32 figures; 13 tabels; 3 appendixes
Bibliography : 42 (1977-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Mulut	3
2.2. Bau Mulut	4
2.3. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.4. Obat Kumur	7
2.5. Komponen dalam formula obat kumur	10
2.5.1. Propilen glikol.....	10
2.5.2. Asam benzoat	11
2.5.3. Natrium benzoat	11
2.5.4. <i>Xylitol</i>	12
2.5.5. <i>Oleum menthe</i>	13
2.5.6. <i>PEG-40 Hydrogenated Castor Oil</i>	13
2.5.7. Kalsium laktat	13
2.5.8. Kalium tiosianat	14

2.5.9. Butil hidroksi anisol (BHA)	14
2.5.10. Sorbitol 70%	14
2.5.11. <i>Bio-active Enzyme</i>	15
2.5.12. Enzim papain	16
2.5.13. Aquadest	17
2.6. Minyak atsiri Temulawak (<i>Curcuma xanthorriza</i>)	18
2.7. Kadar Hambat Minimum Antimikroba.....	19

BAB 3. METODE PENELITIAN..... 22

3.1. Tempat dan Waktu.....	22
3.2. Alat	22
3.3. Bahan	22
3.4. Cara Kerja	23
3.4.1. Formulasi dan pembuatan sediaan obat kumur	23
3.4.1.1. Formulasi obat kumur	23
3.4.1.2. Pembuatan obat kumur	25
3.4.2. Penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) minyak atsiri <i>Curcuma xanthorriza</i> terhadap Bakteri <i>Porphyromonas</i> <i>gingivalis</i>	27
3.4.2.1. Pembuatan larutan natrium klorida 0,9 %	27
3.4.2.2. Pemiakkan bakteri pada medium kaldu Tioglikolat	27
3.4.2.3. Pewarnaan Gram	28
3.4.2.4. Penyetaraan bakteri dengan standar Mc. Farland ..	29
3.4.2.5. Pengenceran bakteri	29
3.4.2.6. Pengenceran minyak atsiri temulawak dan sediaan obat kumur	29
3.4.2.7 Uji Kadar Hambat Minimal (KHM) dengan metode dilusi	30
3.4.3. Evaluasi sediaan obat kumur	31
3.4.3.1. Pengamatan organoleptis	31
3.4.3.2. Pemeriksaan pH	31

3.4.3.3. Uji stabilitas fisik sediaan	31
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1. Hasil	32
4.1.1. Formula obat kumur	32
4.1.2. Evaluasi sediaan	32
4.1.3. Pengujian stabilitas fisik	32
4.1.4. Konfirmasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> dengan pewarnaan Gram	33
4.1.5. Uji aktivitas antibakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	33
4.2. Pembahasan	34
4.2.1. Pembuatan sediaan	35
4.2.2. Evaluasi sediaan	37
4.2.3. Pengujian stabilitas fisik	37
4.2.4. Konfirmasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> dengan pewarnaan Gram	39
4.2.5. Uji aktivitas antibakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	40
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1. Kesimpulan	43
5.2. Saran	43
DAFTAR ACUAN	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Anatomi mulut	3
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.3 Rumus bangun propilen glikol.....	10
2.4 Rumus bangun asam benzoat	11
2.5 Rumus bangun <i>xylitol</i>	12
2.6 Rumus bangun kalsium laktat	13
2.7 Rumus bangun <i>xanthorizol</i>	19
3.1 Foto alat : (a) timbangan analitik, (b) pH meter, (c) lemari pendingin, (d) autoklaf, (e) timbangan, (f) oven	49
3.2 Foto alat : (a) alat-alat untuk pewarnaan Gram, (b) mikroskop, (c) <i>anaerob jar</i> , (d) <i>Laminar Air Flow (LAF) Cabinet</i> , (e) <i>hotplate</i> , (f) vortex	50
3.3 Foto kemasan minyak atsiri <i>Curcuma xanthorriza</i>	51
4.1 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 1 pada minggu ke-0	51
4.2 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 1 setelah <i>cycling test</i>	51
4.3 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 1 setelah penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu	52
4.4 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 2 pada minggu ke-0.....	52
4.5 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 2 setelah <i>cycling test</i>	53
4.6 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 2 setelah penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu	53
4.7 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 3 pada minggu ke-0	54
4.8 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 3 setelah <i>cycling test</i> ...	54
4.9 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 3 setelah penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu	55
4.10 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 4 pada minggu ke-0	55
4.11 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 4 setelah <i>cycling test</i>	56
4.12 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 4 setelah penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu	56

4.13 Grafik hubungan nilai pH terhadap waktu penyimpanan sediaan obat kumur pada suhu rendah	57
4.14 Grafik hubungan nilai pH terhadap waktu penyimpanan sediaan obat kumur pada suhu kamar	57
4.15 Grafik hubungan nilai pH terhadap waktu penyimpanan sediaan obat kumur pada suhu tinggi	57
4.16 Foto hasil pewarnaan Gram bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	58
4.17 Foto hasil biakan bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada : (a) medium agar darah dan (b) kaldu Tioglikolat	58
4.18 Foto hasil uji KHM larutan stok minyak atsiri <i>Curcuma xanthorrhiza</i> pada bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> . (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II	59
4.19 Foto hasil uji KHM sediaan obat kumur formula 1 pada bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> . (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II	60
4.20 Foto hasil uji KHM sediaan obat kumur formula 2 pada bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> . (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II, (c) Uji Dilusi III	62
4.21 Foto hasil uji KHM sediaan obat kumur formula 3 pada bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> . (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II, (c) Uji Dilusi III	64
4.22 Foto hasil uji KHM sediaan obat kumur formula 4 pada bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> . (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II, (c) Uji Dilusi III	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan obat kumur	9
3.1 Komposisi bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan obat kumur	24
4.1 Hasil pengamatan pH dan organoleptis secara visual keempat formula obat kumur pada minggu ke-0	67
4.2 Hasil pengamatan pH dan organoleptis secara visual keempat formula obat kumur setelah dilakukan <i>cycling test</i>	67
4.3 Hasil pengamatan pH dan kondisi fisik sediaan obat kumur formula 1 pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	67
4.4 Hasil pengamatan pH dan kondisi fisik sediaan obat kumur formula 2 pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	68
4.5 Hasil pengamatan pH dan kondisi fisik sediaan obat kumur formula 3 pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	69
4.6 Hasil pengamatan pH dan kondisi fisik sediaan obat kumur formula 4 pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	70
4.7 Hasil uji antibakteri larutan stok minyak atsiri temulawak terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi	71
4.8 Hasil uji antibakteri Formula Obat Kumur 1 (formula mengandung minyak atsiri temulawak) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi	71
4.9 Hasil uji antibakteri Formula Obat Kumur 2 (formula mengandung minyak atsiri temulawak, enzim laktoperoksidase, laktoferin, lisozim, dan glukosa oksidase) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi	72

4.10 Hasil uji antibakteri Formula Obat Kumur 3 (formula mengandung minyak atsiri temulawak, dan enzim papain) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi	72
4.11 Hasil uji antibakteri Formula Obat Kumur 4 (formula mengandung minyak atsiri temulawak, laktoperoksidase, laktoferin, lisozim, glukosa oksidase, dan enzim papain) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi	73



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
3.1 Alur kerja secara keseluruhan	74
4.1 Perhitungan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) larutan stok minyak atsiri <i>Curcuma xanthorriza</i>	76
4.2 Sertifikat analisis minyak atsiri Temulawak	77



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mulut adalah salah satu bagian tubuh yang cukup vital karena diperlukan untuk aktivitas keseharian seperti untuk bicara dan makan-minum. Jika mulut terserang penyakit, maka kegiatan lain pun menjadi terganggu. Masalah mulut yang sering muncul adalah bau mulut, sariawan, dan infeksi mulut. Selain itu, ditemukan pula masalah mulut lainnya yang lebih kompleks, yaitu mulut kering, radang gusi, dan kanker mulut (*Masalah Mulut*, 2010).

Bau mulut adalah bau nafas yang tidak enak, dan tidak menyenangkan serta menusuk hidung. Bau mulut merupakan akibat dari proses perubahan bahan dalam rongga mulut yang mengandung ikatan sulfur (*Bau Mulut (Halitosis)*, 2008). Bau mulut yang persisten, yang sering mendera para penderitanya, sering kali disebabkan oleh kehadiran bakteri anaerob dalam mulut. Bakteri tersebut menghasilkan senyawa belerang berbau menyengat yang melekat di rongga mulut dan permukaan lidah yang merupakan 80 – 90% dari penyebab bau mulut (*Bakteri Bau Mulut*, 2008). *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri anaerob fakultatif rongga mulut yang telah diidentifikasi memiliki kelaziman 38 % sebagai penyebab bau mulut. Bau mulut tersebut merupakan salah satu indikator awal dari penyakit periodontitis yang kemudian dapat berkembang lebih lanjut pada terjangkitnya penyakit saluran pernafasan.

Salah satu cara menghilangkan bau mulut adalah dengan menggunakan obat kumur. Obat kumur ada bermacam-macam, ada yang hanya berfungsi sebagai penyegar, ada yang penyegar plus pembunuh bakteri, dan ada pula yang kandungan pembunuh bakterinya sangat kuat (Rieger, 2001).

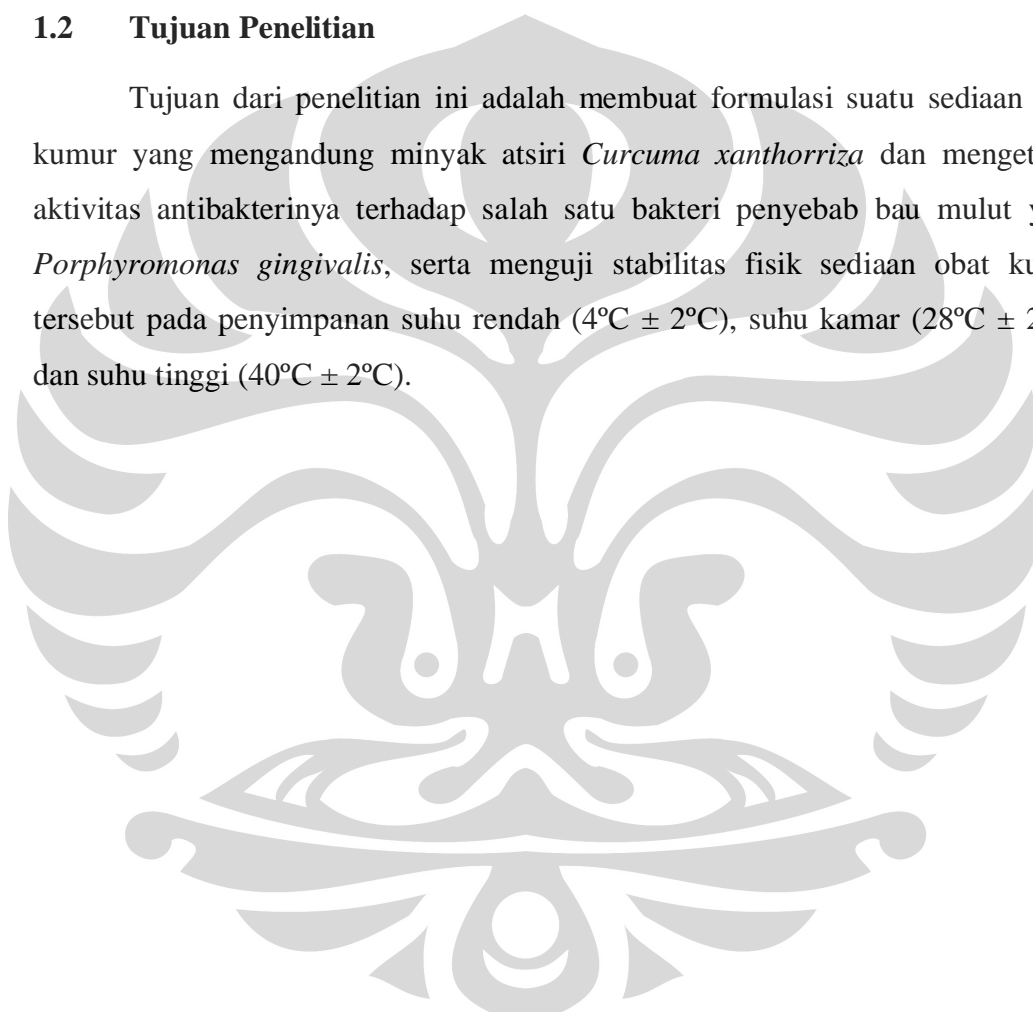
Minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* telah dilaporkan memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antifungi, dan antikanker. Minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* cukup efektif sebagai antibakteri dikarenakan mengandung *xanthorrhizol*, yaitu suatu senyawa fenolik yang memiliki aktivitas kerja sebagai antibakteri (Jae-Kwan Hwang, 2004).

Berdasarkan pertimbangan tersebut, dilakukan formulasi terhadap obat

kumur yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* sebagai antibakteri terhadap salah satu bakteri penyebab bau mulut yaitu *Porphyromonas gingivalis*. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri tersebut, dilakukan uji penentuan KHM (Kadar Hambat Minimal) dengan metode dilusi dan dilakukan pula uji stabilitas fisik sediaan pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah membuat formulasi suatu sediaan obat kumur yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* dan mengetahui aktivitas antibakterinya terhadap salah satu bakteri penyebab bau mulut yaitu *Porphyromonas gingivalis*, serta menguji stabilitas fisik sediaan obat kumur tersebut pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

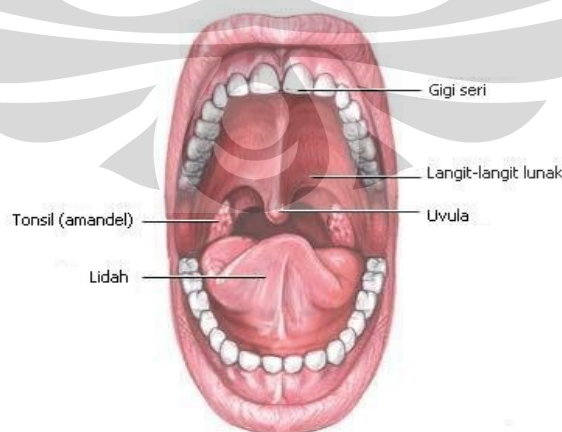
2.1 Mulut (*Anatomi Mulut, n.d.*)

Mulut merupakan jalan masuk untuk sistem pencernaan dan sistem pernafasan. Bagian dalam dari mulut dilapisi oleh selaput lendir. Saluran dari kelenjar liur di pipi, di bawah lidah dan di bawah rahang mengalirkan air liur ke dalam mulut.

Di dasar mulut terdapat lidah, yang berfungsi untuk merasakan dan mencampur makanan. Pengecapan dirasakan oleh organ perasa yang terdapat di permukaan lidah. Pengecapan terdiri dari manis, asam, asin dan pahit.

Makanan dipotong-potong oleh gigi depan dan dikunyah oleh gigi belakang (geraham), menjadi bagian-bagian kecil yang lebih mudah dicerna. Ludah dari kelenjar ludah akan membungkus bagian-bagian dari makanan tersebut dengan enzim-enzim pencernaan dan mulai mencernanya.

Pada saat makan, aliran dari ludah membersihkan bakteri yang bisa menyebabkan pembusukan gigi dan gangguan lainnya. Ludah juga mengandung antibodi dan enzim (misalnya lisozim), yang memecah protein dan menyerang bakteri secara langsung.



(Sumber : *Anatomi Mulut, n.d.*)

Gambar 2.1 Anatomi mulut

2.2 Bau Mulut (*Halitosis*, 2008; Bustomi, 2010)

Bau mulut atau dalam bahasa medis "*fetor ex ore*" adalah bau nafas yang tidak enak, dan tidak menyenangkan serta menusuk hidung. Bau mulut bukan merupakan suatu penyakit, melainkan suatu gejala adanya kelainan/penyakit yang tidak disadari.

Bau mulut biasanya disebabkan oleh masalah dari rongga mulut itu sendiri. Namun tidak menutup kemungkinan bau mulut berasal dari luar mulut, seperti hidung, faring, paru-paru dan lambung. Normalnya, bau dari rongga mulut tidak tetap, tetapi berubah dari waktu ke waktu sepanjang hari dan dipengaruhi oleh faktor usia, jenis kelamin, keadaan perut lapar dan menstruasi. Bau mulut akan terjadi pada seseorang yang sehat bila rongga mulut tidak melakukan aktivitas selama kira-kira 1-2 jam. Misalnya pada keadaan puasa, bangun tidur, atau pada orang yang menggunakan gigi palsu yang jarang atau tidak pernah dibersihkan.

Jika bau nafas yang sebelumnya normal berubah menjadi tidak sedap, maka penyebabnya adalah:

- Makanan yang memang "beraroma", misalnya petai, jengkol, durian, bawang putih.
- Suplemen atau makanan yang mengandung protein tinggi, misal keju, daging.
- Gigi berlubang (*caries dentis*).

Kuman dalam plak gigi akan mengurai sisa makanan terutama karbohidrat dan gula dan menghasilkan asam yang menyebabkan gigi kehilangan mineral, atau disebut demineralisasi. Bila terjadi demineralisasi maka gigi menjadi berlubang.

- Plak dan karang gigi.

Plak adalah sekumpulan kuman yang kenyal dan lengket yang terkumpul pada gigi, di atas dan di bawah gusi. Kuman plak akan menghasilkan asam yang menyebabkan kerusakan gigi atau toksin yang menyebabkan timbulnya karang gigi dan radang gusi.

- gejala mulut kering atau *xerostomia*.

Keadaan dimana mulut kekurangan suplai aliran *saliva* (ludah) sehingga mengakibatkan mulut mengalami kekeringan akan ludah. Hal ini memicu bakteri lebih cepat berkembang sehingga menyebabkan bau (Bartels, n.d.).

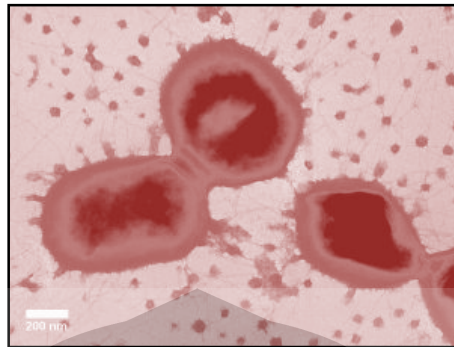
- Nanah dari infeksi gusi dan gigi.
- Kelainan organik akibat penyakit kronis, misalnya gangguan liver yang kronis, gangguan fungsi ginjal, serta diabetes yang kadar gulanya tak terkontrol dan tinggi.
- Kebiasaan merokok dan minum alkohol.
- Peradangan, misal radang mulut, radang gusi.
- Sindrom Sjögren.

Sindrom Sjögren adalah suatu penyakit peradangan sistemik yang ditandai dengan mulut yang kering, berkurangnya pembentukan air mata dan kekeringan pada selaput lendir lainnya, serta seringkali berhubungan dengan penyakit rematik autoimun (*Sjögren*, n.d.).

- Obat-obatan (paraldehid, triamteren dan obat bius yang dihirup, suntikan insulin).
- Bakteri anaerob.

Pada kondisi normal, bakteri anaerob berperan dalam menghancurkan sisa-sisa makanan yang ada di dalam mulut. Namun apabila perkembangbiakan bakteri tersebut berlebihan, maka dapat menjadi penyebab bau mulut atau lebih dikenal dengan istilah *halitosis*. Gas atau senyawa sulfur yang mudah menguap atau Volatile Sulfur Compounds (VSC) merupakan penyebab utama *halitosis*. VSC ini terbentuk melalui reaksi-reaksi dari bahan yang ada di dalam mulut yang tidak mudah menguap, khususnya reaksi antara protein dengan bakteri anaerob yang ada di dalam mulut (Priyono, 2005). Contoh bakteri anaerob tersebut adalah *Porphyromonas gingivalis*.

2.3 *Porphyromonas gingivalis* (Haraszthy, 2007; Iriano, 2008; Lamont, 1998)



(Sumber : *Porphyromonas gingivalis*, n.d.)

Gambar 2.2 *Porphyromonas gingivalis*

Secara taksonomi, *Porphyromonas gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Bacteroidetes
Sub divisi	: Bacteroidetes
Kelas	: Bacteroides
Bangsa	: Bacteroidales
Suku	: <i>Porphyromonadaceae</i>
Marga	: <i>Porphyromonas</i>
Jenis	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri anaerob Gram negatif yang tidak berspora dan tak punya alat gerak (non-motil). Bakteri ini berbentuk batang pendek dengan panjang 0,5 – 2 µm. Koloni bakteri ini bila terdapat pada agar darah tampak lembut, berkilauan dan terlihat cembung, serta 1-2 mm di dalam garis tengah dan menggelap dari tepi koloni ke pusat diantara 4-8 hari. Pertumbuhannya dipengaruhi oleh adanya protein *hydrolysates*, seperti *trypticase*, *proteose peptone* dan ekstrak *yeast*. Pertumbuhannya dapat ditingkatkan dengan adanya 0,5 % – 0,8 % NaCl dalam darah. Produk fermentasi yang utama adalah n-butirat dan asam asetat. Untuk tingkat yang lebih rendah juga diproduksi asam propionat, iso-butirat, fenilasetat, protein sistein dan kolagen. Dinding sel peptidoglikan mengandung lisin sebagai asam diamino. Pada rongga mulut,

Porphyromonas gingivalis terutama ditemukan di area *subgingival*, lidah, dan tonsil (Samaranayake, 2002).

Porphyromonas gingivalis adalah bakteri patogen rongga mulut yang telah diidentifikasi memiliki kelaziman 38 % sebagai penyebab bau mulut. *Porphyromonas gingivalis* adalah salah satu penyebab utama penyakit periodontal. *Porphyromonas gingivalis* termasuk bakteri anaerob Gram negatif dan merupakan agen etiologi utama dalam inisiasi dan perkembangan bentuk-bentuk parah penyakit periodontal. Sebagai patogen oportunistik, *Porphyromonas gingivalis* dapat eksis secara harmonis dengan sel inang hingga terjadi pergeseran keseimbangan ekologi di dalam lingkungan mikro periodontal. Kolonisasi dari wilayah *subgingival* difasilitasi oleh kemampuan dari *Porphyromonas gingivalis* untuk melekat pada substrat yang tersedia seperti molekul air liur, matriks protein, sel-sel epitel, dan bakteri yang telah ditetapkan sebagai biofilm pada permukaan gigi dan epitel, misalnya *Fusobacterium nucleatum* dan *Treponema denticola*. Analisis genom mengungkapkan bahwa *Porphyromonas gingivalis* dapat memetabolisme berbagai asam amino dan menghasilkan sejumlah produk akhir metabolik yang bersifat racun terhadap manusia (*host*) atau jaringan gingiva dan berkontribusi terhadap perkembangan penyakit periodontal.

Penyakit periodontal yang secara kolektif disebut sebagai penyakit periodontitis adalah infeksi bakteri yang dimulai dengan peradangan pada periodontium, dan dapat berkembang menjadi kehilangan gigi. Infeksi yang tidak diobati menyebabkan kehancuran ligamen periodontal dan tulang alveolar. Diperkirakan bahwa lebih dari 49.000.000 orang di Amerika Serikat memiliki beberapa bentuk periodontitis. Periodontitis terjadi dengan frekuensi yang lebih tinggi pada pasien dengan penyakit sistemik seperti diabetes melitus, AIDS, leukemia, neutropenia, penyakit Crohn, dan sindrom Down.

2.4 Obat Kumur

Obat kumur umumnya didefinisikan sebagai sediaan larutan dengan rasa yang nyaman, mengandung antimikroba dan berguna untuk menyegarkan mulut. Obat kumur adalah sediaan cair dengan viskositas yang tidak terlalu kental dan tidak terlalu cair, dengan rasa yang enak (Rieger, 2001).

Karakteristik obat kumur yang ideal yaitu (Mitsui, 1997) :

1. Membasmi kuman yang menyebabkan gangguan kesehatan mulut dan gigi
2. Tidak menyebabkan iritasi
3. Tidak mengubah indera perasa
4. Tidak mengganggu keseimbangan flora mulut
5. Tidak meningkatkan resistensi mikroba
6. Tidak menimbulkan noda pada gigi

Pada dasarnya, di luar fungsi penyegar, obat kumur juga berfungsi :

1. Mencegah terjadinya pengumpulan plak.
2. Mencegah terjadinya gingivitis, mencegah dan mengobati sariawan.
3. Mengobati candidiasis (pada obat kumur yang mengandung Klorheksidin).
4. Membantu penyembuhan gusi setelah operasi oral.
5. Menghilangkan sakit akibat tumbuhnya gigi.
6. Mencegah atau mengurangi sakit akibat inflamasi.

Tipe – tipe obat kumur, yaitu:

1. Berdasarkan cara penggunaan, yaitu secara langsung digunakan (dalam bentuk larutan), terkonsentrasi dan jenis bubuk yang harus dilarutkan terlebih dulu dengan pelarut yang sesuai (Mitsui, 1997).
2. Berdasarkan khasiat (Rieger, 2001).

a. Antibakteri

Mengandung semacam agen germisida untuk mengurangi populasi bakteri mulut. Senyawa turunan fenol, hidrogen peroksida, *chlorine dioxide*, dan garam-garam zinc biasa digunakan sebagai zat aktif antibakteri pada obat kumur.

b. Fluorida, yang membantu memperkuat enamel gigi

c. Kosmetik, yang dapat menyegarkan nafas

d. *Prebrushing rinses*, yang berfungsi untuk melepaskan plak dari gigi agar lebih mudah dibersihkan dengan sikat gigi dan pasta gigi.

Kandungan obat kumur yang satu dengan yang lain sangat beraneka ragam. Secara umum kandungan obat kumur adalah etanol dan pelarut lain, humektan, *solubilizer*, *flavoring agent*, pengawet, dan pH regulator (dapar) (Mitsui, 1997).

Tabel 2.1 Kandungan Obat Kumur (Mitsui, 1997; Rieger, 2001)

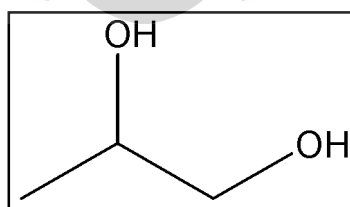
Kategori	Contoh	Efek/Fungsi
Aquadest	Aquadest murni	Pelarut, penyesuai volume akhir sediaan.
Pelarut	Etanol	Pelarut zat-zat aktif tertentu yang larut dalam alkohol, memberi efek menyegarkan di mulut, menurunkan titik beku saat formulasi, pengawet pada produk untuk menghindari pertumbuhan mikroba.
Humektan	Gliserin, sorbitol, <i>hydrogenated starch hydrolysate</i> , propilen glikol, <i>xylitol</i>	<i>Polyalcohols</i> rantai pendek yang digunakan untuk mencegah kehilangan air, menambah rasa manis, meningkatkan tekanan osmotik obat kumur untuk mengurangi risiko pertumbuhan mikroba. Humektan dalam kadar tinggi umumnya digunakan pada obat kumur <i>non-alcoholic</i> .
Solubilizer/ emusifier	Poloxamer 407, <i>polysorbate</i> , PEG 40- <i>hydrogenated castor oil</i>	Melarutkan <i>flavoring agent</i> , memberi efek bersih dalam mulut.
Flavoring agent	<i>Sodium saccharin</i> , <i>menthol</i> , <i>oleum menthe</i> , <i>xylitol</i>	Memberi rasa sejuk dan segar, menutupi rasa yang tidak enak dari komponen obat kumur yang lain, mengurangi rasa atau efek terbakar dari pemakaian alkohol dalam obat kumur .
Pengawet	Natrium benzoat, asam benzoat, <i>ethyl paraoxybenzoate</i>	Mencegah kerusakan produk, mencegah pertumbuhan mikro-organisme dalam obat kumur.

Pewarna	FD & C Blue No.1, FD & C Green No 3, CI 14720	Zat warna untuk menambah daya tarik penampilan.
Dapar	Asam sitrat dan garamnya, asam benzoate dan garamnya, Na-fosfat dan Na-difosfat	Menstabilkan pH . Tingkat keasaman atau pH mulut yang baik yang adalah mendekati netral, yakni antara pH 6-7 (Krempels, 2007).
Zat Aktif	Senyawa fenolik, antimikroba, <i>Hexetidine</i> , fluorida, garam zinc, dll	Mencegah dan mengobati bau mulut, mencegah kerusakan gigi dan penyakit periodontal lainnya.

Alkohol berfungsi memberi kesan dan bersih. Jumlah alkohol biasanya berkisar 18%- 26% (Storehagen, 2003). Akibat sampingan dari alkohol adalah mengurangi produksi air liur yang akan memperparah bau mulut dan mengiritasi mukosa yang menyebabkan penebalan jaringan mukosa serta meningkatkan risiko terjadinya kanker mukosa mulut (Farah, 2000). Selain itu alkohol juga dapat mempengaruhi lidah sehingga mengganggu kerja indera pengecap (*Kandungan Obat Kumur*, 2003).

2.5 Komponen dalam formula obat kumur (Duarte, 2006; Mitsui, 1997; Rieger, 2001)

2.5.1 Propilen glikol (Rowe, Sheskey & Owen, 2006)

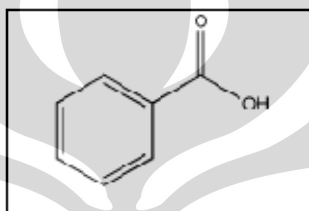


[Sumber : Rowe, Sheskey & Owen, 2006]

Gambar 2.3 Rumus bangun propilen glikol

Propilen glikol (Rumus Molekul : $\text{CH}_3\text{.CHOH.CH}_2\text{OH}$) adalah suatu cairan kental, jernih, higroskopik, tidak berwarna, tidak berbau, dengan rasa yang sedikit manis. Inkompatibel dengan senyawa pengoksidasi dan suhu tinggi. Propilen glikol banyak digunakan pada formulasi sebagai pelarut dan humektan untuk menjaga agar sediaan tidak kehilangan kadar air secara drastis. Sebagai humektan dalam sediaan obat kumur, propilen glikol digunakan pada konsentrasi antara 0,05 % - 1,5 % (Storehagen, 2003).

2.5.2 Asam benzoat



[Sumber : Rowe, Sheskey & Owen, 2006]

Gambar 2.4 Rumus bangun asam benzoat

Asam benzoat merupakan serbuk atau kristal terang, putih atau tidak berwarna. Selain itu, asam benzoat tidak berasa dan tidak berbau atau sedikit berbau khas seperti benzoin. Asam benzoat larut dalam air (1 : 300) dan sangat mudah larut dalam minyak (Rowe, Sheskey & Owen, 2006). Asam benzoat banyak digunakan sebagai pengawet dalam kosmetik, makanan, dan farmasetik. Bersama dengan natrium benzoat, asam benzoat juga dapat berfungsi sebagai dapar. Untuk sediaan obat kumur, konsentrasi asam benzoat digunakan pada rentang 0,01% - 0,5%, dengan rata-rata konsentrasi 0,15% (Storehagen, 2003).

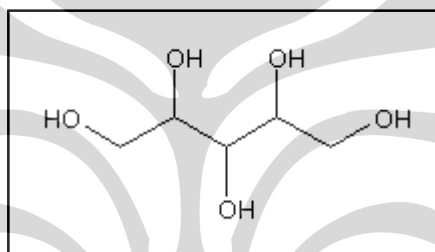
2.5.3 Natrium benzoat (Duarte, 2006; Storehagen, 2003).

Rumus Molekul : $\text{C}_6\text{H}_5\text{.CO}_2\text{Na}$

Pemerian natrium benzoat adalah serbuk putih, agak higroskopis, kristal atau bubuk butiran atau serpih. Tidak berbau atau dengan bau samar benzoin. Kelarutannya yaitu bebas larut dalam air dan larut dalam alkohol. Inkompatibel

dengan senyawa garam besi, garam kalsium, dan garam dari logam berat. Aktivitas antimikroba natrium benzoat yaitu memiliki aktivitas, baik bakteriostatik dan anti jamur. Hal tersebut disebabkan natrium benzoat tak terdisosiasi, maka kemampuan bahan pengawet yang terbaik terlihat pada solusi asam (pH 2-5). Dalam kondisi basa hampir tanpa efek. Bersama dengan asam benzoat, natrium benzoat juga dapat berfungsi sebagai dapar. Untuk sediaan obat kumur, konsentrasi natrium benzoat digunakan pada rentang 0,01% - 0,5%, dengan rata-rata konsentrasi 0,15% (Storehagen, 2003).

2.5.4 *Xylitol* (Storehagen, 2003; *British Pharmacopoeia*, 2007; Rowe, Sheskey & Owen, 2006)



[Sumber : Rowe, Sheskey & Owen, 2006]

Gambar 2.5 Rumus bangun *xylitol*

Rumus kimia *xylitol* adalah $(\text{CHOH})_3(\text{CH}_2\text{OH})_2$.

Kegunaan yaitu sebagai antimikroba, pengawet, humektan, pemanis. Pemerian *xylitol* yaitu granular padat berwarna putih yang terdiri dari kristal, partikel memiliki diameter rata-rata sekitar 0,4 - 0,6 mm. Tidak berbau, dengan rasa manis yang memberi sensasi dingin. *Xylitol* sangat larut dalam air dan etanol 96 %.

Xylitol digunakan sebagai pemanis di berbagai bentuk sediaan farmasi, termasuk tablet, sirup, dan *coating*. *Xylitol* juga banyak digunakan sebagai alternatif sukrosa dalam makanan, permen karet, *mouthrinses*, dan dalam pasta gigi sebagai agen yang menurunkan resiko plak gigi dan kerusakan gigi (*dental caries*). Tidak seperti sukrosa, *xylitol* tidak difermentasi menjadi *cariogenic* asam sebagai produk akhir dan telah terbukti mengurangi gigi karies dengan

menghambat pertumbuhan *Streptococcus cariogenic* bakteri mutan. *Xylitol* memiliki intensitas kemanisan yang sama dengan sukrosa, serta dapat menutupi efek atau rasa yang tidak menyenangkan atau rasa pahit yang terkait dengan penggunaan beberapa zat aktif atau eksipien dalam sediaan.

Untuk sediaan obat kumur, *xylitol* digunakan pada rentang konsentrasi 0,5 % - 10 % (Duarte, 2010).

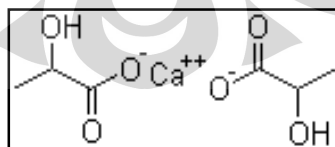
2.5.5 *Oleum menthe* (Duarte, 2010)

Minyak atsiri yang diperoleh dengan penyulingan uap dari bagian tanaman berbunga *Mentha piperita L.* Pemerianaanya yaitu cairan berwarna kuning pucat atau kehijauan-kuning pucat, memiliki bau dan rasa yang khas diikuti dengan sensasi dingin. Kelarutannya yaitu larut dalam alkohol dan dalam metilen klorida. Digunakan sebagai *flavouring agent* dalam sediaan larutan obat kumur.

2.5.6 *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil*

PEG-40 Hydrogenated Castor Oil berfungsi sebagai emulgator non ionik. Pemerianaanya yaitu larutan kental bening dan tidak berbau. Mudah larut dalam air, minyak dan alkohol. *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil* digunakan pada sediaan obat kumur dengan rentang konsentrasi 0,5 % - 2,0 % (Storehagen, 2003).

2.5.7 Kalsium laktat



[Sumber : *Calcium Lactat*, n.d.)

Gambar 2.6 Rumus bangun kalsium laktat

Rumus Molekul : $2(C_3H_5O_3)Ca$, BM : 218.22

Pemerriannya yaitu putih atau hampir putih, kristal atau butiran bedak. Kelarutannya yaitu larut dalam air, bebas larut dalam air mendidih, sangat sedikit larut dalam etanol 96 %.

Dalam kedokteran, kalsium laktat paling sering digunakan sebagai antasid dan juga untuk mengobati kekurangan kalsium. Kalsium laktat yang ditambahkan pada makanan bebas gula bermanfaat untuk mencegah kerusakan gigi. Bila ditambahkan ke sediaan yang mengandung *xylitol*, maka kalsium laktat dapat meningkatkan remineralisasi enamel gigi (Suda, 2006).

2.5.8 Kalium tiosianat

Pemerian kalium tiosianat yaitu tidak berwarna, tidak berbau, kristal dengan sedikit rasa asin. Kelarutannya yaitu larut dalam air (1 : 10). Berfungsi sebagai anti jamur. Kalium tiosianat bersama-sama dengan glukosa oksidase dan laktoperoksidase, memproduksi ion hipotiosianat. Ion ini menghambat produksi asam dan menghambat pertumbuhan bakteri yang dapat menimbulkan plak pada gigi. Oleh karena itu, dapat digunakan sebagai anti karies pada gigi. Kalium tiosianat digunakan pada rentang konsentrasi 0,5 % - 5 % (Storehagen, 2003).

2.5.9 Butil hidroksi anisol (BHA)

Rumus molekul yaitu 2-tert-butyl-4-methoxyphenol.

Pemerian BHA yaitu bubuk kristal putih atau hampir putih atau putih kekuningan dengan sedikit bau khas aromatik. Kelarutannya yaitu mudah larut air. Digunakan sebagai antioksidan. Untuk sediaan yang mengandung minyak atsiri, rentang konsentrasi yang digunakan adalah 0,02 % - 0,5 % (Storehagen, 2003).

2.5.10 Sorbitol 70 % (C₆H₁₄O₆)

Pemerian senyawa ini yaitu cairan putih, higroskopis, tidak berbau dengan rasa yang manis. Larut baik dalam air dan alkohol. Selain sebagai pemanis, dapat juga berfungsi sebagai humektan (Storehagen, 2003).

2.5.11 *Bio-Active Enzyme* (Farah, 2000; Mangundjaja, 2008)

Mengandung empat enzim, yaitu lisozim, laktoferin, glukosa oksidase dan laktoperoksidase. Penelitian menyebutkan bahwa keempat enzim ini dapat membantu memulihkan air liur yang memiliki aktivitas antimikroba alami. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa keempat enzim ini dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutan* yang diuji secara klinis pada saliva responden. Dengan keunggulan tersebut, kini keempat enzim ini digunakan sebagai perawatan pada penderita *xerostomia* (mulut kering), radang gusi, dan *halitosis*. Sediaan larutan obat kumur yang mengandung enzim-enzim ini umumnya tidak mengandung alkohol atau deterjen. Akan tetapi, sediaan ini memiliki pH rendah yang dapat menimbulkan risiko erosi gigi pada pemakaian jangka panjang. Keempat enzim tersebut, yaitu :

1. Laktoferin (Conneely, 2001).

Laktoferin adalah glikoprotein pengikat besi yang terdiri dari satu rantai polipeptida. Laktoferin adalah protein yang banyak terdapat dalam susu manusia dan ditemukan dalam sekresi eksokrin air mata, hidung, air liur, lendir usus dan cairan kelamin. Laktoferin adalah anggota dari keluarga transferin non-heme protein pengikat besi yang berperan dalam pengangkutan protein dalam darah, protein putih telur, ovotransferrin, protein melanosit, melanotransferrin, dan yang baru-baru ini diidentifikasi sebagai inhibitor karbonat anhidrase.

Laktoferin adalah protein multifungsi dengan beberapa fungsi fisiologis, seperti pengaturan dan penyerapan zat besi dalam usus, promosi pertumbuhan sel usus, perlindungan terhadap infeksi mikroba, pengaturan *myelopoiesis* dan respon imun sistemik.

2. Lisozim (*Lysozyme*, 2008)

Lisozim, juga dikenal sebagai *muramidase* atau *N-acetylmuramide glycanhydrolase*, adalah sebuah keluarga enzim (EC 3.2.1.17) yang memiliki aktivitas katalitik merusak dinding sel bakteri. Aktivitas katalitik ini adalah non-spesifik ditargetkan ke membran sel bakteri.

Lisozim ditemukan berlimpah di sejumlah cairan, seperti air mata, air liur, air susu manusia dan lendir. Lisozim dalam jumlah besar dapat ditemukan dalam putih telur.

Dalam virus atau bakteriofag, lisozim digunakan sebagai agen untuk masuk ke sel bakteri inang. Lisozim dari ekor virus atau bakteriofag merusak peptidoglikan dinding sel bakteri dan virus dapat menyuntikkan DNA-nya. Setelah multiplikasi bakteri, banyak molekul lisozim terbentuk yang kemudian melisiskan dinding sel bakteri dan melepaskan virus baru.

3. Glukosa oksidase

Glukosa oksidase adalah enzim diperoleh dari jamur tertentu yang mengkatalisis oksidasi glukosa menjadi asam glukonat, dengan produksi sampingnya yaitu hidrogen peroksida. Digunakan sebagai bahan pengawet dan profilaksis terhadap karies gigi. Enzim ini juga diklaim dapat mengurangi radang gusi dan plak, tetapi efek ini masih harus diteliti lebih lanjut. Untuk sediaan perawatan mulut, glukosa oksidase digunakan sebanyak 10.000 unit per 100 gram (Storehagen, 2003).

4. Laktoperoksidase

Laktoperoksidase adalah suatu glikoprotein dengan satu kelompok prostetik hemin. Laktoperoksidase dan kofaktornya membentuk sistem laktoperoksidase (LPS). Sistem ini adalah pengawet alami, yang memiliki aktivitas antibakteri. Enzim ini digunakan sebagai bahan pengawet. Untuk sediaan perawatan mulut, laktoperoksidase digunakan sebanyak 10.000 unit per 100 gram (Storehagen, 2003).

2.5.12 Enzim papain (Storehagen, 2003)

Enzim papain merupakan hasil olahan yang diperoleh dengan mengolah batang, daun dan buah pepaya muda yang terkenal akan khasiatnya sebagai pelunak daging. Hal ini disebabkan karena papain merupakan enzim protease, yaitu biokatalis dalam reaksi hidrolisis protein. Berdasarkan aktivitas protease enzim papain tersebut, papain banyak dimanfaatkan dalam bidang industri tekstil,

kosmetik, bir, dan farmasi. Papain pun bisa digunakan sebagai bahan pembuat pasta gigi, sebab bisa membersihkan sisa makanan yang melekat di gigi dan lidah.

Ada beberapa keuntungan dalam penggunaan enzim papain ini, yakni tidak bersifat toksik, tak ada reaksi samping, tidak mengubah tekanan, suhu dan pH yang drastis, dan pada konsentrasi rendah sudah bisa berfungsi baik.

2.5.13 Aquadest

Aquadest merupakan air murni yang diperoleh dengan penyulingan. Air murni diperoleh dengan penyulingan, cara pertukaran ion, osmosis terbalik atau cara lain yang sesuai. Dibandingkan dengan air minum biasa, air murni lebih bebas dari kotoran zat-zat padat. Air murni dimaksudkan untuk penggunaan dalam pembuatan bentuk-bentuk sediaan yang mengandung air, kecuali dimaksudkan untuk pemberian parenteral (Ansel, 1989).

Pembuatan larutan obat kumur (obat kumur) umumnya dilakukan dalam tiga langkah. Pertama, membuat fase larut air yaitu dengan melarutkan bahan-bahan yang larut dalam air. Langkah berikutnya, melarutkan bahan-bahan yang kurang larut dalam air dengan pelarut organik yang sesuai ditambah dengan emulsifier. Kemudian, kedua fase ini digabungkan. Hal yang harus diperhatikan adalah proses pelarutan dapat dikatakan baik apabila jumlah larutan yang lebih kecil (fase minyak) dapat ditambahkan ke dalam jumlah larutan yang lebih besar (fase air). Langkah terakhir adalah penyaringan (filtrasi) yang dimaksudkan agar sediaan yang dibuat lebih jernih (Rieger, 2001).

Obat kumur bisa berakibat kurang baik bagi kesehatan mulut, terutama jika dipakai berlebihan. Umumnya obat kumur mengandung antiseptik, yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme penyebab bau mulut. Penggunaan obat kumur secara terus menerus dapat menyebabkan terganggunya flora normal di dalam mulut yang dapat menimbulkan masalah mulut lain.

2.6 Minyak atsiri Temulawak (*Curcuma xanthorriza*) (Jae-Kwan Hwang, 2004; *Temulawak Extract*, n.d.; *Materia Medika Indonesia*, 1977)

Berdasarkan taksonominya, temulawak diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: <i>Curcuma</i>
Jenis	: <i>Curcuma xanthorriza</i> L.

Pada tahun 2005, temulawak dinyatakan sebagai tanaman obat unggulan nasional. Di antara tumbuhan obat Indonesia temulawak memang yang paling banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional, ada sekitar 50 jenis jamu mengandung temulawak untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit.

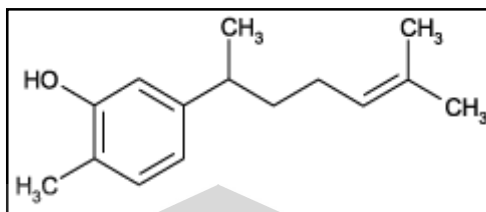
Temulawak sudah dikenal sejak permulaan abad XVI dan popularitasnya terus meningkat seiring dengan manfaat serta hasil penelitian khasiatnya. Di Eropa temulawak sudah dikenal sejak akhir abad XVI dan saat ini menjadi salah satu bahan dasar untuk fitoterapi di beberapa negara Eropa. Sejak 40 tahun terakhir ini, berbagai penelitian telah mengungkap rahasia khasiat temulawak.

Dari hasil penelitian, diketahui bahwa khasiat temulawak terutama disebabkan oleh dua kelompok kandungan kimia utamanya, yaitu senyawa berwarna kuning golongan kurkuminoid dan minyak atsiri.

Kurkuminoid temulawak ini terdiri atas dua jenis senyawa yaitu kurkumin dan desmetoksikurkumin yang berkhasiat menetralkan racun, menghilangkan rasa nyeri sendi, meningkatkan sekresi empedu, menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida darah, antibakteri, serta dapat mencegah terjadinya pelemakan dalam sel-sel hati dan sebagai antioksidan penangkal senyawa-senyawa radikal yang berbahaya. Kurkuminoid secara klinis berkhasiat mencegah penyakit jantung koroner dan meningkatkan daya tahan tubuh dan mencegah penggumpalan darah.

Minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* mengandung $\pm 30\%$ *xanthorrhizol*, yaitu senyawa *fenolic sesquiterpen* yang ditemukan pada temulawak jenis khusus.

Xanthorrhizol adalah salah satu komponen minyak atsiri yang pada percobaan in vitro berkhasiat mengobati kanker payudara, paru-paru dan ovarium, serta sebagai antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antijamur, serta antitumor.



[Sumber : Enzo Life Sciences, 2010]

Gambar 2.7 Rumus bangun *xanthorrhizol*

Penelitian terbaru mengenai efek farmakologis *xanthorrhizol* membuktikan bahwa *xanthorrhizol* merupakan antibakteri yang poten melawan *Streptococcus mutan* dan patogen oral lainnya dalam mencegah rusaknya email gigi (mencegah plak/*caries*) dan periodontitis. Dengan berbagai khasiat tersebut, minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* dimana terkandung *xanthorrhizol* didalamnya, sangat ideal untuk diformulasikan ke dalam produk pasta gigi dan obat kumur. Untuk sediaan obat kumur, konsentrasi *xanthorrhizol* umumnya digunakan pada rentang 0,0001% hingga 0,1% (Jae-Kwan Hwang, 2004).

2.7 Kadar Hambat Minimum Antimikroba (Jawelz, 1995; Mikrobiologi Kedokteran, 1994; Radji, 2004)

Antimikroba ialah zat-zat yang dapat menghambat atau membasmi kuman (mikroorganisme). Antimikroba yang ideal sebagai obat kumur harus memenuhi syarat-syarat berikut :

1. Mempunyai kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang luas.
2. Tidak menimbulkan terjadinya resistensi dari mikroorganisme patogen.
3. Tidak menimbulkan pengaruh samping yang buruk pada *host*, seperti reaksi alergi, kerusakan saraf, iritasi lambung, dan sebagainya.

4. Tidak mengganggu keseimbangan flora yang normal dari *host*, seperti flora usus atau flora mulut.

Untuk memeriksa baik tidaknya bahan-bahan yang digunakan untuk antimikroba dalam industri, rumah sakit maupun dalam laboratorium, maka perlu dilakukan tes. Salah satunya yaitu uji Konsentrasi Hambat Minimum atau *Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test*. MIC adalah konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Kadar minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme juga disebut Kadar Hambat Minimum (KHM).

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antimikroba dapat meningkat aktivitasnya dari bakteriostatik menjadi bakterisid, apabila kadar antimikrobanya ditingkatkan lebih besar dari MIC tersebut.

Suatu antimikroba dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi bila MIC terjadi pada kadar rendah tetapi mempunyai daya bunuh atau daya hambat yang besar. Efektivitas daya hambat atau daya bunuh antimikroba sangat tergantung pada jumlah dan kekuatan zat aktifnya.

Metode umum dalam uji KHM antara lain :

1. Metode Lempeng (silinder/kertas cakram)

Metode lempeng didasarkan pada difusi antibiotik dari silinder yang dipasang tegak lurus pada lapisan agar padat dalam cawan petri atau lempeng yang berisi biakan mikroba uji pada jumlah tertentu. Sediaan antibiotika menghambat pertumbuhan mikroba yang ada pada lempeng agar.

Metode lempeng menggunakan antimikroba dengan kadar yang meningkat secara bertahap pada medium padat yang kemudian medium padat tersebut diinokulasi dengan bakteri uji dan diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Cara melakukan metode lempeng yaitu cakram kertas saring yang telah diberikan sejumlah tertentu obat kemudian diletakkan secara teratur pada permukaan

medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Diameter zona hambatan sekitar cakram yang terbentuk setelah diinkubasi dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji.

2. Metode Dilusi

Pada suatu konsentrasi tertentu, antimikroba mempunyai efek menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pertumbuhan organisme tersebut ditandai dengan adanya kekeruhan pada media yang digunakan. Pada kadar tertentu, dimana pertumbuhan mikroorganisme terhambat oleh jumlah antimikroba yang sesuai, tidak terjadi kekeruhan pada media. Dengan metode pengenceran, dapat dilihat pada konsentrasi berapa antimikroba tersebut mempunyai efek menghambat pertumbuhan melalui pengamatan intensitas kekeruhan yang terjadi setelah inkubasi 18 – 24 jam pada suhu 37°C pada setiap tabung berisi media yang telah ditambahkan inokulum dengan konsentrasi yang sama di setiap tabung.

Untuk mengetahui kadar ini, diperlukan gradasi konsentrasi antimikroba terhadap konsentrasi kuman (mikroorganisme) yang sama. Bila pada konsentrasi tertentu yang paling kecil dimana media dalam tabung terlihat jernih, maka konsentrasi terkecil itulah yang ditetapkan sebagai kadar hambat minimal.

Dalam hal menentukan kejernihan, diperlukan kontrol media sebagai pembanding yang akan menunjukkan warna asli media. Kontrol media dapat menjadi keruh jika dalam prosedur percobaan terjadi kontaminasi. Hal ini harus dihindari karena akan mengaburkan hasil pengamatan.

Selain itu, diperlukan pula kontrol mikroorganisme untuk membandingkan intensitas kekeruhan yang terjadi pada tabung berisi suspensi mikroorganisme tanpa penambahan antimikroba. Tabung kontrol mikroorganisme ini intensitas kekeruhannya paling tinggi karena mikroorganisme dapat tumbuh tanpa adanya antimikroba.

Pada penelitian ini, metode yang digunakan adalah metode dilusi. Metode ini cukup ideal dalam uji penentuan KHM karena perubahan kekeruhan dapat langsung terlihat jelas. Pertimbangan lain yaitu bentuk sediaan yang akan dibuat cenderung berwarna keruh sampai jernih. Selain itu, dikhawatirkan enzim yang terkandung dalam sediaan akan tersaring oleh cakram pada metode lempeng.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika dan Mikrobiologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia selama bulan Februari 2010 hingga November 2010.

3.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, timbangan analitik tipe 210-LC (ADAM, Amerika Serikat), pH meter tipe 510 (Eutech Instrument, Singapura), mikroskop (EUROMEX, Holland), lemari pendingin, *Hotplate* (Torrey Pines Scientific, USA), autoklaf (Hirayama, Jepang), oven (Lab-line, USA dan WTB Binder, Jerman), alat-alat gelas, kamera digital (Olympus μ Tough 6020), Ose, alat Vortex (Health, Digisystem, Taiwan), *Laminar Air Flow* (LAF) *Cabinet* (Esco, Cina), *Anaerobic jar* (OXOID), pipet pengencer (Eppendorf), penangas air, sengkelit, pinset, lampu spiritus, dan alat-alat lain yang biasa dipergunakan dalam Laboratorium Farmasetika dan Mikrobiologi.

3.3 Bahan

Minyak atsiri Temulawak (*Curcuma xanthorriza*) (diperoleh dari PT. Insular, Indonesia), propilen glikol, asam benzoat, natrium benzoat, *xylitol* (Sigma-Aldrich), *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil* (diperoleh dari PT. Cognis, Indonesia), Butil hidroksi anisol (BHA), *oleum menthe*, kalium tiosianat (Sigma-Aldrich), sorbitol 70 %, enzim (laktoferin, lisozim, glukosa oksidase, laktoperoksidase, enzim papain) yang diperoleh dari Sigma-Aldrich, aquadest, kuman standar (*Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, diperoleh dari Fakultas

Kedokteran Gigi Universitas Indonesia), kaldu Tioglikolat, NaCl fisiologis 0,9 %, Suspensi Mc Farland I, *Gas pack* (OXOID).

3.4 Cara Kerja

Prosedur yang akan dikerjakan pertama kali adalah pembuatan sediaan obat kumur dengan komposisi formulasi yang tertera pada Tabel 3.1. Kemudian dilakukan uji pendahuluan terhadap sediaan tersebut yaitu pengamatan organoleptis dan pemeriksaan pH.

Langkah selanjutnya adalah rangkaian uji Kadar Hambat Minimal (KHM) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* sebagai berikut :

1. Minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* → Uji KHM
2. Formula obat kumur yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* → Uji KHM
3. Formula obat kumur yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* dan *bio-active enzyme* (lisozim, glukosa oksidase, laktoferin, laktoperoksidase) → Uji KHM
4. Formula obat kumur yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* dan enzim papain → Uji KHM
5. Formula obat kumur yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorriza*, enzim papain, dan *bio-active enzyme* (lisozim, glukosa oksidase, laktoferin, laktoperoksidase) → Uji KHM

Tahap selanjutnya adalah pengujian masing-masing formula sediaan obat kumur tersebut terhadap kestabilannya secara fisik pada penyimpanan suhu kamar, suhu tinggi, suhu rendah, dan *cycling test*.

3.4.1 Formulasi dan pembuatan sediaan obat kumur

3.4.1.1 Formulasi obat kumur

Formulasi obat kumur dalam penelitian ini terdiri dari sediaan obat kumur yang mengandung perbedaan sebagai berikut :

- Formula Obat Kumur 1 : tidak ditambahkan enzim.
 Formula Obat Kumur 2 : ditambahkan enzim laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, lisozim.
 Formula Obat Kumur 3 : ditambahkan enzim papain.
 Formula Obat Kumur 4 : ditambahkan enzim laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, lisozim dan papain.

Rancangan formulasi dijelaskan sebagai berikut :

Tabel 3.1 Komposisi bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan obat kumur
 (Storehagen, 2003; Duarte 2006)

Bahan	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4
Minyak atsiri temulawak	10 ⁻³ ml	10 ⁻³ ml	10 ⁻³ ml	10 ⁻³ ml
Propilen glikol	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
<i>PEG-40 Hydrogenated</i>	1 gram	1 gram	1 gram	1 gram
<i>Castor Oil</i>				
<i>Oleum menthe</i>	10 tetes	10 tetes	10 tetes	10 tetes
Asam benzoat	5 mg	5 mg	5 mg	5 mg
Natrium benzoat	2 gram	2 gram	2 gram	2 gram
Kalsium laktat	50 mg	50 mg	50 mg	50 mg
Kalium tiosianat	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
<i>Xylitol</i>	300 mg	300 mg	300 mg	300 mg
Sorbitol 70 %	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml
Laktoperoksidase	-	0,05 mg/ml	-	0,05 mg/ml
Laktoferin	-	0,4 mg/ml	-	0,4 mg/ml
Glukosa oksidase	-	20 mg	-	20 mg
Lisozim	-	50 mg	-	50 mg
Papain	-	-	300 mg	300 mg
Butil hidroksi anisol	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg
Aquadest	ad 100 ml	ad 100 ml	ad 100 ml	ad 100 ml

3.4.1.2 Pembuatan Obat Kumur

Pembuatan Obat Kumur formula 1 :

- a. Pembuatan fase larut air yaitu dengan dilarutkannya bahan-bahan yang larut dalam air masing-masing, seperti *xylitol*, kalsium laktat, dan kalium tiosianat. Kemudian larutan-larutan tersebut dilarutkan bersama-sama sampai homogen.
- b. Bahan-bahan yang kurang larut dalam air (asam benzoat, minyak atsiri temulawak, butil hidroksi anisol) dilarutkan dengan *oleum menthe*.
- c. Kemudian, bahan (b) diemulsikan dengan *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil*. Kemudian propilen glikol ditambahkan sedikit demi sedikit dan diaduk hingga homogen.
- d. Bahan (a) ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam bahan (c) sambil diaduk hingga homogen. Kemudian sorbitol 70 % ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam sediaan, setelah itu diaduk hingga homogen.
- e. Natrium benzoat dilarutkan dengan air ad. larut homogen, setelah itu ditambahkan ke bahan (d) hingga mencapai pH 6-7 (pH didapat dengan natrum benzoat).

Pembuatan Obat Kumur formula 2 :

- a. Pembuatan fase larut air yaitu dengan dilarutkannya bahan-bahan yang larut dalam air masing-masing, seperti *xylitol*, kalsium laktat, dan kalium tiosianat. Kemudian larutan-larutan tersebut dilarutkan bersama-sama sampai homogen.
- b. Bahan-bahan yang kurang larut dalam air (asam benzoat, minyak atsiri temulawak, butil hidroksi anisol) dilarutkan dengan *oleum menthe*.
- c. Kemudian, bahan (b) diemulsikan dengan *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil*. Kemudian propilen glikol ditambahkan sedikit demi sedikit dan diaduk hingga homogen.
- d. Bahan (a) ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam bahan (c) sambil diaduk hingga homogen. Kemudian sorbitol 70 % ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam sediaan, setelah itu diaduk hingga homogen.
- e. Enzim-enzim (laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, lisozim) dilarutkan masing-masing dengan aquadest lalu ditambahkan ke dalam bahan (d).

- f. Natrium benzoat dilarutkan dengan air ad. larut homogen, setelah itu ditambahkan ke bahan (e) hingga mencapai pH 6-7.

Pembuatan Obat Kumur formula 3 :

- a. Pembuatan fase larut air yaitu dengan dilarutkannya bahan-bahan yang larut dalam air masing-masing, seperti *xylitol*, kalsium laktat, dan kalium tiosianat. Kemudian larutan-larutan tersebut dilarutkan bersama-sama sampai homogen.
- b. Bahan-bahan yang kurang larut dalam air (asam benzoat, minyak atsiri temulawak, butil hidroksi anisol) dilarutkan dengan *oleum menthe*.
- c. Kemudian, bahan (b) diemulsikan dengan *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil*. Kemudian propilen glikol ditambahkan sedikit demi sedikit dan diaduk hingga homogen.
- d. Bahan (a) ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam bahan (c) sambil diaduk hingga homogen. Kemudian sorbitol 70 % ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam sediaan, setelah itu diaduk hingga homogen.
- e. Enzim papain dilarutkan dengan aquadest lalu ditambahkan ke dalam bahan (d).
- f. Natrium benzoat dilarutkan dengan air ad. larut homogen, setelah itu ditambahkan ke bahan (e) hingga mencapai pH 6-7.

Pembuatan Obat Kumur formula 4 :

- a. Pembuatan fase larut air yaitu dengan dilarutkannya bahan-bahan yang larut dalam air masing-masing, seperti *xylitol*, kalsium laktat, dan kalium tiosianat. Kemudian larutan-larutan tersebut dilarutkan bersama-sama sampai homogen.
- b. Bahan-bahan yang kurang larut dalam air (asam benzoat, minyak atsiri temulawak, butil hidroksi anisol) dilarutkan dengan *oleum menthe*.
- c. Kemudian, bahan (b) diemulsikan dengan *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil*. Kemudian propilen glikol ditambahkan sedikit demi sedikit dan diaduk hingga homogen.
- d. Bahan (a) ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam bahan (c) sambil diaduk hingga homogen. Kemudian sorbitol 70 % ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam sediaan, setelah itu diaduk hingga homogen.

- e. Enzim-enzim (laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, lizozim, papain) dilarutkan masing-masing dengan aquadest lalu ditambahkan ke dalam bahan (d).
- f. Enzim Papain dilarutkan dengan aquadest lalu ditambahkan ke dalam bahan (e).
- g. Natrium benzoat dilarutkan dengan air ad. larut homogen, setelah itu ditambahkan ke bahan (f) hingga mencapai pH 6-7.

3.4.2 Penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

3.4.2.1 Pembuatan larutan natrium klorida 0,9 %

Sebanyak 9 g natrium klorida dilarutkan dalam 1 L aquadest. Larutan disterilkan dengan autoklaf 121°C selama 15 menit.

3.4.2.2 Pemiakkan bakteri pada medium kaldu Tioglikolat.

Pembuatan medium kaldu Tioglikolat :

- a. Menimbang Tioglikolat sebanyak 29 gram untuk 1 liter aquadest.
- b. Kemudian bahan (a) dilarutkan ke dalam aquadest sesuai dengan volume yang tertera pada Erlenmeyer.
- c. Bahan (b) dipanaskan diatas *hotplate* sampai larut dengan baik.
- d. Sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf, cairan medium (bahan c) dipindahkan ke tabung-tabung. Lalu tabung tersebut ditutup dengan kapas yang kemudian di masukkan kedalam beaker besar yang telah ditutup dengan aluminium foil dan dibungkus dengan kertas coklat, lalu diikat dengan karet.
- e. Tabung- tabung tersebut (bahan d) kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
- f. Setelah bahan (e) diangkat dari autoklaf, ditunggu sampai dengan suhu menurun hingga 30°C. Medium yang telah siap dan tidak akan segera digunakan kemudian disimpan didalam lemari pendingin (suhu 8-10°C).

Pembiakan bakteri *Porphyromonas gingivalis* :

- a. Bakteri standar yang sudah tersedia dalam medium agar darah, diambil menggunakan sengkeli kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi cairan NaCl 0,9 %, lalu divortex hingga homogen.
- b. Setelah itu, bakteri dibiakkan dalam medium kaldu Tioglikolat yang sudah disiapkan dengan cara mencelupkan bakteri menggunakan sengkeli, lalu divortex kembali hingga homogen.
- c. Kemudian, perbenihan cair dieram dalam *anaerobic jar* bersama *gas pack* lalu ditutup rapat agar menciptakan suasana anaerob dan disimpan pada suhu 37°C selama 2x24 jam.

3.4.2.3 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan suatu tindakan untuk konfirmasi bakteri Gram positif dan Gram negatif. Cara konfirmasi bakteri dilakukan dengan cara, pertama-tama *glass object* ditandai dengan pensil warna, kemudian koloni diambil dari biakan agar dengan sengkeli. Selanjutnya, koloni bakteri tersebut dilarutkan dengan NaCl untuk memfiksasi jaringan. Selain itu, bakteri juga diambil dari perbenihan cair untuk identifikasi bakteri. Kemudian sediaan koloni bakteri tersebut diwarnai dengan larutan karbol kristal ungu dan dibiarkan selama 5 menit. Setelah itu dicuci dengan air. Kemudian, cairan lugol dituangkan ke sediaan dan dibiarkan selama 45-60 detik, kemudian dicuci dengan air kembali. Selanjutnya, sediaan kembali dicuci dengan alkohol dengan cara mencelupkan ke dalam bejana yang berisi alkohol 96% dan digoyang-goyangkan selama 30 detik, atau hingga zat warna tidak mengalir lagi. Kemudian sediaan kembali dicuci dengan air lalu dituangkan larutan Fukhsin dan dibiarkan selama 1-2 menit. Sediaan kembali dicuci dengan air dan dikeringkan dengan kertas saring atau sediaan pada *glass object* dapat dilewatkan di atas api. Setelah *glass object* diteteskan minyak immersi, *glass object* kemudian dilihat melalui mikroskop hingga bakteri terlihat jelas.

3.4.2.4 Penyetaraan bakteri dengan standar Mc. Farland

Setelah dilakukan pembiakan bakteri selama 2x24 jam, tabung reaksi dilihat kekeruhannya. Tingkat kekeruhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dalam media cair dibandingkan dengan standar Mc. Farland dengan metode visual. Tabung reaksi yang berisi kultur bakteri diletakkan sejajar dengan tabung Mc. Farland, lalu didapatkan tingkat kekeruhan tabung reaksi yang sama dengan tabung standar Mc. Farland I (3×10^8 CFU/ml).

3.4.2.5 Pengenceran Bakteri

1. NaCl 0,9 % 9,9 ml dicampurkan dengan bakteri 0,1 ml dalam tabung reaksi pertama untuk mendapatkan pengenceran 100 x (konsentrasi kuman 3×10^6 CFU/ml).
2. Kemudian 0,1 ml larutan pada tabung reaksi pertama dicampurkan ke dalam tabung reaksi kedua yang berisi NaCl 0,9 % 9,9 ml (pengenceran 10000 x dengan konsentrasi kuman 3×10^4 CFU/ml).
3. Kemudian 2 ml larutan pada tabung reaksi kedua dicampurkan ke dalam tabung reaksi ketiga yang berisi NaCl 0,9 % 8 ml (konsentrasi kuman 6000 CFU/ml).
4. Tabung-tabung yang berisi bakteri tersebut kemudian di vortex hingga homogen, lalu mulut tabung ditutup dengan kapas.

3.4.2.6 Pengenceran minyak atsiri temulawak dan sediaan obat kumur

1. Pembuatan larutan stok minyak atsiri temulawak.
Minyak atsiri sebanyak 128 μ l diencerkan dengan DMSO ad 10 ml. Lalu kembali dilakukan pengenceran hingga konsentrasi minyak menjadi 0,128 μ l dalam 1 ml DMSO.
2. Pengenceran larutan stok minyak dan formula obat kumur.
Konsentrasi 100 % larutan stok minyak atau formula masing-masing dibagi menjadi 9 konsentrasi :

10 % : 0,1 ml formula/larutan stok minyak dalam 0,9 ml media kaldu Tioglikolat
20 % : 0,2 ml formula/larutan stok minyak dalam 0,8 ml media kaldu Tioglikolat
30 % : 0,3 ml formula/larutan stok minyak dalam 0,7 ml media kaldu Tioglikolat
40 % : 0,4 ml formula/larutan stok minyak dalam 0,6 ml media kaldu Tioglikolat
50 % : 0,5 ml formula/larutan stok minyak dalam 0,5 ml media kaldu Tioglikolat
60 % : 0,6 ml formula/ larutan stok minyak dalam 0,4 ml media kaldu Tioglikolat
70 % : 0,7 ml formula/ larutan stok minyak dalam 0,3 ml media kaldu Tioglikolat
80 % : 0,8 ml formula/ larutan stok minyak dalam 0,2 ml media kaldu Tioglikolat
90 % : 0,9 ml formula/ larutan stok minyak dalam 0,1 ml media kaldu Tioglikolat

3.4.2.7 Uji Kadar Hambat Minimal (KHM) dengan metode dilusi

1. Bakteri yang telah dilakukan penyetaraan dan pengenceran ditetaskan sebanyak 1 ml (6000 CFU/ml) ke dalam tabung reaksi pada masing-masing konsentrasi.
2. Membuat kontrol kuman.
Inokulasi bakteri 1 ml (6000 CFU/ml) ke dalam media kaldu Tioglikolat sebanyak 1 ml, sehingga larutan berwarna keruh.
Membuat kontrol media : 2 ml media kaldu Tioglikolat tanpa inokulasi bakteri sehingga larutan berwarna jernih.
Kontrol media + formula/larutan stok minyak : konsentrasi 50 % formula/larutan stok minyak dalam media kaldu Tioglikolat tanpa inokulasi bakteri.
3. Berbagai tabung reaksi tersebut kemudian dieram dalam *anaerob jar* selama 2x24 jam pada suhu 37°C.
4. Setelah 48 jam, pertumbuhan bakteri dapat ditentukan. Setelah dilakukan perbandingan dengan kontrol negatif (kontrol media + formula/larutan stok minyak), kekeruhan yang terlihat pada tabung reaksi menunjukkan masih adanya pertumbuhan bakteri.

3.4.3 Evaluasi sediaan obat kumur

3.4.3.1 Pengamatan organoleptis

Penampilan pada sediaan diamati bau, warna, dan kejernihan.

3.4.3.2 Pemeriksaan pH (*Farmakope Indonesia*, 1995)

Nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter. Mula-mula dilakukan kalibrasi elektrode terlebih dahulu dengan menggunakan dapar standar pH 4 dan 7. pH sediaan obat kumur yang baik ialah mendekati pH mulut yang netral, yakni antara pH 6-7.

3.4.3.3 Uji stabilitas fisik sediaan (*Guidance*, 2003)

1. Penyimpanan pada suhu kamar

Pengujian stabilitas sediaan meliputi kondisi fisik (bau, warna, kejernihan) dan pH dievaluasi pada suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

2. Penyimpanan pada suhu tinggi

Pengujian stabilitas sediaan meliputi kondisi fisik (bau, warna, kejernihan) dan pH dievaluasi pada suhu $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 8 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3. Penyimpanan pada suhu rendah

Pengujian stabilitas sediaan meliputi kondisi fisik (bau, warna, kejernihan) dan pH dievaluasi pada suhu $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 8 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

4. *Cycling test*

Sediaan larutan obat kumur disimpan pada suhu $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus. Kondisi fisik dan pH sediaan dibandingkan sebelum dan sesudah uji tersebut dilakukan.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Formula Obat Kumur

Formula Obat Kumur dapat dilihat pada Tabel 3.1

4.1.2 Evaluasi Sediaan

Hasil evaluasi sediaan pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Tabel 4.1 , yang meliputi:

a. Pengamatan organoleptis

Pengamatan organoleptis keempat formula sediaan dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan foto pengamatan organoleptis pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Gambar 4.1, 4.4, 4.7, dan 4.10.

b. Pemeriksaan pH

pH sediaan obat kumur pada minggu ke-0 untuk tiap-tiap formula secara berturut-turut adalah 6,33; 6,21; 6,30; dan 6,18.

4.1.3 Pengujian stabilitas fisik

Pengujian stabilitas fisik sediaan dilakukan dengan melakukan penyimpanan sediaan obat kumur pada suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), kemudian diamati perubahan pH dan kondisi fisik pada sediaan setelah penyimpanan selama 8 minggu. Kondisi fisik sediaan meliputi pengamatan organoleptis yaitu warna, kejernihan dan bau dari sediaan. Selain itu, juga dilakukan *cycling test* sebanyak 6 siklus selama 12 hari.

1) Pengamatan organoleptis

Pengamatan organoleptis keempat formula sediaan dapat dilihat pada Tabel 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 dan foto pengamatan organoleptis keempat formula sediaan dapat dilihat pada Gambar 4.3, 4.6, 4.9, 4.12.

2) Pengukuran pH

Selama 8 minggu, pemeriksaan pH sediaan obat kumur tidak menunjukkan pH yang tetap, akan tetapi terjadi penurunan pH. Hasil pengukuran pH sediaan obat kumur pada suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu dapat dilihat pada Tabel 4.3, 4.4, 4.5, 4.6.

3) Hasil *cycling test*

Hasil pengamatan *cycling test* dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan foto pengamatannya dapat dilihat pada Gambar 4.2, 4.5, 4.8, 4.11.

4.1.4 Konfirmasi *Porphyromonas gingivalis* dengan pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang diteliti dengan mikroskop menghasilkan konfirmasi bahwa sampel bakteri yang digunakan adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hal ini dibuktikan dengan terlihatnya bakteri berbentuk batang pendek dan memiliki bercak hitam sebagai ciri khasnya. Warna merah akibat pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri merupakan bakteri Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 4.16.

4.1.5 Uji Aktivitas Antibakteri *Porphyromonas gingivalis*

Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dengan menguji Kadar Hambat Minimal (KHM) keempat formula obat kumur dengan metode dilusi. Hasil uji KHM dapat dilihat pada Tabel 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 dan foto pengamatan hasil uji KHM dapat dilihat pada Gambar 4.18, 4.19, 4.20, 4.21, 4.22.

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini peneliti bermaksud untuk membuat formulasi suatu sediaan obat kumur yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* yang kemudian diuji aktivitas antimikroba dari formula tersebut terhadap bakteri penyebab bau mulut yaitu *Porphyromonas gingivalis* serta menguji stabilitas fisik sediaan larutan obat kumur tersebut pada penyimpanan suhu-suhu tertentu, yakni suhu kamar, suhu tinggi, suhu rendah, dan *cycling test*. Peneliti berharap kedepannya keempat formula obat kumur tersebut dapat diindikasikan untuk menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dalam mulut yang berperan besar dalam mengakibatkan penyakit periodontitis yang juga disertai dengan munculnya bau mulut.

Adapun zat aktif yang sangat diunggulkan dalam formula-formula obat kumur ini adalah minyak atsiri temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang mengandung senyawa *xanthorrhizol* didalamnya. *Xanthorrhizol* yang merupakan senyawa *fenolic sesquiterpen* sangat efektif sebagai antibakteri.

Selain minyak atsiri temulawak, peneliti juga menambahkan variasi enzim kedalam berbagai formula obat kumur. Hal ini dimaksudkan untuk melihat adanya variasi aktivitas antibakteri yang dapat terlihat dari adanya perbedaan nilai KHM dari masing-masing formula.

Keempat enzim masing-masing laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, dan lisozim merupakan agen antibakteri alami yang umumnya sudah dimiliki oleh tubuh kita. Penambahan enzim-enzim tersebut kedalam beberapa formula dimaksudkan untuk menambah daya antibakteri formula yang sebelumnya diperankan oleh minyak atsiri temulawak. Selain itu, penambahan enzim-enzim tersebut juga dapat menambah efektifitas obat kumur. Kombinasi kalium tiosianat dengan glukosa oksidase dan laktoperoksidase pada formula obat kumur 2 dan 4 dapat memproduksi ion hipotiosianat. Ion ini menghambat produksi asam dan menghambat pertumbuhan bakteri yang dapat menimbulkan plak pada gigi. Oleh karena itu, formula obat kumur 2 dan 4 dapat digunakan sebagai anti karies pada gigi. Sedangkan penambahan lisozim dalam formula obat kumur 2 dan 4 dapat menambah produksi air liur pada mulut sehingga efektif

untuk pengobatan penyakit mulut kering atau *xerostomia*. Adapun penambahan laktoferin pada sediaan dapat berfungsi sebagai antiinflamasi sehingga dapat mengurangi peradangan pada mulut yang terluka, misalnya sariawan.

Penambahan enzim papain pada formula 3 dan 4 dimaksudkan untuk menambah daya proteolitik obat kumur. Seringkali kita temukan bekas makanan yang umumnya mengandung protein tertinggal di rongga mulut dan sela-sela gigi kita. Papain berfungsi sebagai agen *non-abrasive* alami yang dapat merombak protein-protein tersebut sehingga mudah di keluarkan dari mulut.

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode pengenceran atau dilusi dan dilihat nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dari masing-masing formula obat kumur. Sebagai perbandingan, dilakukan pula uji KHM terhadap minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* untuk mengetahui berapa nilai KHM dari minyak atsiri tersebut bila diberikan tanpa formula. Nilai KHM dari minyak tersebut juga dapat digunakan untuk mengkonfirmasi kadar minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* yang peneliti gunakan yakni 1 μ l dalam 100 ml sediaan formula. Kadar tersebut digunakan berdasarkan informasi dari Lampiran 4.2 dan Tinjauan Pustaka mengenai *xanthorrhizol* (Jae-kwan Hwang, 2004).

4.2.1 Pembuatan Sediaan

Pada penelitian ini dibuat sediaan obat kumur dalam empat variasi formula. Variasi formula ini dimaksudkan untuk membandingkan aktivitas antibakteri dari masing-masing formula tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*.

Dalam penelitian ini, digunakan formula dasar obat kumur yang terdiri dari butil hidroksi anisol (BHA), *oleum menthe*, asam benzoat, natrium benzoat, propilen glikol, *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil*, kalsium laktat, kalium tiosianat, *xylitol*, sorbitol 70%, serta aquadest untuk melarutkan bahan dan mencukupkan volume yang diinginkan. Penambahan BHA dimaksudkan sebagai antioksidan sintetik untuk mencegah timbulnya bau tengik pada sediaan akibat pemakaian minyak atsiri *Curcuma xanthorriza*. *Oleum menthe* digunakan untuk menambah aroma mint pada sediaan, menambah kesegaran pada rasa sediaan, dan

untuk melarutkan fase minyak, yakni BHA dan minyak atsiri. Pada formulasi ini tidak digunakan alkohol sebagai pelarut karena alkohol memiliki akibat sampingan yakni mengurangi produksi air liur yang akan memperparah bau mulut dan mengiritasi mukosa yang menyebabkan penebalan jaringan mukosa serta meningkatkan risiko terjadinya kanker mukosa mulut. Selain itu, alkohol juga dapat mempengaruhi lidah sehingga mengganggu kerja indera pengecap. Asam benzoat dan natrium benzoat berfungsi sebagai pengawet sekaligus dapar pH dalam formula sediaan. Sebagai humektan digunakan propilen glikol dan sebagai *emulsifier* digunakan *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil* yang merupakan *emulsifier* non ionik. Penambahan kalium tiosianat ke dalam formula berfungsi sebagai anti jamur. Kalium tiosianat bersama-sama dengan glukosa oksidase dan laktoperoksidase, memproduksi ion hipotiosianat. Ion ini menghambat produksi asam dan menghambat pertumbuhan bakteri yang dapat menimbulkan plak pada gigi. Oleh karena itu, dapat digunakan sebagai anti karies pada gigi. Sedangkan kombinasi kalsium laktat dan *xylitol* dalam sediaan dapat meningkatkan remineralisasi gigi. Selain itu, *xylitol* juga dapat berfungsi sebagai antimikroba, pengawet, humektan, dan pemanis. Penambahan sorbitol 70 % dimaksudkan sebagai pemanis dalam formula sediaan.

Pada formula 1, formula dasar obat kumur dikombinasikan dengan zat aktif yaitu minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza*. Untuk formula 2, formula dasar obat kumur dikombinasikan dengan zat aktif yaitu minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* dan laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, serta lisozim. Sedangkan pada formula 3, formula dasar obat kumur dikombinasikan dengan zat aktif yaitu minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* dan enzim papain. Terakhir pada formula 4, formula dasar obat kumur dikombinasikan dengan zat aktif yaitu minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* dan keempat enzim (laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, lisozim) serta enzim papain.

Pertama-tama dilakukan pembuatan fase larut air yaitu dengan dilarutkannya bahan-bahan yang larut dalam air masing-masing, seperti *xylitol*, kalsium laktat, dan kalium tiosianat. Kemudian larutan-larutan tersebut dilarutkan bersama-sama sampai homogen. Selanjutnya, bahan-bahan yang kurang larut dalam air (asam benzoat, minyak atsiri temulawak, butil hidroksi anisol),

dilarutkan dengan *oleum menthe*. Kemudian, fase kurang larut air ini diemulsikan dengan *PEG-40 Hydrogenated Castor Oil*. Selanjutnya propilen glikol ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam sediaan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, fase larut air ditambahkan ke dalam sediaan sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga homogen.

Enzim-enzim (laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, lisozim, papain) dilarutkan masing-masing dengan aquadest lalu ditambahkan ke dalam masing-masing sediaan sesuai dengan formula. Kemudian natrium benzoat dilarutkan dengan air hingga larut homogen, setelah itu ditambahkan ke dalam sediaan hingga mencapai pH 6-7.

4.2.2 Evaluasi Sediaan

Pada pemeriksaan organoleptis sediaan, didapatkan sediaan formula 1 dan 2 yang bening, jernih, tidak terjadi pemisahan fase, dan berbau mint. Pada formula 3 dan 4 juga tidak terjadi pemisahan fase, akan tetapi sediaan terlihat agak keruh. Kekeruhan ini diduga disebabkan adanya sebagian enzim papain yang tidak terlarut sempurna dalam sediaan. Selain itu, pada formula 3 dan 4 tercium aroma yang khas selain aroma mint, yaitu aroma pepaya.

Pada pemeriksaan pH sediaan, didapatkan pH berkisar antara pH 6-7. Hal ini dimaksudkan agar obat kumur tersebut tidak bersifat asam sehingga dapat menyebabkan korosif pada gigi atau jika bersifat basa dapat mengganggu pengecap (Pontefract, 2001).

4.2.3 Pengujian Stabilitas Fisik

Pengujian stabilitas fisik obat kumur dilakukan pada tiga suhu yang berbeda yaitu suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Perbedaan suhu ini dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan kestabilan fisik dari sediaan pada kondisi yang berbeda. Pada penyimpanan di suhu tinggi, sampel disimpan di dalam oven yang diatur suhunya 40°C . Sedangkan pada suhu rendah, sampel disimpan pada lemari es yang diatur

suhunya 4°C. Pada penyimpanan di suhu kamar, sampel disimpan di ruangan dengan suhu rata-rata 28°C. Grafik hubungan nilai pH terhadap waktu penyimpanan sediaan obat kumur pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi dapat dilihat pada Gambar 4.13, 4.14, dan 4.15.

Pada penyimpanan di tiga suhu yang berbeda, masing-masing bentuk sediaan tersebut dilihat perubahan kondisi fisik dan pH setiap 2 minggu selama 8 minggu. Pada minggu ke 8, didapatkan pH sediaan yang menurun sekitar 8-10 % dari pH awal. Hal ini mungkin disebabkan oleh terurainya gugus fenol pada senyawa *xanthorrhizol* dalam air. Penguraian ini menyebabkan bertambahnya jumlah H⁺ sehingga pH obat kumur menurun. Penurunan pH ini juga dipicu oleh faktor eksternal yaitu suhu. Peningkatan suhu dapat menyebabkan energi panas/kalor bertambah sehingga memicu terjadinya tumbukan-tumbukan antar molekul yang cepat. Akibatnya, proses penguraian fenol terjadi lebih cepat sehingga banyak H⁺ yang dihasilkan. Adanya perubahan suhu yang drastis menyebabkan penurunan pH yang signifikan.

Adapun perubahan warna pada sediaan mungkin disebabkan oleh tidak stabilnya minyak atsiri *Curcuma xanthorriza*, terhadap paparan cahaya dan peningkatan suhu yang cukup tinggi. Hal ini terlihat dari hampir tidak adanya perubahan warna sediaan pada penyimpanan di suhu rendah (4°C ± 2°C). Sedangkan pada penyimpanan suhu kamar (28°C ± 2°C) dan suhu tinggi (40°C ± 2°C) terjadi perubahan warna yang cukup signifikan dari warna bening menjadi kuning.

Adanya endapan di dasar wadah sediaan diduga disebabkan adanya sebagian enzim papain yang tidak terlarut sempurna dalam sediaan dan setelah sediaan dikocok, sediaan menjadi keruh.

Cycling test dilakukan untuk menguji kemungkinan sediaan mengalami kristalisasi atau berawan dan untuk menguji kestabilan sediaan minyak dalam air (Wilkinson, 1982). Uji ini dilakukan dengan menyimpan masing-masing sediaan obat kumur pada suhu 4°C ± 2 °C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40°C ± 2°C selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus untuk memperjelas perubahan yang terjadi (Iswandana, 2009). Setelah sediaan didinginkan akan terjadi pelepasan air pada sediaan,

namun jika film pengemulsi dapat bekerja kembali di bawah tekanan yang diinduksi oleh kristal es sebelum koalesens terjadi maka sistem emulsi tersebut akan stabil pada sediaan obat kumur. Pada pengamatan secara visual kondisi fisik keempat formula sediaan obat kumur, tidak ditemukan adanya kristal atau berawan, juga tidak ditemukan adanya pemisahan fase. Hal ini mengindikasikan bahwa sistem emulsi pada keempat formula sediaan tersebut cukup stabil. Adapun perubahan warna pada sediaan mungkin disebabkan oleh tidak stabilnya minyak atsiri *Curcuma xanthorriza*, terhadap paparan cahaya dan perubahan suhu yang tidak konstan.

Seharusnya dilakukan uji KHM kembali setelah dilakukannya *cycling test* dan pengujian stabilitas fisik sediaan. Pengujian tersebut dimaksudkan agar dapat terlihat lebih jelas apakah pengujian stabilitas fisik tersebut berpengaruh secara signifikan terhadap nilai KHM sediaan yang menunjukkan kestabilan efek antibakteri dalam sediaan setelah *cycling test* dan pengujian stabilitas fisik sediaan.

4.2.4 Konfirmasi *Porphyromonas gingivalis* dengan Pewarnaan Gram (Iriano, 2008; Mikrobiologi Kedokteran, 1994)

Pewarnaan Gram merupakan suatu tindakan untuk konfirmasi bakteri Gram positif dan Gram negatif. Setelah diberi karbol kristal ungu, preparat kuman menjadi ungu dikarenakan zat warna diserap dalam sel dan protoplasma. Selanjutnya, pemberian lugol menyebabkan terbentuknya kompleks ungu kristal-yodium yang berwarna ungu kotor. Bakteri Gram negatif melepaskan kompleks kristal-yodium saat dicuci dengan alkohol. Hasil pewarnaan menjadi merah karena diwarnai dengan larutan Fukhsin.

Perbedaan reaksi warna antara bakteri Gram positif dan Gram negatif terletak pada susunan kimia pada dinding sel bakteri. Bakteri Gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis dan susunan dinding sel tidak kompak dan permeabilitas dinding sel lebih besar. Selain itu, bakteri Gram negatif memiliki kadar lipid lebih tinggi daripada bakteri Gram positif. Meskipun kompleks kristal-yodium telah terbentuk, namun alkohol melarutkan lipid pada

dinding sel bakteri Gram negatif dengan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga menyebabkan hilangnya kompleks warna yodium.

4.2.5 Uji Aktivitas Antibakteri *Porphyromonas gingivalis*

Media yang digunakan pada pengujian ini adalah media cair kaldu Tioglikolat yang mengandung 0,1 µg vitamin K dan 5 µg hemin tiap 1 ml. Media ini biasa digunakan untuk menumbuhkan bakteri anaerob dan memerlukan waktu inkubasi 24-48 jam (Lorian, 1980).

Pada penelitian dengan menggunakan metode dilusi, diperoleh nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 20 % untuk larutan stok minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza*, 50 % untuk formula obat kumur 1, 40 % untuk formula obat kumur 2, 50 % untuk formula obat kumur 3, dan 40 % untuk formula obat kumur 4. Penentuan nilai KHM tersebut berdasarkan kadar terendah dimana tabung uji menunjukkan hasil negatif (jernih), yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Pada nilai KHM larutan stok minyak atsiri, diperoleh angka 20 %, dimana kadar minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* pada tabung tersebut adalah 0,0128 µl dalam 1 ml sediaan (Lampiran 4.1). Dengan kata lain, kadar yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah 1,28 µl dalam 100 ml sediaan. Setelah dibandingkan dengan kadar minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* yang peneliti pakai untuk membuat formula obat kumur, terdapat kesesuaian yang cukup signifikan antara hasil nilai uji KHM tersebut, yakni 10^{-3} cc dalam 100 ml sediaan atau 1 µl dalam 100 ml sediaan. Akan tetapi, nilai KHM ini masih kurang valid karena peneliti tidak menguji nilai KHM pada blanko DMSO sehingga tidak dapat dipastikan apakah efek antibakteri tersebut berasal dari minyak atsiri temulawak atau kombinasi efek dari DMSO yang juga memiliki efek antibakteri.

Pada nilai KHM formula obat kumur 1,2,3,dan 4, peningkatan nilai KHM tidak terlalu signifikan. Bahkan nilai KHM formula obat kumur 1 dengan formula obat kumur 3 cenderung sama, yakni 50 %. Begitu pula dengan formula obat kumur 2 dengan formula obat kumur 4, yakni sama-sama memiliki nilai KHM

sebesar 40 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan enzim-enzim (laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, lisozim, dan enzim papain) tidak terlalu berpengaruh. Hal ini mungkin disebabkan kadar enzim-enzim tersebut terlalu kecil dalam formula sehingga kurang berfungsi secara optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Selain itu, adanya beberapa bagian dari enzim papain yang tidak larut dalam sediaan diduga menyebabkan penambahan enzim papain tersebut tidak terlalu signifikan dalam menurunkan nilai KHM. Penambahan enzim papain pada sediaan obat kumur mungkin akan lebih efektif terlihat pada penggunaan sediaan secara langsung dimana enzim tersebut dapat membersihkan sisa makanan yang melekat di gigi dan lidah.

Mekanisme yang menyebabkan penghambatan dalam pertumbuhan bakteri diduga disebabkan adanya interaksi senyawa fenol dan turunannya pada minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* dan formula obat kumur dengan sel bakteri. Senyawa-senyawa ini berikatan dengan protein pada bakteri melalui ikatan non-spesifik membentuk kompleks protein-fenol. Pada kadar rendah, terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian. Fenol kemudian merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran isi sel, sehingga pertumbuhan bakteri pun terhambat. Sedangkan pada kadar tinggi, zat tersebut berkoagulasi dengan protein seluler dan membran sitoplasma mengalami lisis. Senyawa fenol bersifat bakteristatik atau bakterisid tergantung dari kadarnya (Wilson, 1984). Semakin besar kadar, semakin tinggi daya bakterisidnya. Pada penelitian ini, peneliti lebih memfokuskan penelitian dalam memformulasikan obat kumur yang memiliki daya bakteristatik bukan bakterisid, dikarenakan jika obat kumur bersifat bakterisid, maka dapat mengganggu keseimbangan flora normal mulut.

Meskipun senyawa-senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam formula obat kumur memiliki potensi untuk membunuh bakteri, namun terdapat beberapa faktor yang diduga mengurangi daya antibakterinya, antara lain kadar senyawa-senyawa antibakteri dalam sediaan yang diduga tidak cukup besar untuk melakukan penetrasi ke dalam dinding sel bakteri dan memberikan efek

bakteriostatik dan senyawa-senyawa antibakteri tersebut kemungkinan ada yang hilang atau menguap (misal *oleum menthe*) pada proses pembuatan sediaan.

Aktivitas antibakteri senyawa aktif juga dapat dihambat oleh mekanisme resistensi bakteri Gram negatif terhadap bahan antibakteri. Bakteri Gram negatif memiliki cara untuk melindungi membran selnya dari penetrasi bahan antibakteri, karena bakteri tersebut mempunyai membran luar yang unik, dinding peptidoglikan yang relatif lebih tipis, dan ruang periplasmik di antara dinding sel dan membran. Struktur membran luar ini mengandung Lipopolisakarida (LPS) atau endotoksin, suatu struktur kompleks yang terdiri dari Lipid A, rantai pendek gula dan rantai panjang karbohidrat yang disebut antigen O. Antigen O dan polisakarida yang terdapat pada membran luar bakteri berperan dalam mencegah senyawa hidrofobik masuk ke dalam membran sel, sedangkan penetrasi senyawa hidrofilik (misal senyawa fenol) ke dalam membran sel dicegah oleh sifat lipid yang dimilikinya. Adanya struktur membran luar yang kompleks ini membatasi akses senyawa aktif antibakteri ke dalam membran sel dan menjadikan bakteri *Porphyromonas gingivalis* lebih resisten terhadap antibakteri (Iriano, 2008).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji antibakteri secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa sediaan obat kumur yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* memiliki aktivitas antibakteri terhadap salah satu bakteri penyebab bau mulut yaitu *Porphyromonas gingivalis* dengan nilai KHM pada masing-masing formula sediaan obat kumur yaitu, pada kadar 50% untuk formula 1 (mengandung minyak atsiri saja), kadar 40% untuk formula 2 (mengandung minyak atsiri dan dikombinasikan dengan laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, dan lisozim), konsentrasi 50% untuk formula 3 (mengandung minyak atsiri dan dikombinasikan dengan enzim papain), dan konsentrasi 40% untuk formula 4 (mengandung minyak atsiri dan dikombinasikan dengan laktoperoksidase, laktoferin, glukosa oksidase, dan lisozim, serta enzim papain). Keempat formula sediaan obat kumur relatif tidak stabil pada penyimpanan pada suhu kamar dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Adapun pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu, keempat formula sediaan dapat dinyatakan relatif stabil secara fisik pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

5.2 Saran

Dengan berbagai kekurangan maupun kelebihan dari penelitian ini, diharapkan di masa yang akan datang dapat dilakukan penelitian-penelitian lanjutan sebagai berikut :

1. Penelitian untuk menguji stabilitas kimia dan stabilitas mikrobiologi terhadap formula-formula obat kumur pada penelitian ini, karena parameter kestabilan fisik saja tidak cukup untuk mengetahui kestabilan suatu sediaan.
2. Perlu ditambahkannya zat pensuspensi pada formula obat kumur 3 dan 4 untuk mengurangi terbentuknya pengendapan enzim papain didasar wadah dan agar lebih homogen saat dikocok.

3. Perlu dilakukan pengujian toksisitas terhadap formula-formula obat kumur pada penelitian ini untuk memastikan keamanan penggunaan jangka panjang pada masyarakat.
4. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai efek antibakteri formula-formula obat kumur tersebut yang diujikan terhadap mikroorganisme lain di rongga mulut, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.
5. Perlu ditingkatkannya konsentrasi enzim dalam formula terkait agar daya antibakterinya dapat meningkat.



DAFTAR ACUAN

- Anatomi Mulut*. (n.d). November 27, 2010.
- Ansel, H. C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi ed.IV*. (hal 135). Terj. dari Introduction to Pharmaceutical Dosage Form oleh Farida Ibrahim. Jakarta: UI Press.
- Bartels, Cathy L. (n.d.). *Helping patients with dry mouth*. November 30, 2010. <http://www.oralcancerfoundation.org/dental/xerostomia.htm>
- Bau Mulut (Halitosis)*. Online posting 2008. Januari 5, 2010. <http://ilmukedokteran.net/pdf/Daftar-Masalah-Individu/halotosis.pdf>.
- Bustomi, Emil. (2008). *Mouthwash. Life Style atau Kesehatan?* Januari 13, 2010. <http://www.pitoyo.com>
- Calcium Lactate*.(n.d.). Januari 16, 2010. <http://www.chemblink.com/products/814-80-2.htm>.
- Chicken egg white Lysozyme*. (2008). Januari 14, 2010. <http://lysozyme.co.uk/>.
- Conneely, Orla M. (2001). Antiinflammatory Activities of Lactoferrin. *Journal of the American College Nutrition*, vol. 20, No. 5, Januari 14, 2010. http://www.jacn.org/cgi/content/full/20/suppl_5/389S.
- Curcuma xanthorrhiza (Temulawak) Extract*. (n.d.). Phytocemindo Reksa. Januari 15, 2010. www.phytocemindo.com.
- Duarte, Mauricio. (2006). *Mouthwash for the Prevention and Treatment of Halitosis*. World Intellectual Property Organization, Patent Cooperation Treaty.
- Enzo Life Sciences (2010, June 24). *Product Data Sheet of Xanthorrhizol*. December 2, 2010. <http://www.enzolifesciences.com>
- Farah, C.S, McIntosh, L & McCullough, M.J. (2000, December). Mouthwashes. *Australian Prescriber*, vol. 32, no.6. Januari 14, 2010. www.australianprescriber.com
- Farmakope Indonesia* (Ed ke-4). (1995). Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Haraszthy, VI, et al. (2007). Identification of Oral Bacteria Species Associated with Halitosis. *Journal American Dental Association* Vol. 138, Number 8, pp 1113-1120. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/8880.htm>.

- ICH. (2003). Guidance for Industry: Q 1 A (R2) stability testing of new drug substances and products.
- Iriano, A. (2008). *Efek Antibakteri Infusum Aloe vera terhadap Porphyromonas gingivalis in vitro (Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Infundasi)*. Jakarta : Skripsi Sarjana Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Iswandana, R. (2009). *Penetapan daya penetrasi secara in vitro dan uji stabilitas fisik sediaan krim, salep, dan gel yang mengandung kurkumin dari kunyit (Curcuma longa L.)*. Depok : Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA UI.
- Jae-kwan hwang, K.-s. (2004). *Antibacterial Composition Having Xanthorizol* (pp 20). US Patent 6696404.
- Jawelz, M. A. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Ed. 20*. Jakarta : EGC.
- Krempels, Dana. (2007, May). *Normal pH of the Mouth*. Januari 20, 2010. <http://en.allexperts.com/q/Biology-664/normal-pH-mouth.htm>
- Lamont, R.J. & Jenkinson, H.F. (1998, December). Life Below the Gum Line: Pathogenic Mechanism of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. pp. 1224-1263.
- Lorian, V. (Ed.). (1980). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. (hal 6-8). London : Williams & Wilkins.
- Mangundjaja, S, et al. (2008, April 2-6). *Effect of Mouthwash Containing Bio-active Enzyme on Salivary Mutans Streptococci*. Paper Presented at The American Association of Dental Research Annual Meeting, Dallas Texas, USA.
- Materia Medika Indonesia*. Jilid 1.(1977). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Mitsui, T. (Ed.). (1997) *New Cosmetic Science*. (hal 487-490). Amsterdam: Elsevier Science B.V
- Para Ilmuwan Menemukan Bakteri Bau Mulut*. Online posting 2008. Januari 5, 2010. <http://niasonline.net/>
- Pontefract, et.al. (2001). The erosive effects of some mouthrinses on enamel. A study in situ. *Journal of Clinical Periodontology* Volume 28, Issue 4, Pages 283–376.

- Porphyromonas gingivalis*. (n.d.). Desember 2, 2010.
http://en.citizendium.org/wiki/Porphyromonas_gingivalis
- Prijono, Eddy. (2005, March). *Efektivitas Pembersihan Lidah secara Mekanis Menggunakan Tongue Scraper terhadap Jumlah Populasi Anaerob Lidah*. Presented at 22nd Indonesian Dental Association Congress, Makassar, Indonesia
- R. Suda, et.al. (2006). The Effect of Adding Calcium Lactate to Xylitol Chewing Gum on Remineralization of Enamel Lesions. *Karger Caries Research*, Vol.40, No.1. November 29, 2010.
<http://content.karger.com/produktedb/produkte.asp?typ=fulltext&file=CRE2006040001043>.
- Radji, Maksum M. (2004). *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Farmasi*. Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Rieger, M. (2001). *Harry's Cosmetology*, 8th edition.(hal 745-753). Chemical Publishing.
- Rowe, R. C, Sheskey, P. J & Owen, S. C. (2006). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, fifth edition. London: The Pharmaceutical Press.
- Samaranayake, LP. (2002). *Essential microbiology for dentistry*, second edition. (hal 3-122). Hongkong : Churcill Livingstone.
- Sjögren Syndrome Foundation. (n.d.). *About Sjögren Syndrome*. Januari 15, 2010.
<http://www.sjogrens.org>
- Staf pengajar FK UI. (1994). *Mikrobiologi Kedokteran*. (hal 15). Jakarta : Binarupa Aksara.
- Storehagen, S, et.al. (2003). *Dentrifices and Mouthwashes Ingredients and Their Use*. Seksjon for odontologisk farmakologi og farmakoterapi, Institutt for klinisk odontologi. Oslo : Det odontologiske fakultet, Universitetet i Oslo.
- Teliti kandungan obat kumur*. (2003, October). Health News. Januari 6, 2010.
<http://cybermed.cbn.net.id/l60>
- Wilkinson, JB. (1982). *Harry's Cosmeticology*, seventh edition. London: George Godwin.
- Wilson SG, Dick HM. (1984). *Topley and Wilson's principle of bacteriology, virology, and immunity*, 7th ed. (hal 84). London : Edward Arnold Ltd.

Xylitol. *British Pharmacopoeia 2007* (CD ROM version 11.0). Januari 19, 2010.
System Simulation, Ltd.

Yayasan Spiritia (2010, March 8). *Masalah Mulut*. Lembaran Informasi 622.
November 29, 2010. <http://spiritia.or.id/li/bacali.php?lino=622>.







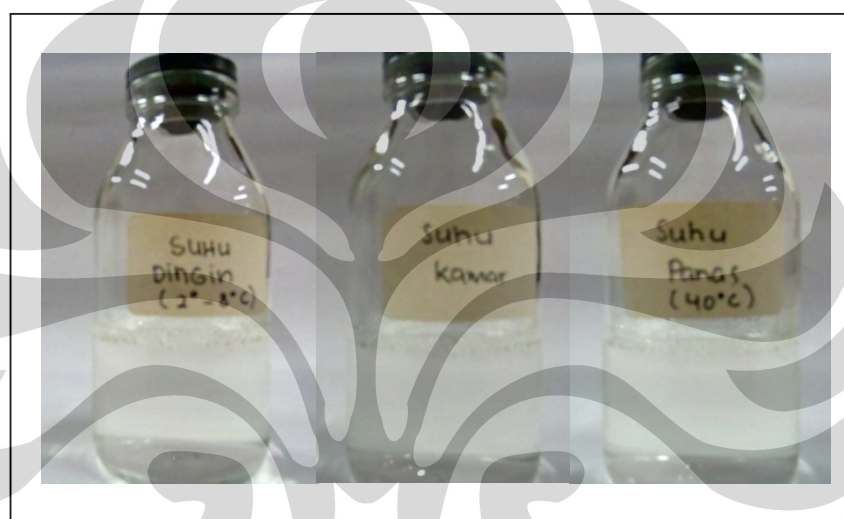
Gambar 3.1 Foto alat : (a) timbangan analitik, (b) pH meter, (c) lemari pendingin, (d) autoklaf, (e) timbangan, (f) oven



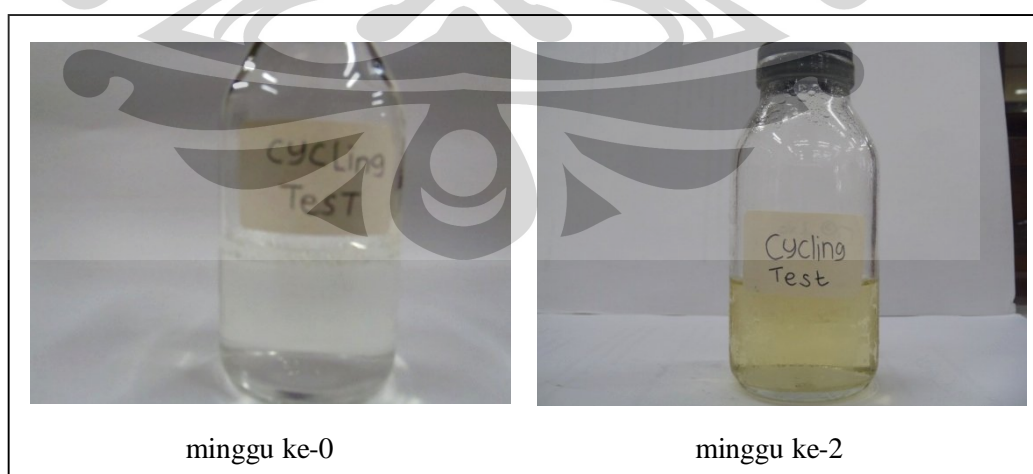
Gambar 3.2 Foto alat : (a) alat-alat untuk pewarnaan Gram, (b) mikroskop, (c) *anaerob jar*, (d) *Laminar Air Flow (LAF) Cabinet*, (e) *hotplate*, (f) *vortex*



Gambar 3.3 Foto kemasan minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza*



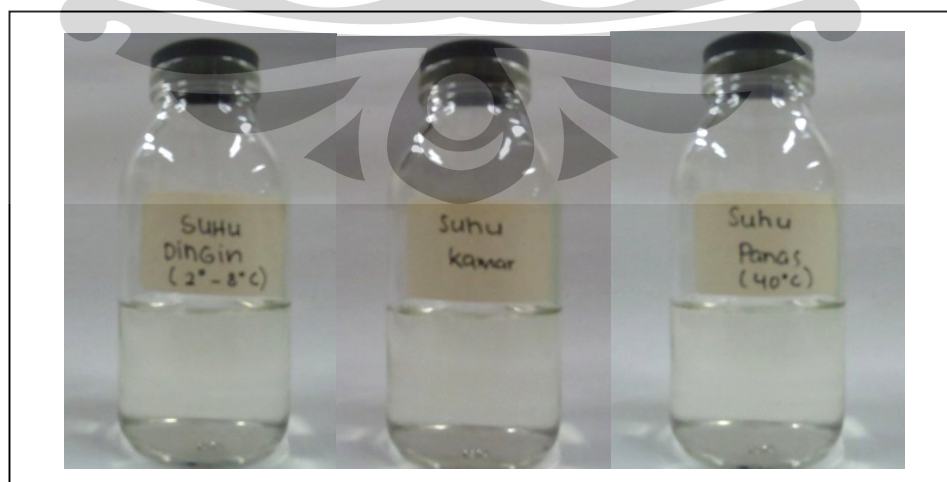
Gambar 4.1 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 1 pada minggu ke-0



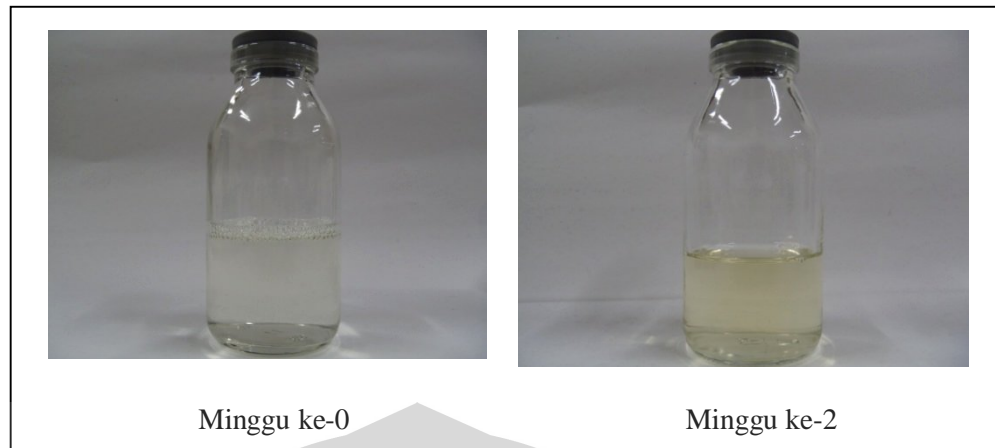
Gambar 4.2 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 1 setelah *cycling test*



Gambar 4.3 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 1 setelah penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu



Gambar 4.4 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 2 pada minggu ke-0



Gambar 4.5 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 2 setelah *cycling test*



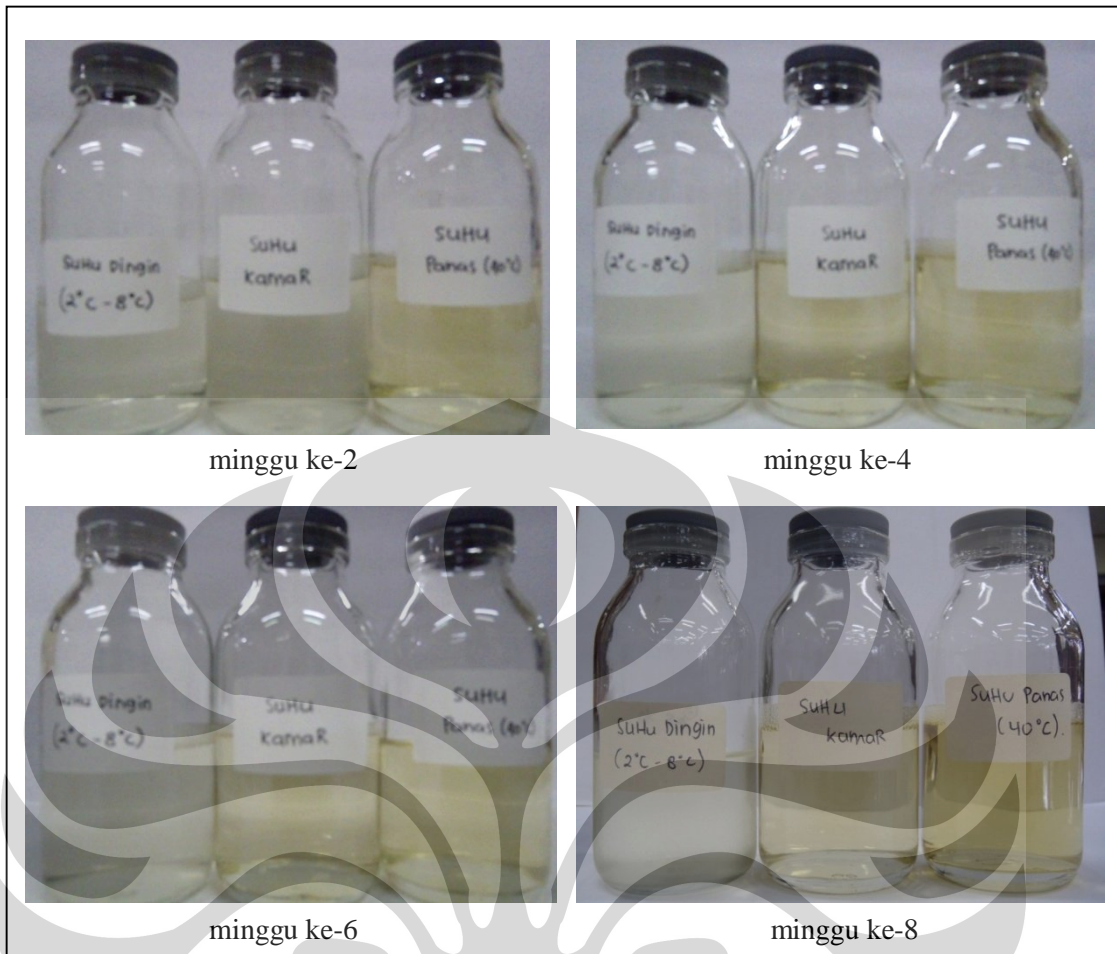
Gambar 4.6 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 2 setelah penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu



Gambar 4.7 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 3 pada minggu ke-0



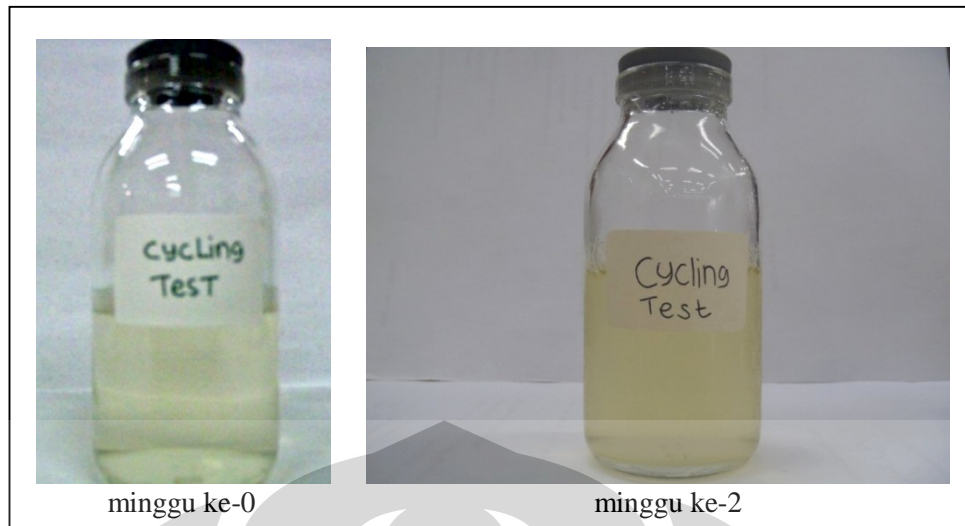
Gambar 4.8 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 3 setelah *cycling test*



Gambar 4.9 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 3 setelah penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu



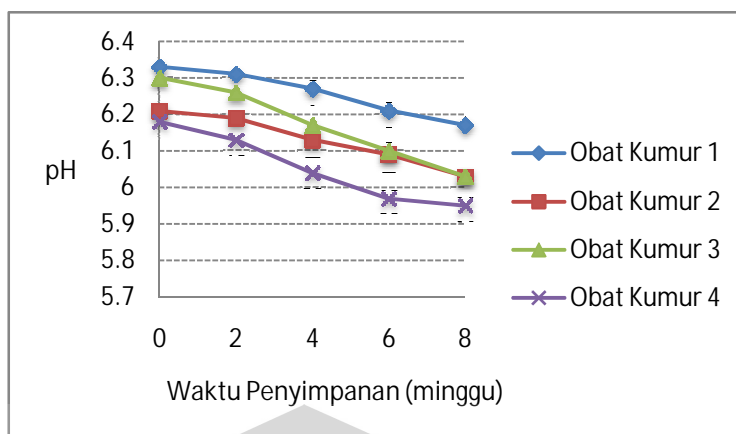
Gambar 4.10 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 4 pada minggu ke-0



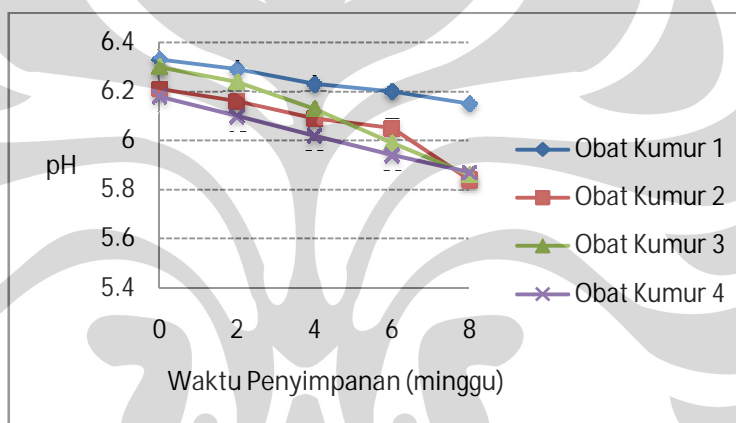
Gambar 4.11 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 4 setelah *cycling test*



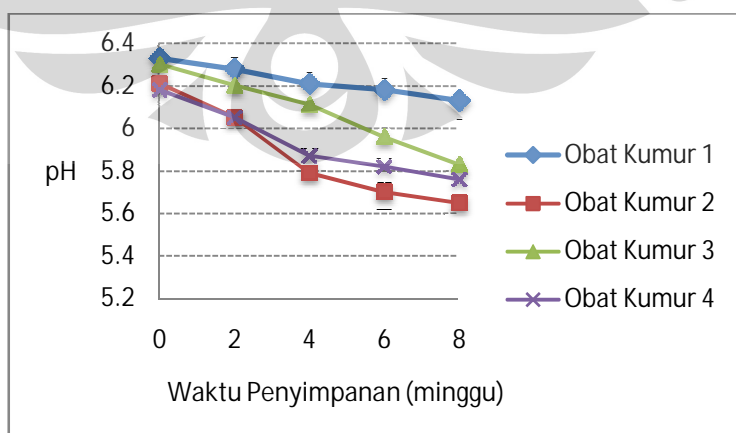
Gambar 4.12 Foto hasil pengamatan sediaan obat kumur formula 4 setelah penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu



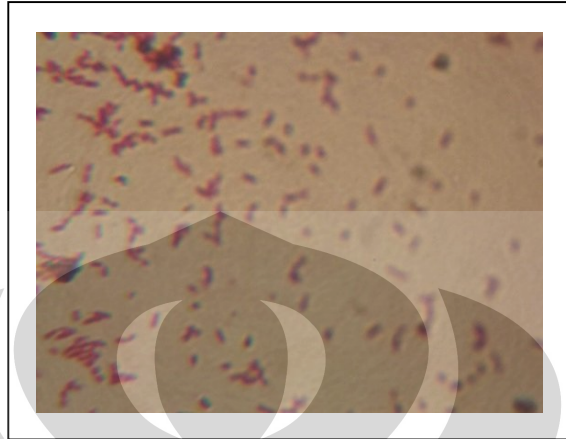
Gambar 4.13 Grafik hubungan nilai pH terhadap waktu penyimpanan sediaan obat kumur pada suhu rendah



Gambar 4.14 Grafik hubungan nilai pH terhadap waktu penyimpanan sediaan obat kumur pada suhu kamar



Gambar 4.15 Grafik hubungan nilai pH terhadap waktu penyimpanan sediaan obat kumur pada suhu tinggi



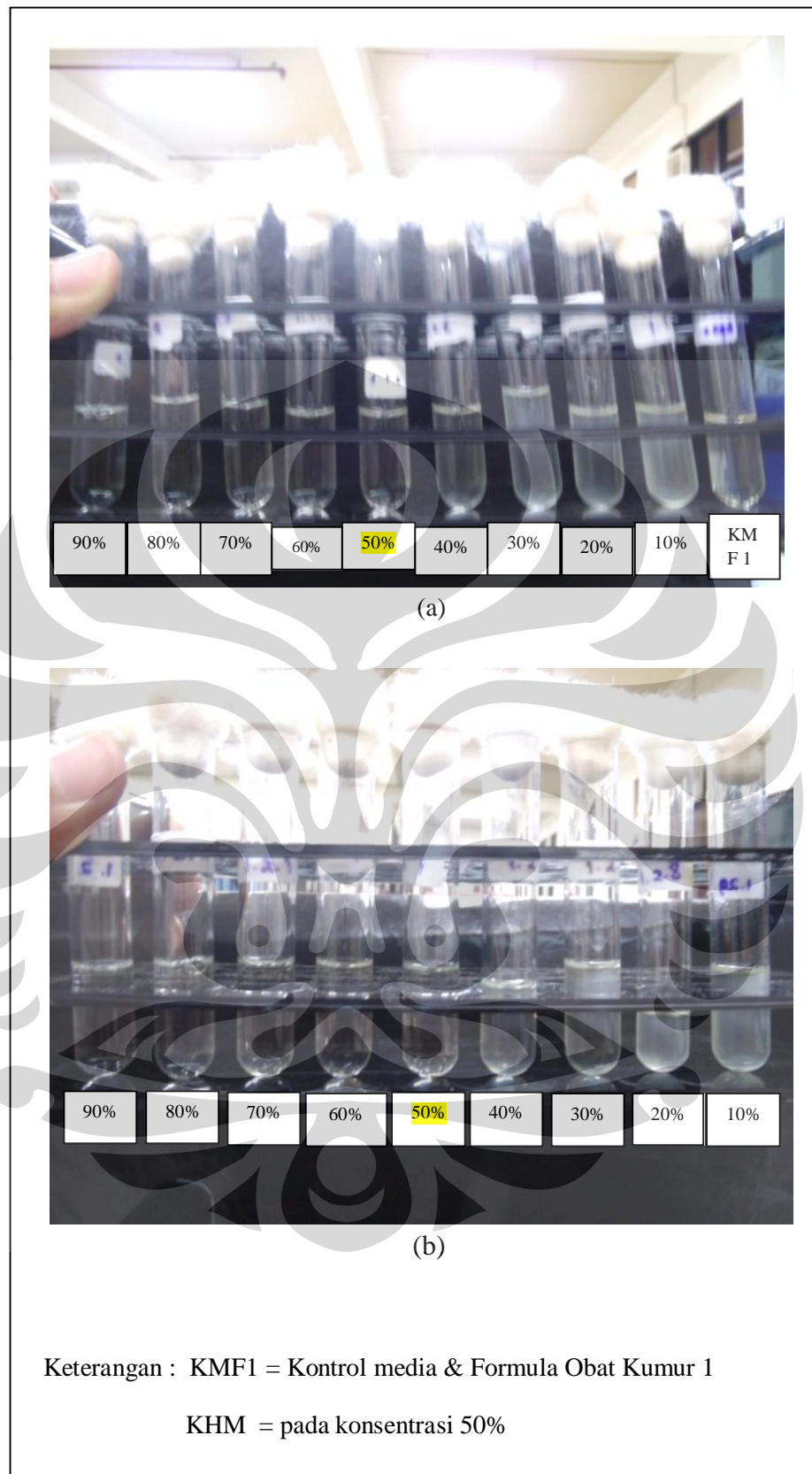
Gambar 4.16 Foto hasil pewarnaan Gram bakteri *Porphyromonas gingivalis*



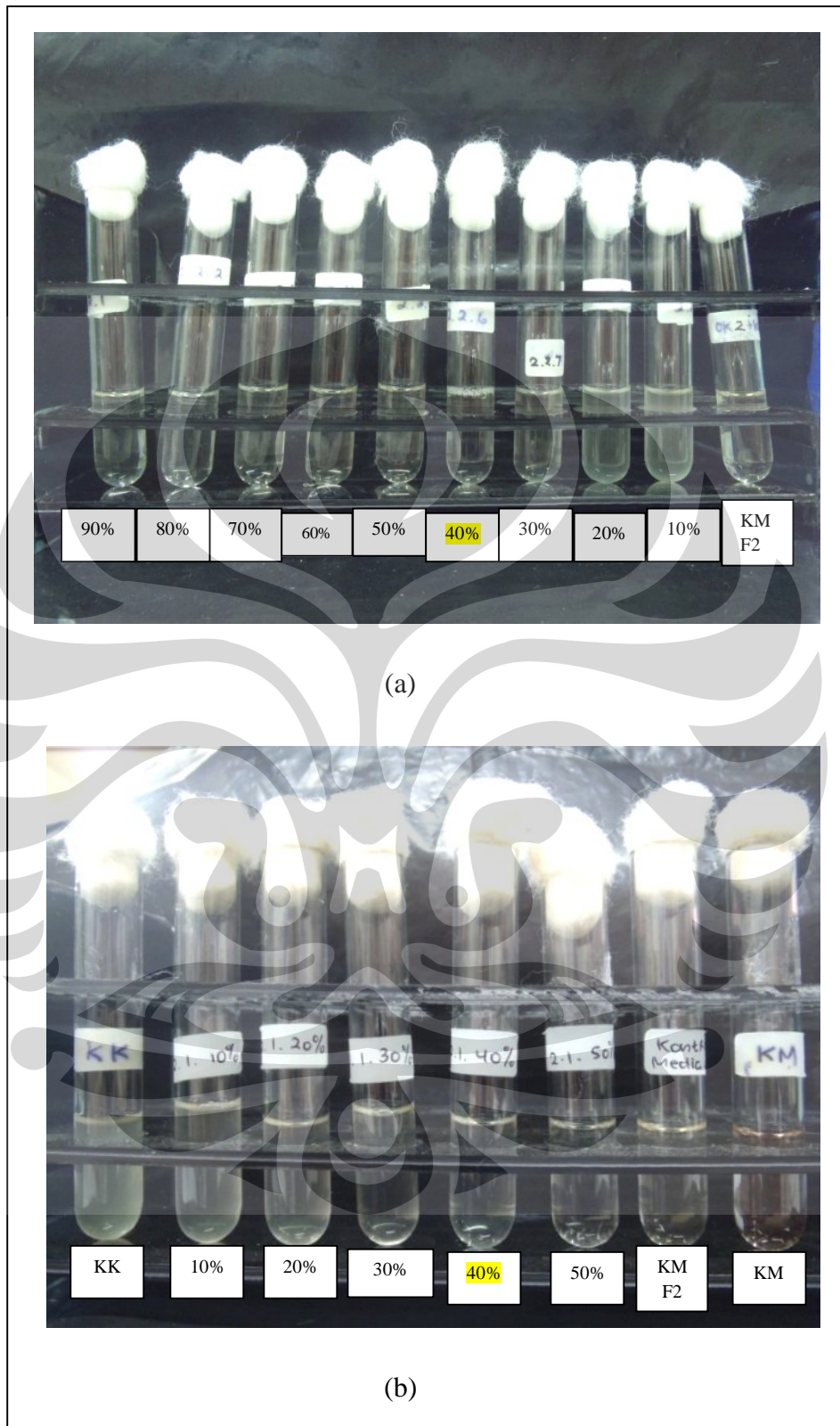
Gambar 4.17 Foto hasil biakan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada : (a) medium agar darah dan (b) kaldu Tioglikolat



Gambar 4.18 Foto hasil uji KHM larutan stok minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II



Gambar 4.19 Foto hasil uji KHM sediaan obat kumur formula 1 pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II



(Lanjutan)



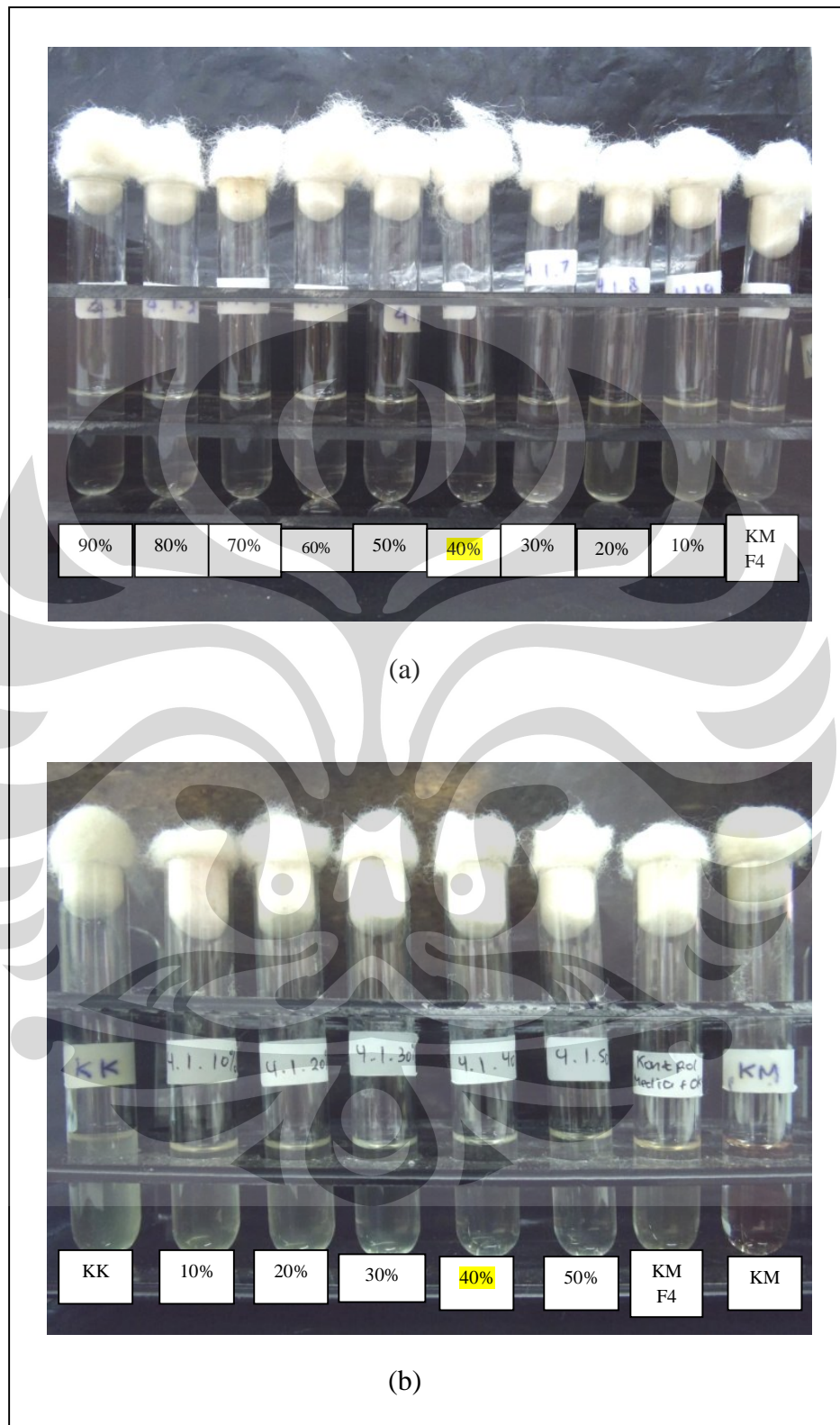
Gambar 4.20 Foto hasil uji KHM sediaan obat kumur formula 2 pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II, (c) Uji Dilusi III



(Lanjutan)



Gambar 4.21 Foto hasil uji KHM sediaan obat kumur formula 3 pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II, (c) Uji Dilusi III



(lanjutan)



Gambar 4.22 Foto hasil uji KHM sediaan obat kumur formula 4 pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. (a) Uji Dilusi I, (b) Uji Dilusi II, (c) Uji Dilusi III



Tabel 4.1 Hasil pengamatan pH dan organoleptis secara visual keempat formula obat kumur pada minggu ke-0

Sediaan	pH	Warna	Kejernihan	Bau
Formula 1	6,33	Bening	Jernih	mint
Formula 2	6,21	Bening	Jernih	mint
Formula 3	6,30	Bening	Agak keruh	Mint dan pepaya
Formula 4	6,18	Bening	Agak keruh	Mint dan pepaya

Tabel 4.2 Hasil pengamatan pH dan organoleptis secara visual keempat formula obat kumur setelah dilakukan *cycling test*

Sediaan	pH	Warna	Kejernihan	Bau	Kristal
Formula 1	5,85	Kuning	Jernih	Mint	Tidak terbentuk
Formula 2	5,72	Kuning	Jernih	Mint	Tidak terbentuk
Formula 3	5,78	Kuning	Agak keruh	Mint dan pepaya	Tidak terbentuk
Formula 4	5,65	Kuning	Agak keruh	Mint dan pepaya	Tidak Terbentuk

Tabel 4.3 Hasil pengamatan pH dan kondisi fisik sediaan obat kumur formula 1 pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Ming gu Ke-	Suhu rendah		Suhu kamar		Suhu tinggi	
	pH	Kondisi Fisik	pH	Kondisi Fisik	pH	Kondisi Fisik
2	6,31	Bening, jernih, bau mint	6,29	Bening, jernih, bau mint	6,28	Agak kuning, jernih, bau mint
4	6,27	Bening, jernih, bau mint	6,23	Agak kuning, jernih, bau mint	6,21	Kuning, jernih, bau mint
6	6,21	Bening, jernih, bau mint	6,20	Kuning, jernih, bau mint	6,18	Kuning, jernih, bau mint
8	6,17	Bening, jernih, bau mint	6,15	Kuning, jernih, bau mint	6,13	Kuning, jernih, bau mint

Tabel 4.4 Hasil pengamatan pH dan kondisi fisik sediaan obat kumur formula 2 pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Ming gu Ke-	Suhu dingin		Suhu Kamar		Suhu Panas	
	pH	Kondisi Fisik	pH	Kondisi Fisik	pH	Kondisi Fisik
2	6,19	Bening, jernih, bau mint	6,16	Bening, jernih, bau mint	6,05	Agak kuning, jernih, bau mint
4	6,13	Bening, jernih, bau mint	6,09	Bening, jernih, bau mint	5,79	Kuning, jernih, bau mint
6	6,09	Bening, jernih, bau mint	6,05	Agak kuning, jernih, bau mint	5,70	Kuning, jernih, bau mint
8	6,03	Bening, jernih, bau mint	5,84	Kuning, jernih, bau mint	5,65	Kuning, jernih, bau mint

Tabel 4.5 Hasil pengamatan pH dan kondisi fisik sediaan obat kumur formula 3 pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Ming gu Ke-	Suhu dingin		Suhu Kamar		Suhu Panas	
	pH	Kondisi Fisik	pH	Kondisi Fisik	pH	Kondisi Fisik
2	6,26	Bening, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	6,24	Agak kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	6,24	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya
4	6,17	Bening, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	6,13	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	6,11	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya
6	6,10	Bening, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,99	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,96	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya
8	6,03	Bening, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,86	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,83	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya

Tabel 4.6 Hasil pengamatan pH dan kondisi fisik sediaan obat kumur formula 4 pada penyimpanan suhu rendah ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Ming gu Ke-	Suhu dingin		Suhu Kamar		Suhu Panas	
	pH	Kondisi Fisik	pH	Kondisi Fisik	pH	Kondisi Fisik
2	6,13	Bening, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	6,10	Bening, mengendap s.d keruh, bau mint dan pepaya	6,05	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya
4	6,04	Bening, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	6,02	Agak kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,87	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya
6	5,97	Bening, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,94	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,82	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya
8	5,95	Bening, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,87	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya	5,76	Kuning, ada sedikit endapan, bau mint dan pepaya

Tabel 4.7 Hasil uji antibakteri larutan stok minyak atsiri temulawak terhadap *Porphyromonas gingivalis* strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi

Uji dilusi	KK	Kons.									Kontrol Formula & media	KM
		10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%		
I	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :
 KK = Kontrol Kuman
 Kons. = Konsentrasi
 KM = Kontrol Media
 + = larutan keruh, menandakan adanya pertumbuhan bakteri
 - = larutan jernih, menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri

Tabel 4.8 Hasil uji antibakteri Formula Obat Kumur 1 (formula mengandung minyak atsiri temulawak) terhadap *Porphyromonas gingivalis* strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi

Uji dilusi	KK	Kons.									Kontrol Formula & media	KM
		10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%		
I	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :
 KK = Kontrol Kuman
 Kons. = Konsentrasi
 KM = Kontrol Media
 + = larutan keruh, menandakan adanya pertumbuhan bakteri
 - = larutan jernih, menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri

Tabel 4.9 Hasil uji antibakteri Formula Obat Kumur 2 (formula mengandung minyak atsiri temulawak, enzim laktoperoksidase, laktoferin, lizozim, dan glukosa oksidase) terhadap *Porphyromonas gingivalis* strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi

Uji dilusi	KK	Kons.									Kontrol Formula & media	KM
		10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%		
I	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :
 KK = Kontrol Kuman
 Kons. = Konsentrasi
 KM = Kontrol Media
 + = larutan keruh, menandakan adanya pertumbuhan bakteri
 - = larutan jernih, menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri

Tabel 4.10 Hasil uji antibakteri Formula Obat Kumur 3 (formula mengandung minyak atsiri temulawak, dan enzim papain) terhadap *Porphyromonas gingivalis* strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi

Uji dilusi	KK	Kons.									Kontrol Formula & media	KM
		10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%		
I	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :
 KK = Kontrol Kuman
 Kons. = Konsentrasi
 KM = Kontrol Media
 + = larutan keruh, menandakan adanya pertumbuhan bakteri
 - = larutan jernih, menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri

Tabel 4.11 Hasil uji antibakteri Formula Obat Kumur 4 (formula mengandung minyak atsiri temulawak, laktoperoksidase, laktoferin, lisozim, glukosa oksidase, dan enzim papain) terhadap *Porphyromonas gingivalis* strain standar ATCC 33277 melalui metode Dilusi

Uji dilusi	KK	Kons.									Kontrol Formula & media	KM
		10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%		
I	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

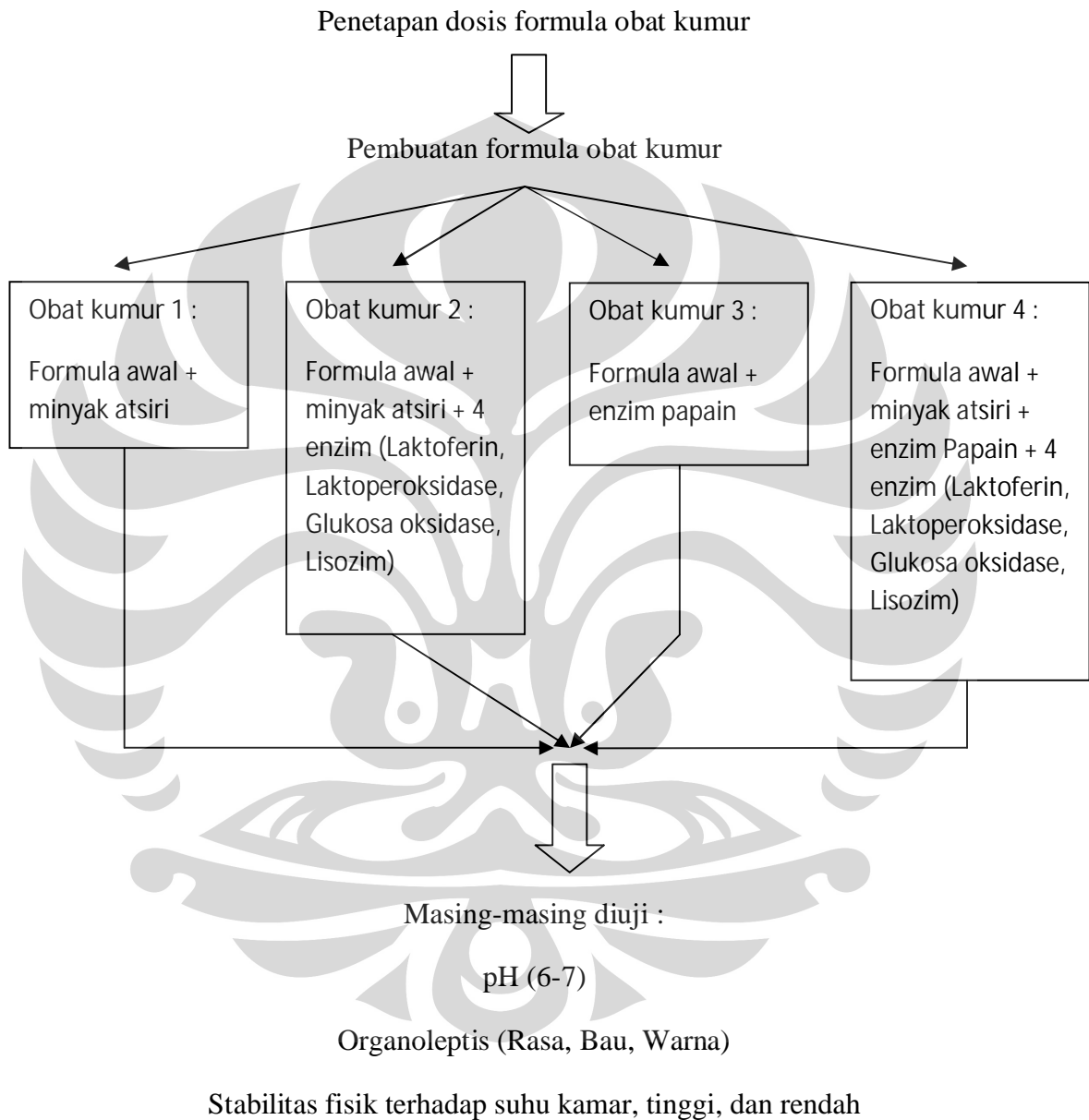
Keterangan :
 KK = Kontrol Kuman
 Kons. = Konsentrasi
 KM = Kontrol Media
 + = larutan keruh, menandakan adanya pertumbuhan bakteri
 - = larutan jernih, menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri



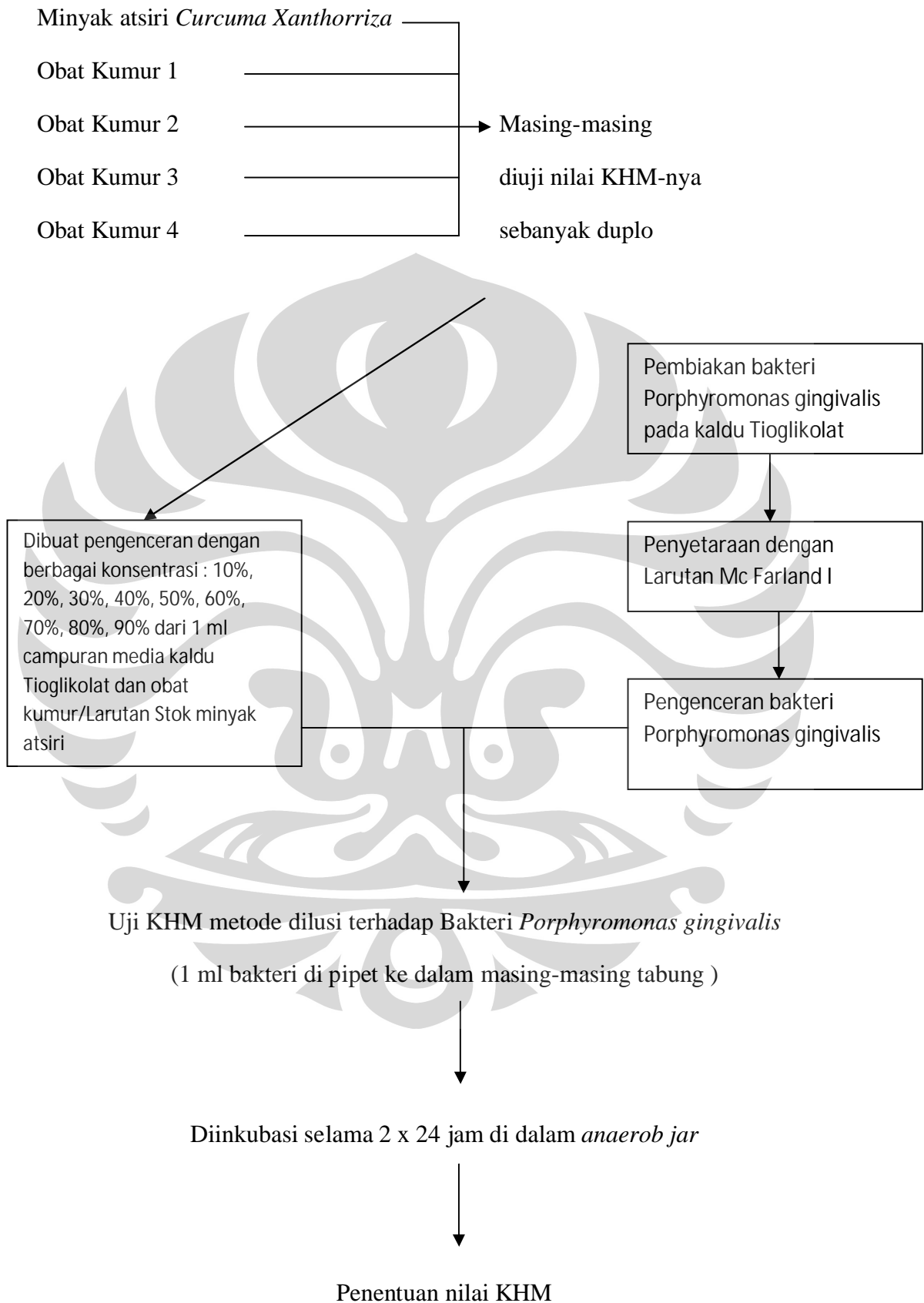


Lampiran 3.1 Alur kerja secara keseluruhan

Alur I : Formulasi Obat Kumur



Alur II : Uji Kadar Hambat Minimal (KHM)



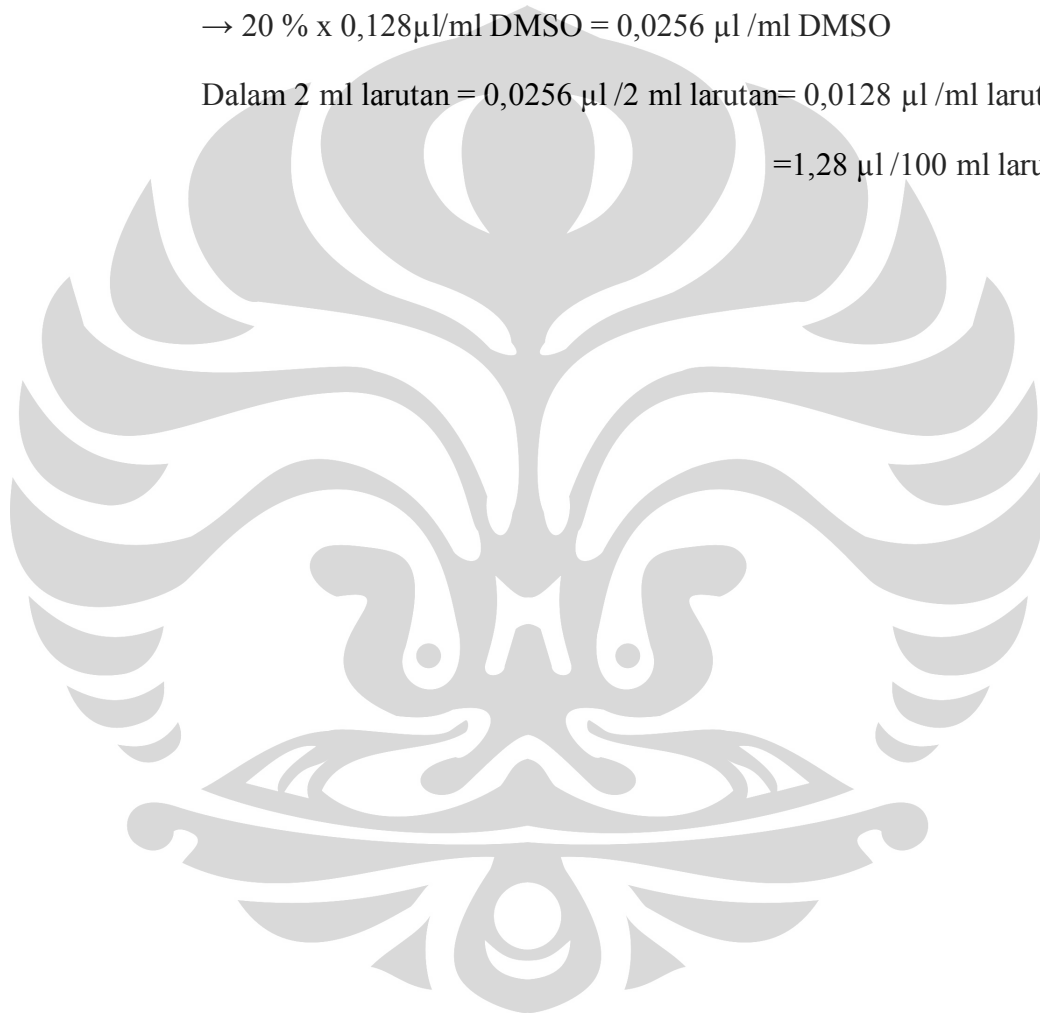
Lampiran 4.1 Perhitungan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) larutan stok minyak atsiri *Curcuma xanthorriza*

Nilai KHM = 20 %

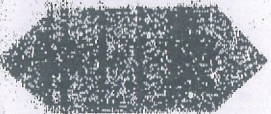
Konsentrasi larutan minyak atsiri *Curcuma xanthorriza* dalam DMSO = 0,128 μ l per 1 ml DMSO

$$\rightarrow 20 \% \times 0,128\mu\text{l/ml DMSO} = 0,0256 \mu\text{l /ml DMSO}$$

$$\begin{aligned} \text{Dalam 2 ml larutan} &= 0,0256 \mu\text{l /2 ml larutan} = 0,0128 \mu\text{l /ml larutan} \\ &= 1,28 \mu\text{l /100 ml larutan} \end{aligned}$$



Lampiran 4.2 Sertifikat analisis minyak atsiri Temulawak



INSULAR MULTI NATURAL

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 47,5 Jl. Bintang Mas No. 8
Manggewer, Cibinong, Bogor, Indonesia


CERTIFICATE OF ANALYSIS
Product : **Xanthorrhiza OIL**Plant part used: Dried Rhizome of *Curcuma xanthorrhiza*

ANALYSIS	SPECIFICATION	RESULTS
Color	Greenishish liquid	conforms
Odor	Characteristic odor of <i>Curcuma Xanthorrhiza</i> oil ,	conforms
Solubility	Soluble in alcohol	conforms
Specific gravity 25°C	0.886 - 0.965	conforms
Refractive index 25°C	1.497 - 1.525	conforms
Foreign matter :		
Mineral Oil	negative	negative
Patty Oil	negative	negative
Alcohol	negative	negative
Use in cosmetic	0.001-0,03%	
Storage	Keep cool in well closed containers Protected from light	

Bogor, 22 January 2010


 Yvonne Matindap