Pembuatan dan Uji Aktivitas Edible Film Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Terhadap *Streptococcus Mutans*

Making and Testing the Edible Film Activity of Kaffir Jeruk Leaf Extract (*Citrus Hystrix*) Against *Streptococcus Mutans*

Wida Ningsih¹, Afdhil Arel²

¹Program Studi Farmasi Klinis, Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah

²Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat

e-mail: *1nwida777@gmail.com

ABSTRACT

*Halitosis or bad breath is caused by poor oral hygiene care, dental caries, oral infection, dry mouth, smoking and food residue stuck in the mouth. Oral care that is usually done to prevent halitosis is brushing teeth, using mouthwash and using mouth fresheners in the form of candy, spray and edible film. Edible films in circulation only contain menthol which functions to overcome minor irritations. This study aims to formulate an edible film containing antiseptic from kaffir lime leaf extract with various concentrations of 5%, 10% and 15% and to perform a physical evaluation and test the antibacterial activity of the edible film. Testing of antibacterial activity against *Streptococcus mutans* using the blood agar diffusion method. Physical evaluation of edible films includes organoleptic degrees of acidity, friability, drying shrinkage, and thickness. The results of the evaluation of the physical properties of the formulated edible films were compared with the edible films already circulating in the market under the "GF" brand which showed that the physical properties of all formulas were close to the physical properties of "GF" edible films. The results of the antibacterial activity test of the preparation showed that the average diameter of the clear zone was the largest in F3, which was 27.00 mm compared to F1 at 23.00 mm and F2 at 25.67 mm. The three edible film formulas produced are included in the category of very strong bacterial inhibition response according to David Stout.*

Keywords : *Halitosis, Edible Film, Streptococcus Mutans, Daun Jeruk Purut*

PUBLISHED BY :

Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Parepare

Address :

Jl. Jend. Ahmad Yani Km. 6, Lembah Harapan
Kota Parepare, Sulawesi Selatan.

Email :

jurnalmakes@gmail.com

Phone :

+62 853 3520 4999

Article history :

Received 15 Agustus 2022

Received in revised form 6 September 2022

Accepted 12 September 2022

Available online 17 September 2022

ABSTRAK

Halitosis atau bau mulut disebabkan oleh buruknya perawatan kebersihan mulut, karies gigi, infeksi rongga mulut, mulut kering, merokok dan sisa makanan yang menempel dalam mulut. Perawatan mulut yang biasa dilakukan untuk mencegah halitosis seperti menggosok gigi, menggunakan obat kumur dan menggunakan sediaan penyegar mulut yang berupa permen, spray dan edible film. Edible film yang beredar hanya mengandung mentol yang berfungsi mengatasi iritasi ringan. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasi edible film yang mengandung antiseptik dari ekstrak daun jeruk purut dengan variasi konsentrasi 5%, 10% dan 15% dan melakukan evaluasi fisik serta pengujian aktifitas anti bakteri dari edible film. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* menggunakan metoda difusi agar darah. Evaluasi fisik edible film meliputi organoleptis derajat keasaman, kerapuhan, susut pengerinngan, dan ketebalannya. Hasil evaluasi sifat fisik edible film yang diformulasi dibandingkan dengan edible film yang sudah beredar di pasaran dengan merek "GF" yang memperlihatkan sifat fisik semua formula mendekati sifat fisik edible film "GF". Hasil pengujian aktivitas antibakteri sediaan menunjukkan diameter rata-rata zona bening paling besar pada F3 yaitu 27,00 mm dibandingkan F1 sebesar 23,00 mm dan F2 sebesar 25,67 mm. Ketiga formula edible film yang dihasilkan termasuk dalam kategori respon hambatan bakteri golongan sangat kuat menurut David Stout.

Kata kunci : Halitosis, Edible Film, *Streptococcus Mutans*, Daun Jeruk Purut

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut tidak hanya sebatas memiliki gigi yang rapi dan bersih saja, tetapi juga terbebas dari seluruh penyakit serta masalah-masalah kesehatan pada rongga mulut termasuk masalah halitosis. Rongga mulut yang sehat memungkinkan seseorang untuk berkomunikasi secara efektif, menikmati berbagai jenis makanan, meningkatkan kualitas hidup, kepercayaan diri, dan memiliki kehidupan sosial yang lebih baik. Adanya halitosis memberikan dampak negatif terhadap semua hal tersebut, bahkan dapat memicu timbulnya stres¹.

Halitosis adalah bau nafas tak sedap dan menusuk hidung yang keluar dari rongga mulut. Penyebab halitosis dari dalam rongga mulut biasanya karena perawatan kebersihan mulut yang buruk, karies gigi, infeksi rongga mulut, mulut kering, merokok, sisa makanan dalam mulut. Faktor-faktor dari luar rongga mulut yang menjadi penyebab halitosis, antara lain infeksi saluran pernapasan, infeksi gastrointestinal, karsinoma, dan diabetes. Adanya halitosis memberikan dampak negatif terhadap semua hal tersebut, bahkan dapat memicu timbulnya stres. Sampai saat ini, halitosis merupakan salah satu masalah kesehatan mulut yang banyak dikeluhkan masyarakat setelah karies dan penyakit periodontal^{1,2}.

Halitosis dapat dicegah dengan merawat kebersihan dalam rongga mulut melalui perawatan sumber-sumber penyebab di dalam rongga mulut yang dapat secara efektif memecahkan masalah-masalah nafas tak sedap. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mencegah dan menghilangkan halitosis yaitu dengan penggunaan bahan tradisional yang berasal dari alam².

Jeruk purut (*Citrus hystrix*) merupakan tanaman yang mudah dijumpai sehingga mudah didapat oleh masyarakat. Bagian tanamana jeruk purut yang sering digunakan oleh masyarakat adalah bagian daun dan buahnya sebagai bumbu masak dan bahan utama dalam obat-obatan tradisional. Daun jeruk purut mengandung alkaloid, polifenol, minyak atsiri, tannin dan flavonoid. Jeruk purut memiliki efek farmakologis sebagai antiseptik dan mempunyai antioksidan yang sangat tinggi³.

Edible film adalah lapisan tipis yang dibuat dari bahan yang dapat dimakan, dibentuk di atas komponen makanan yang berfungsi sebagai penghambat transfer massa (misalnya kelembaban, oksigen, lemak dan zat terlarut) dan atau sebagai *carrier* bahan makanan atau aditif dan untuk meningkatkan penanganan makanan. *Edible film* digunakan untuk mencegah proses oksidasi, perubahan organoleptik, pertumbuhan mikroba atau penyerapan uap air. Penggunaan lain dari *edible film* sebagai pembawa antioksidan yang dapat melindungi produk terhadap proses oksidasi lemak⁴.

Menurut penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Miftahendarwati³ (2014) melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Streptococcus mutans* dengan variasi konsentrasi (5%, 10%, 15%, 20% dan 25%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut konsentrasi 5% memperlihatkan daerah hambat rata-rata sebesar 7,2 mm dan pada konsentrasi 25% memperlihatkan daerah hambat rata-rata sebesar 9,3 mm terhadap pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans*. Daerah hambat kedua konsentrasi termasuk kategori aktivitas antibakteri golongan sedang menurut David dan Stout.

Berdasarkan uraian di atas peneliti memformulasi ekstrak daun jeruk purut dalam bentuk sediaan *edible film* dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan melihat daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dari sediaan *edible film*.

METODE

Alat dan Bahan

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kaca arloji, cawan penguap, botol semprot, krus, corong (Iwaki[®]), beaker glass (Iwaki[®]), gelas ukur (Iwaki[®]), kertas perkamen, timbangan digital (Ohaus[®]), lemari pendingin (Pannasonic), botol maserasi, tabung reaksi 25cm (Pyrex[®]), rak tabung, pipet tetes, *rotary evaporator* (IKA[®]), *hot plate* (BOECO Germany MSH-40), *magnetic stirrer*, batang pengaduk, oven (Mettler), desikator (DURAN[®]), pinset, spatel, alat cetak *edible film* hasil modifikasi, alat uji ketebalan film (Mikrometer skrup), pH meter (Inolab), dan *Roche friabilator* (Guoming CS-1), cawan petri, erlenmeyer (Iwaki[®]), inkubator (*Mettler*), LAF (*Laminar Air Flow*), autoklaf (UL[®] GP38), pipet mikro, lampu spiritus, jarum ose, kertas cakram (Whatmann[®]), kapas steril, koran bekas, kain kasa steril, Spektrofotometer UV-Visible (PG 92+).

Bahan – bahan yang digunakan adalah daun jeruk purut, etanol 70%, pati jagung (Maizenaku[®]), HPMC, sorbitol 70%, Na-sakarin, minyak permen, menthol, nipagin, nipasol, pasta melon, kloroform amoniak, kloroform asetat, etanol 96%, FeCl₃, HCl_(p), sebuk Mg, norit, H₂SO₄, Pereaksi mayer dan aquadest, Biakan bakteri *Streptococcus mutans*, larutan kristal violet, larutan lugol, larutan NaCl Fisiologis (PT. Sanbe), Blood Agar (Becton Dickinson[®]), *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), Pembanding “Go Fresh” (PT. Aquasolve Sanaria).

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) yang diperoleh dari Pasar Raya Kota Padang.

Formulasi *Edible Film* Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*)

Tabel 1. Formula *Edible Film* (Yenni, 2013)

Komposisi	Formula			
	F0	F1	F2	F3
Ekstrak daun jeruk purut (g)	0	5	10	15
Pati jagung (g)	6	6	6	6
HPMC (g)	4	4	4	4
Sorbitol 70% (mL)	4	4	4	4
Na. Sakarin (g)	0,25	0,25	0,25	0,25
Mentol (g)	0,1	0,1	0,1	0,1
Ol. MP (mL)	1	1	1	1
Nipagin (g)	0,18	0,18	0,18	0,18
Nipasol (g)	0,02	0,02	0,02	0,02
Pasta melon (g)	0,25	0,25	0,25	0,25
Air suling (mL)	84,2	79,2	74,2	69,2
Total (mL)	100	100	100	100

Pembuatan *edible film* ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix*)

Pati jagung didispersikan dalam beberapa bagian air suling kemudian dipanaskan pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$, diaduk hingga terbentuk gel jernih. HPMC dikembangkan dalam air suling ditambah sorbitol, diaduk pada suhu yang dijaga $\pm 60^{\circ}\text{C}$. Kedua gel dicampurkan pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$, ditambah bahan tambahan yang lain (larutan natrium sakarin, pasta melon, ekstrak daun jeruk purut, nipagin, nipasol, mentol, minyak permen, dan sisa air) pada suhu kamar, diaduk homogen dan disebarkan pada cetakan (17 x 30 cm). Pengeringan dilakukan di dalam oven pada suhu 45 – 50 $^{\circ}\text{C}$ selama 18 jam, lalu dilepaskan dari cetakan lalu dipotong potong dengan ukuran 2,2 x 3,2 cm.

Gambar 1. Sediaan *Edible Film*

Evaluasi Sediaan *Edible film*

Evaluasi *edible film* meliputi pemeriksaan organoleptis, kerapuhan, susut pengeringan, pemeriksaan pH, ketebalan *edible film*, uji daya mengembang (*swelling*) dan uji aktivitas antibakteri.

Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi pengamatan bentuk, warna, bau dan rasa dari *edible film* yang dihasilkan. Pemeriksaan dilakukan pada suhu kamar (15 – 30°C) setiap minggu selama 6 minggu.

Pemeriksaan Kerapuhan *Edible film*

Kerapuhan *edible film* dilakukan sesuai dengan uji kerapuhan tablet menggunakan alat *Roche Friabilator*. Evaluasi ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan fisik *edible film* tersebut. Dua puluh lembar *edible film* bebas dari debu ditimbang bersama (W_1), kemudian dimasukkan ke dalam *Roche Friabilator*, dijalankan alat selama 4 menit dengan kecepatan putaran 25 rpm. Dibersihkan dua puluh lembar *edible film* tersebut dari debu dan ditimbang kembali (W_2) (Voight, 1995). Kerapuhan *edible film* dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kerapuhan} = 1 - \frac{W_2}{W_1} \times 100\%$$

Pemeriksaan Susut Pengeringan

Cawan porselen dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai diperoleh bobot tetap (A). *Edible film* ditimbang seberat 2g dalam cawan porselen (B) kemudian dikeringkan dalam oven selama 2-5 jam sampai diperoleh bobot tetap (C), susut pengeringan ditentukan dalam persen terhadap berat sampel yang digunakan (Depkes, 1995).

$$\% \text{ Susut Pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{B-A} \times 100\%$$

Pemeriksaan pH

Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan alat pH meter inoLab alat ini dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan dapar pH 4 dan pH 7. Elektroda dibilas dengan air suling dan dikeringkan. Pengukuran pH *edible film* ekstrak daun jeruk purut dilakukan dengan cara 1g *edible film* dilarutkan dengan air suling hingga 10 ml. Elektroda dicelupkan dalam wadah tersebut, angka menunjukkan pada pH meter merupakan nilai pH *edible film* ekstrak daun jeruk purut. Pemeriksaan ini dilakukan setiap minggu selama 6 minggu⁵.

Pemeriksaan ketebalan *edible film*

Edible film yang dihasilkan diukur ketebalannya menggunakan mikrometer skrup. Pengukuran dilakukan pada 5 tempat yang berbeda dengan tiga kali pengulangan⁶.

Uji daya mengembang (*Swelling test*)

Uji daya mengembang dilakukan dengan memasukkan satu lembar *film* ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan air suling sebanyak 5 mL. Lihat berapa lama waktu yang diperlukan *film* untuk mengembang.

Uji Aktivitas Antimikroba dengan Metode Difusi (*Metode Kirby Bauer*)

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat yang digunakan terlebih dahulu telah dicuci bersih dan dikeringkan sebelum disterilkan. Alat seperti cawan petri, corong dibungkus dengan koran. Tabung reaksi dan pipet tetes ditutup mulutnya dengan kapas lalu dibungkus satu persatu dengan kertas koran. Semua alat disterilkan dalam oven pada suhu 160°C selama 1 jam. Mulut erlenmeyer dan gelas ukur ditutup dengan kapas dan dibungkus satu persatu dengan kertas koran lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 lubis. Pinset, jarum ose dan kaca objek disterilkan dengan cara dibakar menggunakan lampu spiritus.

Pengambilan Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Streptococcus mutans* murni diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

Identifikasi bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pewarnaan gram. Caranya : bakteri difiksasi diatas preparat *object glass* selama 5 menit, lalu dicuci dan dibilas + larutan lugol diamkan selama 45 – 60 detik lalu dicuci dengan alkohol 96% selama 15 – 30 menit. Sediaan dicuci dengan air dan diwarnai dengan larutan safranin. Warna ungu untuk bakteri gram positif dan warna merah untuk bakteri gram negatif⁷.

Pembuatan media *blood agar*

Sebanyak 20 g serbuk *blood agar* dilarutkan dalam 500 mL air suling dan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit setelah steril tunggu hingga 45°C lalu tambahkan darah segar sebanyak 5 ml, campur hingga rata kemudian tuangkan kedalam cawan petri.

Pembuatan suspensi mikroba uji

Koloni bakteri disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis steril dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan dengan vortex kemudian diukur kekeruhan dari suspensi yang setara dengan kekeruhan standar Spektrofotometer UV-Vis sehingga diperoleh suspensi dengan transmittan 25% pada panjang gelombang 580 nm⁸.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut dalam sediaan *edible film*

Suspensi mikroba diusapkan ke dalam cawan petri media *blood* agar padat selanjutnya kertas cakram steril ditetesi dengan 10 μ L sediaan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C, selama $\pm$ 24 jam. Diamati pertumbuhan bakteri dan diukur diameter daya hambat ditandai dengan adanya area bening misalkan daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Pengujian dilakukan terhadap ekstrak daun jeruk purut konsentrasi 5%, 10%, 15% sebagai kontrol negatif DMSO. Kemudian dilakukan pengujian terhadap sediaan *edible film*. Lembaran *film* berdiameter 5 mm diletakkan di atas media agar kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C, selama $\pm$ 24 jam. Diamati pertumbuhan bakteri dan diukur diameter daya hambat ditandai dengan adanya daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Pengujian dilakukan terhadap sediaan F1, F2, F3 dan sebagai kontrol negatif basis *edible film* (F0), pembanding sediaan yang sama (GF[®])⁹.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut dalam sediaan *edible film*

Suspensi mikroba diusapkan ke dalam cawan petri media *blood* agar padat selanjutnya kertas cakram steril ditetesi dengan 10 μ L sediaan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C, selama $\pm$ 24 jam. Diamati pertumbuhan bakteri dan diukur diameter daya hambat ditandai dengan adanya area bening misalkan daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Pengujian dilakukan terhadap ekstrak daun jeruk purut konsentrasi 5%, 10%, 15% sebagai kontrol negatif DMSO. Kemudian dilakukan pengujian terhadap sediaan *edible film*. Lembaran *film* berdiameter 5 mm diletakkan di atas media agar kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C, selama $\pm$ 24 jam. Diamati pertumbuhan bakteri dan diukur diameter daya hambat ditandai dengan adanya daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Pengujian dilakukan terhadap sediaan F1, F2, F3 dan sebagai kontrol negatif basis *edible film* (F0), pembanding sediaan yang sama (GF[®])⁹.

HASIL

Penelitian ini bertujuan memformulasi sediaan yang dapat mengatasi halitosis atau bau mulut dengan menggunakan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) bentuk sediaan *edible film* dengan variasi konsentrasi ekstrak 0%, 5%, 10% dan 15%. Masyarakat sering menggunakan daun jeruk purut sebagai bumbu masak yang berfungsi untuk memberi aroma yang khas pada masakan. Selain itu, daun jeruk purut juga sering digunakan sebagai bahan utama dalam obat-obatan tradisional. Sebelumnya telah ada penelitian yang menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jeruk purut terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan salah satu bakteri pada mulut yang dapat menyebabkan halitosis. Flavonoid dan minyak atsiri yang terkandung di dalam daun jeruk purut dilaporkan mempunyai aktifitas sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab halitosis³.

Ekstrak daun jeruk purut diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 5 hari dan dikentalkan menggunakan rotary evaporator. Rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 17,08%, penetapan kadar abu 8,85% serta susut pengeringan 7,32%. Selanjutnya dilakukan

pengujian fitokimia yang memberikan hasil baik terhadap ekstrak etanol daun jeruk purut positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, fenolik, steroid dan terpenoid. Berdasarkan literatur yang menyatakan senyawa flavonoid dan minyak atsiri yang bersifat sebagai antibakteri.

Persyaratan mutu sifat fisik *edible film* sebagai sediaan farmasi belum ditetapkan pada buku-buku standar. Oleh karena itu, dalam penelitian ini untuk mengetahui sifat fisik *edible film* dibandingkan dengan sifat fisik *edible film* yang beredar di pasaran yaitu GF[®] sebagai pembanding. Setelah dilakukan evaluasi sifat fisik *edible film* ekstrak etanol daun jeruk purut dilanjutkan melakukan pengujian mikrobiologi sediaan *edible film*.

Pemeriksaan organoleptis *edible film* ekstrak etanol daun jeruk purut dilakukan selama 6 minggu. Terdapat perbedaan pada F3 dimana ekstrak daun jeruk purut konsentrasinya besar sehingga warna sediaan lebih gelap dibandingkan F2 dan F1. Dari hasil evaluasi organoleptis *edible film* yang meliputi pemeriksaan bentuk, bau, warna dan rasa, selama 6 minggu tidak mengalami perubahan selama penyimpanan. Hal ini mengindikasikan bahwa sediaan *edible film* stabil selama penyimpanan.

Dari hasil pemeriksaan kerapuhan *edible film* menggunakan alat uji kerapuhan *Roche Friabilator* didapatkan bahwa tidak terjadi perubahan bentuk sediaan atau patah selama pengujian. Pengurangan berat sediaan disebabkan *edible film* mengalami gesekan pada saat pengujian. Adapun hasil uji kerapuhan tersebut sebagai berikut $F_0 = 0,1061\% \pm 0,008$, $F_1 = 0,1618\% \pm 0,017$, $F_2 = 0,1907\% \pm 0,022$, $F_3 = 0,2223\% \pm 0,052$, $P = 0,1268\% \pm 0,037$. Perbedaan hasil uji kerapuhan pada setiap formula disebabkan oleh perbedaan berat pada masing – masing sediaan *edible film* dan perbedaan jumlah ekstrak etanol yang digunakan pada setiap formula. Pada uji kerapuhan ini semua formula *edible film* yang diuji tidak patah dan bentuknya tetap utuh dan hanya mengalami pengurangan berat karena gesekan yang terjadi ketika proses pengujian pada alat. Evaluasi kerapuhan ini bertujuan untuk menjamin *edible film* tetap utuh sampai pada konsumen.

Dari hasil pemeriksaan susut pengeringan *edible film*, persentase susut pengeringan yang paling tinggi ditunjukkan pada formula F3 yaitu 20,35%. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak yang lebih besar dibandingkan formula yang lainnya. Secara teoritis, proses pengeringan akan mengakibatkan penyusutan sebagai akibat dari lepasnya air sehingga gel akan membentuk *film* yang stabil.

Evaluasi pH sediaan *edible film* dilakukan selama 6 minggu. Nilai rata - rata pH *edible film* yang didapatkan berkisar antara 5,773 – 7,136 dimana nilai rata – rata pH dari $F_0 = 7,136 \pm 0,045$, $F_1 = 5,773 \pm 0,125$, $F_2 = 6,085 \pm 0,139$, $F_3 = 6,523 \pm 0,051$ $P = 6,246 \pm 0,128$. Hasil uji pengukuran pH yang diperoleh berubah – ubah setiap minggu, namun masih memenuhi rentang pH fisiologis mulut, yaitu berada dalam range 5,5 – 7,9¹⁰. Perubahan pH tiap minggunya kemungkinan disebabkan oleh sensitifitas alat pH meter inolab yang digunakan dan proses penyimpanan sediaan.

Pemeriksaan ketebalan *edible film* menggunakan alat mikrometer sekrup dengan ketelitian 0,01 mm pada lima tempat yang berbeda kemudian hasilnya di rata – ratakan. Diperoleh hasilnya sebagai berikut : $F_0 = 0,09 \pm 0,021$, $F_1 = 0,17 \pm 0,003$, $F_2 = 0,22 \pm 0,005$, $F_3 = 0,27 \pm 0,003$, $P = 0,01 \pm 0$. Perbedaan

ketebalan terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi ekstrak yang dikandung pada masing – masing sediaan, dimana F3 paling tebal dibandingkan F1, F2 dan F0.

Pada pemeriksaan uji daya mengembang diperoleh hasil waktu mengembang rata-rata dari sediaan F0= 6,53 detik, F1= 12,12 detik, F2= 29,68 detik, F3= 30,60 detik, P= 3,32 detik. Peningkatan waktu uji daya mengembang disebabkan karena konsentrasi ekstrak yang ditambahkan pada edible film yang juga akan mempengaruhi waktu hancur (mengembang) *edible film*. Semakin besar jumlah ekstrak semakin lama waktu yang dibutuhkan *edible film* untuk mengembang. Mekanisme hancurnya *film* melalui mekanisme *swelling* dan *wicking*. Adapun mekanisme *swelling* yaitu setelah *film* kontak dengan air maka terjadi penetrasi air karena kapilerisasi (*wicking*) sehingga *film* mengembang dan mekanisme *wicking* yaitu adanya air yang ditarik oleh disintegan, maka air akan berpenetrasi masuk kedalam pori – pori *film* akibatnya ikatan antar partikel menjadi lemah dan *film* mengembang¹¹.

Evaluasi	Pengamatan				
	F0	F1	F2	F3	P
Pemerian					
-Bentuk	PLT	PLT	PLT	PLT	PLT
-Bau	KM	KMjp	KMjp	KMkjp	KM
-Warna	HMT	Ck	C	CT	BK
-Rasa	Mm	Km	Km	Km	Mm
Kerapuhan (%)	0,1061 ±0,008	0,1618 ±0,017	0,1907 ±0,022	0,2223 ±0,052	0,1268 0,037
Susut					
Pengeringan (%)	14,44 ±0,001	14,56 ±0,001	15,95 ±0,012	20,35 ±0,016	11,03 ±0,001
Ph	7,136 ±0,045	5,773 ±0,125	6,085 ±0,139	6,523 ±0,051	6,246 ±0,128
Ketebalan (mm)	0,09 ±0,021	0,17 ±0,003	0,22 ±0,005	0,27 ±0,003	0,01 ±0
Uji Daya mengembang (detik)	6,53	12,12	29,68	30,60	3,32
Aktivitas Antibakteri (Diameter Daya Hambat)	10,00 mm ±0,50	23,00 mm ±1,00	25,67 mm ±2,08	27,00 mm ±2,64	10,50 mm ±0,50

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk purut terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan menggunakan metoda difusi agar dan kertas cakram, metode ini paling umum digunakan untuk menentukan aktivitas bahan uji terhadap bakteri. Inkubasi 24 jam dilakukan untuk memberikan waktu bagi bakteri untuk memperbanyak diri dengan cepat serta melakukan aktivitas metabolisme. Hasilnya menunjukkan bahwa setelah 24 jam diinkubasi, semua kelompok konsentrasi ekstrak daun jeruk purut mampu menghambat

pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi zona inhibisinya. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelzcer and Chan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya akan semakin kuat³.

Pengukuran diameter daya hambat ekstrak etanol daun jeruk purut dilakukan dengan melarutkan masing – masing ekstrak dengan pelarut DMSO. DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun nonpolar. Dalam hal ini, DMSO dipakai sebagai kontrol negatif yang tidak akan memberikan daya hambat serta tidak mengganggu hasil pengamatan. Konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk purut 5% memberikan diameter daya hambat sebesar 7,43 mm, konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk purut 10% memberikan diameter daya hambat sebesar 8,00 mm dan konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 15% memberikan diameter daya hambat sebesar 8,90 mm. Ekstrak etanol daun jeruk purut dengan variasi konsentrasi 5%, 10% dan, 15% memiliki diameter daya hambat yang termasuk ke dalam golongan sedang yaitu berkisar antar 5 – 10 mm menurut Davis Stout. Adanya area bening yang memberikan diameter daya hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Pengujian aktivitas antibakteri dari sediaan *edible film* ekstrak etanol daun jeruk purut dilakukan menggunakan metoda difusi agar dengan meletakkan lembaran *film* dengan diameter 5 mm di atas media *blood agar* yang telah diusapkan suspensi bakteri dengan kapas lidi steril. Hasilnya diperoleh bahwa diameter daya hambat rata – rata F0= 10,00 mm, F1= 23,00 mm, F2= 25,67 mm dan F3= 27,00 mm. Sebagai kontrol positif digunakan pembanding GF[®], didapatkan diameter daya hambat rata – rata sebesar 10,50 mm. Pada basis *edible film* F0 yang digunakan sebagai kontrol negatif memberikan daya hambat rata – rata sebesar 10,00 mm karena terdapat nipagin, nipasol, menthol dan minyak permen sebagai bahan antimikroba. Namun nilai rata – rata diameter daya hambat termasuk kategori lemah terhadap hambatan pertumbuhan bakteri menurut Davis Stout¹².

Gambar 2. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*.

Gambar 3. Gambar Aktivitas Antibakteri Formula Sediaan *Edible Film* Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut semua konsentrasi dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan *edible film*. Hasil evaluasi sifat fisik formula *edible film* hampir sama dengan pembanding dan hasil uji daya aktivitas antibakteri terdapat perbedaan yang bermakna antara F1, F2 dan F3 terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Formula 3 dengan konsentrasi 15% memberikan daya hambat paling besar, yaitu 27,00 mm ($p < 0,05$) dan dikategorikan kedalam respon hambatan pertumbuhan bakteri golongan sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pintauli, S., dan Harmada, T., 2008, *Menuju Gigi dan Mulut Sehat*, Medan : USU.
2. Cortelli, J.R, Barbosa, M. D. S., and Wetsphal, M. A., 2008. Halitosis: A Review of Associated Factors and Therapeutic Approach, *Braz Oral Res*, 22(1).
3. Miftahendarwati, 2014. *Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans (In Vitro)*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
4. Krochta, J.M., 1992, *Control of Mass Transfer in Foods with Edible Coating and Film*, *Advances Food Engineering*. Elsevier Sci. Publ. Co.Inc. New York.
5. Depkes, RI. 1979. *Farmakope Indonesia*, edisi III. Ditjen POM Depkes RI. Jakarta.
6. Arifin, M. F., Nurhidayati, L., Syarmalina, dan Rensy. 2010. Formulasi *Edible Film* Ekstrak Daun sirih (*Piper betle L.*) sebagai Antihalitosis, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Jakarta.
7. Benjamin, W., S, Lisa, M. S dan Rodrigo, S. 2006. *Intisari Mikrobiologi dan Imunologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
8. Jasril, Teruna H.Y., Zamri A., Alfatos D., Yuslinda E., dan Nurulita Y. 2012. *Sintesis dan Uji Antibakteri Senyawa Bromo Kalkon Piridin*. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu

- Pengetahuan Alam: Universitas Riau dan Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi. Riau Pekanbaru. *J.Natur Indonesia* 14(3), 172-175.
9. Amaliya, R.R dan Putri, Widya, D.R. 2014. Karakterisasi Edible Film dari Pati Jagung dengan Penambahan Filtrat Kunyit Putih Sebagai Antibakteri. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 2, No.3.
 10. Rooban, T., G. Mishra, J. Elizabeth, K. Ranganathan and T. R. Saraswathi, 2006, Effect of Habitual Arecanut kekeruhan standar Spektrofotometer UV-Vis sehingga diperoleh suspensi dengan transmittan 25% pada panjang gelombang 580 nm (Jasril *et al*, 2012).
 11. Krochta, J.M., EA Baldwin., and MO Nisperos-Carriedo., 1994, *Edible Coating and Film to Improve Food Quality*, Technomic Publishing Company, New York.NY.
 12. Rokhman, Fatkur. 2007. *Aktivitas Antibakteri Filtrat Bunga Teleng (Clitoria ternatea l) Terhadap Bakteri Penyebab Konjungtivitis*. Institusi Pertanian Bogor.