

## FORMULASI MOUTHWASH DARI DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus* PENYEBAB PLAK GIGI

### MORINGA LEAVES (*Moringa oleifera* L.) MOUTHWASH FORMULATION FOR ANTIBACTERIAL AGAINST *Staphylococcus aureus* AS A CAUSE OF DENTAL PALAQUE

Vesika Vedantha Rosalia<sup>1</sup>, Juwita Rahmawati<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

\*E-mail correspondence : [jr673@ums.ac.id](mailto:jr673@ums.ac.id)

#### Abstrak

Daun kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah salah satu tanaman yang mengandung tanin, saponin, terpenoid, dan flavonoid yang berpotensi sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*, salah satu bakteri penyebab terbentuknya plak gigi. Tujuan dari penelitian ini adalah memformulasikan ekstrak etanol daun kelor menjadi *mouthwash* dengan variasi konsentrasi tween 80 sebagai surfaktan dan gliserin sebagai humektan di dalam *mouthwash* yang mempunyai sifat fisik yang baik dan untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Optimasi ini menggunakan *software Design Expert* versi 13.0 dengan metode *Simplex Lattice Design*. Uji sifat fisik meliputi pH, viskositas, dan bobot jenis. Ekstrak etanol daun kelor didapatkan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil pengujian yang didapat menunjukkan bahwa formula optimum *mouthwash* yang diperoleh adalah kombinasi 5% tween 80 dan 10% gliserin. Berdasarkan penelitian ini, tween 80 memiliki pengaruh yang lebih besar terhadap pH, viskositas dan bobot jenis dibandingkan gliserin. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa *mouthwash* ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 11,3 mm termasuk dalam kategori kuat.

**Kata Kunci:** mouthwash, daun kelor, antibakteri, *Staphylococcus aureus*

#### Abstract

*Moringa leaves (Moringa oleifera L.) are a plant that contains tannins, saponins, terpenoids, and flavonoids which have the potential to act as an antibacterial against Staphylococcus aureus, one of the bacteria that causes the formation of dental plaque. The aim of this research is to formulate ethanol extract of moringa leaves into mouthwash with varying concentrations of tween 80 as a surfactant and glycerin as a humectant in the mouthwash which has good physical properties and to determine antibacterial activity against Staphylococcus aureus. This optimization uses Design Expert software version 13.0 with the Simplex Lattice Design method. Physical property tests include pH, viscosity and specific gravity. Ethanol extract of moringa leaves was obtained by the maceration method using 96% ethanol solvent. The test results obtained showed that the optimum mouthwash formula obtained was a combination of 5% tween 80 and 10% glycerin. Based on this research, tween 80 has a greater influence on pH, viscosity, and specific gravity than glycerin. Based on research, it can be concluded that ethanol extract of moringa leaves mouthwash has antibacterial activity against Staphylococcus aureus with an inhibition zone of 11.3 mm, which is in the strong category.*

**Keywords :** mouthwash, moringo leaves, antibacteria, *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Plak gigi merupakan lapisan lunak dan tipis berwarna putih kekuningan yang terdiri dari kumpulan mikroorganisme yang berkembang biak dan menempel di permukaan gigi yang tidak dibersihkan (Pintauli and Hamada, 2008). Komposisi plak gigi adalah 80% air dan 20% senyawa padat. 40-50% dari senyawa padat adalah protein, 13-18% karbohidrat dan 10-14% lemak. Agar tidak terjadi penyakit pada gigi dan mulut maka dibutuhkan cara untuk menghindari pembentukan plak gigi yang berlebihan. Plak dan karang gigi yang jarang dibersihkan dapat dengan mudah menyebabkan terjadinya karies gigi serta penyakit periodontal. Penyebab utama terbentuknya plak gigi adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri pada mulut penyebab plak pada gigi, gigi berlubang, bau mulut, dan gusi berdarah, bakteri yang teridentifikasi antara lain *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Bacteriodes oralis*, *Staphylococcus epidermitis*, dan jamur *Candida albicans*. *Staphylococcus aureus* pada plak gigi dan rongga mulut individu dengan penyakit periodontal didapatkan prevalensi *Staphylococcus aureus* adalah 13,4% pada penyakit periodontal dan 15,8% di rongga mulut.

Pembentukan plak gigi dapat dicegah dengan cara merawat dan menjaga kebersihan gigi yang dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu secara mekanis, kimiawi, dan alamiah. Pencegahan plak gigi secara kimiawi dapat berupa penggunaan *mouthwash* (Rahaswanti, 2018). *Mouthwash* merupakan sediaan cair yang memiliki fungsi untuk meningkatkan kesehatan rongga mulut, estetika, dan kesegaran nafas (Power *et.al.*, 2019). Ada banyak sekali macam *mouthwash*, diantaranya sebagai penyegar, penyegar plus pembunuh bakteri, dan ada yang kandungan antibakterinya sangat kuat. Langkah pembuatan *mouthwash* umumnya ada tiga, yaitu yang pertama membuat fase larut air yaitu melarutkan semua bahan yang larut dalam air. Kedua melarutkan semua bahan yang kurang larut air dengan pelarut organik yang sesuai ditambah dengan emulsifier. Langkah berikutnya kedua fase tersebut digabungkan. *Mouthwash* yang ideal adalah *mouthwash* yang mampu membasmi bakteri yang menyebabkan gangguan kesehatan mulut dan gigi, tidak menyebabkan iritasi, tidak mengubah indera perasa, tidak meningkatkan resistensi mikroba dan tidak menimbulkan plak pada gigi (Mitsui, 1997). Komposisi *mouthwash* terdiri atas 3 komponen, yaitu bahan aktif, surfaktan dan pelarut. Bahan aktif dipilih untuk kesehatan rongga mulut seperti antiplak, antimikroba dan pemberi *flouride*. Surfaktan yang biasa digunakan adalah tween 80, surfaktan sendiri dalam pembuatan *mouthwash* memiliki fungsi sebagai agen pembusa dan membantu pengangkatan plak dan sisa makanan dari gigi. Pembentukan busa pada *mouthwash* ini bertujuan untuk menurunkan tegangan permukaan dan memungkinkan pembersihan hingga ke sela-sela gigi. Surfaktan dapat berinteraksi dengan kotoran pada gigi dengan membentuk misel, sehingga proses ini membantu pencegahan plak gigi (Shanebrook, 2004). Pelarut yang biasa digunakan adalah air dan alkohol tetapi penggunaan alkohol dalam jangka panjang dapat memicu penghancuran jaringan saraf. Alkohol yang teroksidasi dapat melukai DNA secara langsung dan meningkatkan penetrasi karsinogen melintasi mukosa oral sehingga dapat terjadi risiko kanker mulut (Satpathy *et al.*, 2013), maka inovasi *mouthwash* dari bahan alam dapat menjadi solusi atas masalah tersebut.

Salah satu bahan alam yang mengandung senyawa antibakteri adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid,

terpenoid, tanin, dan saponin yang bersifat antibakteri (Ikalinus *et al.*, 2015). Ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 80% memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 14,02 mm yang tergolong dalam kategori kuat, pada konsentrasi 60% sebesar 12,03 mm (kategori kuat), dan konsentrasi 40% sebesar 9,00 mm (kategori sedang). Penelitian yang dilakukan oleh Lusi *et al.*, (2016) membuktikan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat yang didapat yaitu 12 mm yang termasuk dalam kategori kuat, kemudian penelitian lain yang dilakukan oleh Aulia (2020) menyatakan ekstrak etanol daun kelor pada *Staphylococcus aureus* konsentrasi 100% menghasilkan daya hambat 8,5 mm (kategori sedang).

Oleh karena itu, formulasi obat kumur (*mouthwash*) dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang mengandung senyawa antibakteri yang diharapkan dapat menjadi sediaan yang mampu menekan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab plak gigi dengan efek samping yang minimal.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (*Ohaus*), pH meter (*Ohaus*), viskometer *ostwald*, peralatan gelas (*Pyrex*), botol coklat maserasi, ayakan, *rotary evaporator* (*Heidolph*), *waterbath* (*WTB 6 Memmert*), oven (*Memmert*®), autoclave (*Hiclave HVE-50*), incubator (*Memmert*®), mikropipet (*Socorex*), *centrifuge*, *Laminar Air Flow* (*KEYMIA*), inkubator (*Memmert Incobator IN30*) dan standar *McFarland*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dari desa Ngawen kabupaten Blora, etanol 96%, spiritus, larutan NaCl 0,9% steril (pro analisis), BHI (*Merck*, pro analisis), DMSO (*Merck*, pro analisis) dan *Nutrient Agar* (*Merck*, pro analisis), bakteri *Staphylococcus aureus* dari laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UMS, gliserin (teknis), natrium benzoat, sakarin, tween 80, *peppermint oil* dan aqua destilata (teknis) dari Laboratorium Formulasi Teknologi Sediaan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

### Ekstraksi sampel

Daun kelor dicuci kemudian dikeringkan di dalam almari pengering selama 2 hari. Daun kelor yang mengering kemudian diblender hingga diperoleh 500 gram serbuk kasar. Serbuk daun kelor kemudian dimasukkan dalam bejana ditambah 4 L etanol 96% hingga terendam dan disimpan pada suhu kamar. Rendaman selama 3 hari diaduk 2-3 kali setiap harinya. Serbuk yang telah direndam kemudian disaring menggunakan corong *Buchner*. Hasil ekstraksi kemudian diuapkan pada suhu 40-50 °C pada kecepatan 60 rpm menggunakan *rotary evaporator* kemudian dipanaskan di atas *waterbath* pada suhu 50 °C agar diperoleh ekstrak kental.

### Pembuatan *mouthwash* ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.)

Ekstrak etanol daun kelor sebagai bahan utama kemudian diformulasikan dengan kombinasi tween 80 dan gliserin agar membentuk sediaan *mouthwash* yang optimum dengan menggunakan aplikasi *Design Expert* versi 13.0 dengan metode *Simplex Lattice Design* untuk

mengetahui variasi konsentrasi tween 80 dan gliserin. Penelitian sebelumnya, optimasi gliserin sebagai humektan dalam membentuk sediaan *mouthwash* yang memenuhi persyaratan uji kontrol kualitas untuk dijadikan *mouthwash* yang baik, pada konsentrasi 7-15%. Menurut Collins (2009), konsentrasi gliserin sebagai humektan sebesar 5-20%. Menurut Mahmood *et al.*, (2013), konsentrasi tween 80 untuk *mouthwash* sebesar 1-15%. Batas atas dan bawah untuk gliserin dan tween 80 (Tabel 1) yang telah ditetapkan kemudian dimasukkan ke dalam aplikasi *Design Expert* versi 13.0 sehingga menghasilkan variasi konsentrasi tween sebagai surfaktan dan gliserin sebagai humektan (Tabel 2).

**Tabel 1. Batas bawah dan batas atas tween 80 dan gliserin**

Komponen	Batas Bawah	Batas Atas
Tween 80	4%	8%
Gliserin	6%	10%

**Tabel 2. Konsentrasi (%) surfaktan tween 80 dan humektan gliserin**

Formula	Run	Tween 80	Gliserin
I	1	4	10
	2	4	10
II	3	6	8
	8	6	8
III	4	8	6
	5	8	6
IV	6	7	7
V	7	5	9

Variasi konsentrasi tween 80 dan gliserin dalam pembuatan sediaan *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor kemudian digabungkan dengan bahan yang lain dalam pembuatan sediaan *mouthwash*, sehingga didapatkan formula *mouthwash* (Tabel 3). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Lusi *et al.* (2016) menunjukkan bahwa 0,05 g ekstrak etanol daun kelor sudah memberikan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 10,16 mm. Komponen obat kumur terdiri dari bahan aktif, tween 80, gliserin, *peppermint oil*, natrium benzoat, sakarin dan pelarut *aquadest*. Tween 80 dalam *mouthwash* berfungsi sebagai agen pembusa dan membantu pengangkatan plak dan sisa makanan dari gigi (Shanebrook, 2004). Gliserin berfungsi sebagai humektan, humektan pada *mouthwash* berperan untuk menjaga kondisi obat kumur dan memperbaiki stabilitas suatu bahan dalam jangka lama. Natrium benzoat berfungsi sebagai pengawet. Sakarin berfungsi sebagai pemanis dan *aquadest* digunakan sebagai pelarut.

Tahap pertama pembuatan *mouthwash*, disiapkan bahan yang larut air untuk membuat fase pertama (fase air). Bahan yang larut air (natrium benzoat, sakarin, tween 80, serta gliserin) dicampurkan dalam mortir, kemudian bahan yang tidak larut air dicampurkan seperti *peppermint oil* dan ekstrak daun kelor. Kedua fase dicampurkan, diaduk hingga larut, ditambahkan *aquadest* kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam botol bening.

**Tabel 3. Formula mouthwash ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.)**

Bahan	Fungsi	Jumlah (gram)				
		I	II	III	IV	V
Ekstrak etanol daun kelor	Bahan aktif	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Tween 80	Surfaktan	2	3	4	3,5	2,5
Gliserin	<i>Wetting agent / humektan</i>	5	4	3	3,5	4,5
<i>Pippermint oil</i>	<i>Flavors</i>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Natrium benzoat	Pengawet	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Sakarin	Pemanis	1	1	1	1	1
<i>Aquadest</i>	Pelarut	40,7	40,7	40,7	40,7	40,7

### Uji flavonoid

Ditimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol daun kelor, dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah etanol sebanyak 3 mL, dipanaskan menggunakan penangas air. Setelah dipanaskan, disaring, hingga didapatkan filtrat yang kemudian ditambah 5 tetes  $Pb(C_2H_3O_2)_2$  10%. Sampel mengandung flavonoid jika terbentuk endapan kuning (Basri *et al.*, 2022).

### Uji tanin

Ditimbang sebanyak 0,1 gram ekstrak etanol daun kelor dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah etanol sebanyak 3 mL, dipanaskan menggunakan penangas air. Ekstrak yang telah dipanaskan ditambahkan  $FeCl_3$  sebanyak 3 tetes. Adanya perubahan warna biru atau hijau kehitaman, menunjukkan positif tanin (Basri *et al.*, 2022).

### Uji terpenoid

Ekstrak etanol daun kelor sebanyak 0,5 gram kemudian ditambahkan 2 mL  $H_2SO_4$  pekat pada tabung reaksi. Setelah itu dikocok perlahan, didiamkan beberapa menit. Jika terbentuk warna merah kecokelatan sampai ungu artinya positif terpenoid.

### Uji saponin

Diambil sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol daun kelor ditambahkan 3 mL air pada tabung reaksi kemudian dikocok  $\pm$  1 menit, kemudian ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Dikatakan positif mengandung saponin jika hasilnya terbentuk busa (Yunita *et al.*, 2020).

### Evaluasi sediaan *mouthwash*

Evaluasi sediaan *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor meliputi uji fisik sediaan *mouthwash* dan uji antibakteri.

### Uji pH

Uji pH dilakukan menggunakan pH meter. Sebelum digunakan untuk mengukur pH sediaan, pH meter dikalibrasi dengan larutan standar pH 4, pH 7 dan pH 10. Uji pH dilakukan dengan cara mencelupkan elektroda ke dalam sediaan. pH *mouthwash* yang baik pada rentang pH 5-7. pH yang terlalu asam (<5) dapat memberikan efek buruk seperti iritasi pada mulut dan jika pH *mouthwash* terlalu basa (>7) dapat lebih mudah menumbuhkan jamur yang menyebabkan sariawan.

### Uji bobot jenis

Uji bobot jenis dilaksanakan dengan mengukur bobot piknometer kosong lalu dicatat hasilnya, setelah itu dilakukan penimbangan cairan pembanding yaitu air, dan dicatat hasilnya, hal ini juga dilakukan pada setiap formulasi yang akan dilakukan pengujian. Hal ini dilakukan

agar dapat mengetahui densitas atau berat jenis tiap formulasi kemudian densitas dicari sesuai dengan rumus yang telah ditentukan, setelah didapatkan hasil densitas dari tiap formulasi serta air sebagai pembanding, barulah dapat menentukan viskositas sediaan.

### **Viskositas**

Mengukur viskositas *mouthwash* dilakukan menggunakan viskometer *ostwald*. Prinsip viskometer ini adalah dengan mengukur waktu yang dibutuhkan cairan melewati 2 tanda pada pipa kapiler. Viskositas *mouthwash* yang baik adalah tidak lebih dari 7,25 cP (Gustin, 2019). Viskositas pada sediaan *mouthwash* merupakan hal yang sangat penting karena dapat mempengaruhi kenyamanan penggunaan. Viskositas yang baik adalah yang tidak terlalu kental, semakin dekat viskositas *mouthwash* dengan viskositas air maka semakin baik dan nyaman saat digunakan.

### **Uji Freeze-Thaw**

Uji stabilitas dilakukan dengan metode *Freeze-Thaw*. Tujuan dari uji stabilitas adalah untuk mengetahui kestabilan sediaan apabila diberikan perlakuan dengan suhu yang berbeda. *Freeze-Thaw Cycling Test* dilakukan pada suhu  $4\pm 2$  °C kemudian dipindah pada suhu  $25\pm 2$  °C selama 24 jam pada masing-masing suhu. Uji ini dilakukan sebanyak 7 siklus dan diamati pada uji organoleptis, pH, viskositas dan bobot jenis.

### **Sterilisasi alat dan bahan untuk uji antibakteri**

Alat-alat dicuci bersih, setelah kering dibungkus menggunakan kertas lalu disterilkan. Alat yang tahan pemanasan disterilkan menggunakan oven pada suhu 175 °C selama 1 jam. *Spreader glass* dan ose disterilkan dengan lampu spiritus dan media NA disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

### **Pembuatan media untuk uji antibakteri**

Bakteri *Staphylococcus aureus* dibiakkan menggunakan media *nutrient agar* (NA). Ditimbang media NA sebanyak 2,8 gram kemudian media dilarutkan dengan 100 mL *aquades* di atas *hot plate* dan *magnetic stirrer*. Media dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditutup rapat dengan aluminium foil kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit, setelah disterilkan pada saat medium masih dalam kondisi cair (sekitar suhu 45-50 °C) medium dituang ke dalam cawan petri.

### **Pembuatan suspensi bakteri untuk uji antibakteri**

Pembuatan suspensi bakteri yaitu dengan diambil 50 µL BHI bakteri *Staphylococcus aureus*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah disterilkan. Ditambah larutan NaCl 0,9% steril dan disesuaikan dengan larutan *Mc Farland*. Setelah itu diambil 200 µL dituang dan diratakan di cawan petri yang berisi media NA yang telah dibuat.

### **Pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol daun kelor untuk uji antibakteri**

Ekstrak etanol daun kelor ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian dilarutkan dengan DMSO sebanyak 1 mL untuk mendapat konsentrasi 10% b/v.

### **Uji aktivitas antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode sumuran, membuat beberapa lubang di cawan petri berisi media NA dengan menggunakan *cockborer*. Kemudian dimasukkan kontrol positif, kontrol negatif basis *mouthwash*, sampel *mouthwash*

optimum, serta ekstrak etanol daun kelor yang telah dicampur dengan DMSO. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Daya hambat yang terbentuk dapat diamati dan diukur menggunakan penggaris setelah proses inkubasi berakhir.

#### Analisis data

Penentuan formula optimum diperoleh dari aplikasi *Design Expert* versi 13.0 dengan metode *Simplex Lattice Design* dengan memasukkan respon uji yaitu uji pH, uji bobot jenis dan uji viskositas. Selanjutnya dilakukan analisis formula untuk menentukan formula yang paling optimum. Formula optimum yang telah didapat dilakukan verifikasi formula.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstrak etanol daun kelor

Ekstrak etanol daun kelor dibuat dengan metode maserasi. Maserasi adalah teknik ekstraksi untuk menarik metabolit sekunder dengan perendaman. Maserasi juga termasuk metode yang paling sederhana dan biaya relatif murah. Hasil ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental yang berwarna hijau tua kecoklatan.

**Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun kelor**

Bahan	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun Kelor	500	56,86	11,372

### Skrining Fitokimia

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor positif mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid (Tabel 5).

**Tabel 5. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun kelor**

No	Uji Fitokimia	Hasil		Kesimpulan*
		Literatur	Pengamatan	
1	Flavonoid	Endapan kuning	Endapan kuning tua	(+)
2	Tanin	Perubahan hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman	(+)
3	Saponin	Terbentuk busa stabil setelah dipanaskan dan dikocok	Terbentuk busa setelah pemanasan	(+)
4	Terpenoid	Terbentuk warna ungu	Terbentuk warna ungu menuju coklat	(+)

\*Kesimpulan : (+) positif terdapat metabolit sekunder ; (-) tidak terdapat metabolit sekunder

### Hasil evaluasi formula *mouthwash*

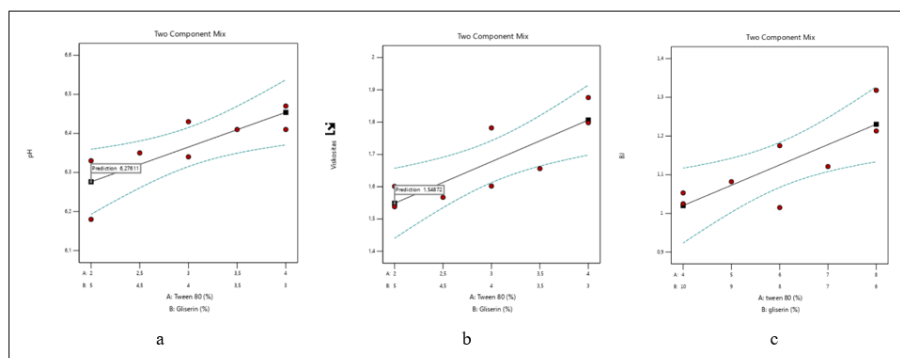
Hasil evaluasi formulasi *mouthwash* berupa uji pH, uji viskositas, uji bobot jenis serta uji organoleptis *mouthwash* (Tabel 6). Masing-masing uji dilakukan dengan 3 kali replikasi.

**Tabel 6. Hasil uji sifat fisik *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor**

Formula	pH	Viskositas (cP)	Bobot Jenis (g/mL)	Organoleptis			
				Konsistensi	Bau	Warna	Homogenitas
I	6,33±0,115	1,538±0,081	1,025±0,071	Cair	Khas mint	Hijau tua	Homogen
	6,18±0,085	1,601±0,033	1,053±0,056	Cair	Khas mint	Hijau tua	Homogen
II	6,43±0,07	1,602±0,050	1,015±0,128	Cair	Khas mint	Hijau tua	Homogen
	6,34±0,07	1,782±0,066	1,175±0,081	Cair	Khas mint	Hijau tua	Homogen
III	6,41±0,04	1,876±0,049	1,318±0,137	Cair	Khas mint	Hijau tua	Homogen
	6,47±0,153	1,798±0,050	1,213±0,198	Cair	Khas mint	Hijau tua	Homogen
IV	6,41±0,165	1,656±0,084	1,121±0,078	Cair	Khas mint	Hijau tua	Homogen
	6,35±0,098	1,567±0,272	1,082±0,155	Cair	Khas mint	Hijau tua	Homogen

### Analisis Simplex Lattice Design

Evaluasi sifat fisik menghasilkan data yang kemudian diolah menggunakan aplikasi *Design Expert* versi 13.0 dengan metode *Simplex Lattice Design (SLD)*, menghasilkan grafik (Gambar 1) dengan persamaan uji sifat fisik *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor (Tabel 7).



**Gambar 1. Grafik respon surface pH (a), viskositas (b), bobot jenis (c)**

Hasil respon diolah dengan *Design Expert* versi 13.0 dengan metode *SLD* sehingga diperoleh model grafik pada tabel 7. Model persamaan respon pH, viskositas, dan bobot jenis didapatkan model persamaan linear. Model linear memiliki tepi grafik yang lurus. Persamaan model uji sifat fisik *mouthwash* menunjukkan A sebagai tween 80 dan B sebagai gliserin.

**Tabel 7. Persamaan model uji sifat fisik *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor**

Respon	Persamaan	Model Grafik
pH	$Y = 6,45(A) + 6,28(B)$	Linear
Viskositas (cP)	$Y = 1,81(A) + 1,55(B)$	Linear
Bobot Jenis (g/mL)	$Y = 1,23(A) + 1,02(B)$	Linear

**Tabel 8. Evaluasi output *Design Expert* versi 13.0**

Parameter	Persyaratan	Respon		
		pH	Viskositas (Cp)	Bobot jenis (g/mL)
Signifikan (p- value)	<0,0500	0,0172	0,0109	0,0160
Lack of fit	>0,0500	0,9088	0,6589	0,7383
Adjusted R2	Selisih Adjusted R2 dan Predicted R2 < 0,2	0,5794	0,6356	0,5886
Predicted R2		0,2581	0,5014	0,4080
Adequate Precision	>4	6,1516	6,8528	6,2576

## Hasil uji pH

Nilai pH merupakan karakteristik penting untuk sediaan *mouthwash*. Nilai pH yang baik untuk *mouthwash* direntang 6-7 sesuai dengan pH mulut (Kono *et. al.*, 2018). Jika pH terlalu asam akan menyebabkan korosif pada gigi, jika terlalu basa dapat mengganggu pengecapan (Rachma, 2010).

Berdasarkan evaluasi output *Design Expert* versi 13.0 yang tertera pada Tabel 8, hasil uji pH menunjukkan nilai *p-value*, *lack of fit*, *adjusted R<sup>2</sup>*, *predicted R<sup>2</sup>* dan *adequate precision*, memenuhi persyaratan evaluasi output *Design Expert* versi 13.0, sehingga dihasilkan model respon prediksi yang sesuai karena tidak terdapat *noise* pada data. Pengaruh kombinasi surfaktan tween 80 dan humektan gliserin dalam formula sediaan *mouthwash* ekstrak daun kelor dapat diketahui dengan valid. Berdasarkan persamaan model uji sifat fisik *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor, nilai  $A > B$ , artinya tween 80 memiliki pengaruh terhadap pH yang lebih besar dibandingkan dengan gliserin, semakin besar penambahan tween 80 dalam formulasi *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor meningkatkan nilai pH.

## Viskositas

Viskositas sediaan obat kumur standar  $\leq 7,25$  cP (Gustin, 2019). Viskositas yang baik adalah tidak terlalu kental, semakin dekat viskositas *mouthwash* dengan viskositas air, maka semakin mudah dan nyaman *mouthwash* saat digunakan. Tingkat viskositas air murni  $\pm 1$  cP (Lukas, 2012).

Berdasarkan evaluasi output *Design Expert* versi 13.0 (Tabel 7), hasil uji pH menunjukkan nilai *p-value*, *lack of fit*, *adjusted R<sup>2</sup>*, *predicted R<sup>2</sup>* dan *adequate precision* sudah memenuhi persyaratan evaluasi output *Design Expert* versi 13.0, sehingga dihasilkan model respon prediksi yang sesuai karena tidak terdapat *noise* pada data. Pengaruh kombinasi tween 80 (surfaktan) dan gliserin (humektan) dalam formula sediaan *mouthwash* ekstrak daun kelor dapat diketahui dengan valid. Berdasarkan persamaan model uji sifat fisik *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor menunjukkan bahwa nilai  $A > \text{nilai } B$ , artinya tween 80 memiliki pengaruh yang lebih besar dibandingkan gliserin dalam pembuatan sediaan *mouthwash*, sehingga semakin besar penambahan tween 80 maka semakin besar pula nilai viskositas yang dihasilkan.

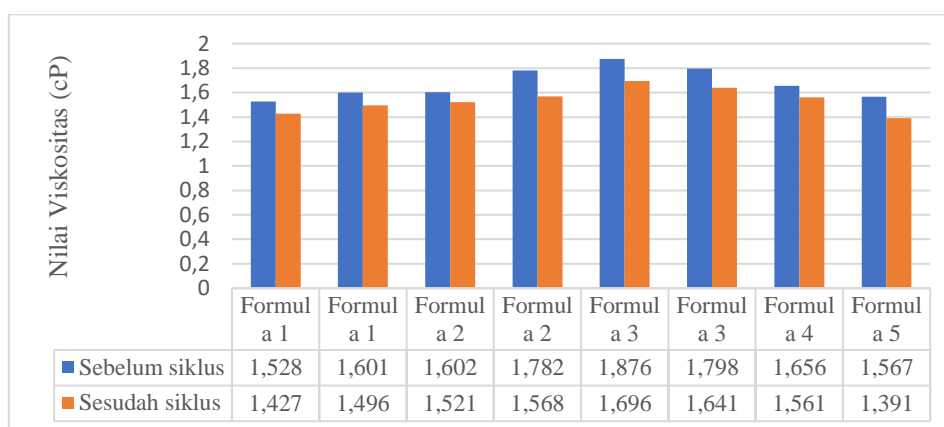
## Bobot jenis

Uji bobot jenis dilakukan untuk memastikan *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor yang dibuat dapat memenuhi persyaratan bobot jenis standar *mouthwash* yaitu tidak lebih dari bobot jenis air (0,99718 g/mL). Berdasarkan evaluasi output *Design Expert* versi 13.0 (Tabel 7), hasil uji bobot jenis menunjukkan nilai *p-value*, *lack of fit*, *adjusted R<sup>2</sup>*, *predicted R<sup>2</sup>* dan *adequate precision* sudah memenuhi persyaratan. Hal ini berarti respon yang dihasilkan *Design Expert* 13.0 memberikan respon yang *fit* karena tidak adanya *noise* pada data sehingga pengaruh kombinasi antara tween 80 dan gliserin dapat diketahui secara valid.

Berdasarkan persamaan model uji sifat fisik *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor yang didapatkan dari software *Design Expert* menunjukkan bahwa nilai  $A > \text{nilai } B$  yang artinya tween 80 memiliki pengaruh yang lebih besar dibandingkan dengan gliserin dalam pembuatan *mouthwash*, sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin besar penambahan tween 80 maka semakin tinggi pula bobot jenis yang dihasilkan pada sediaan.

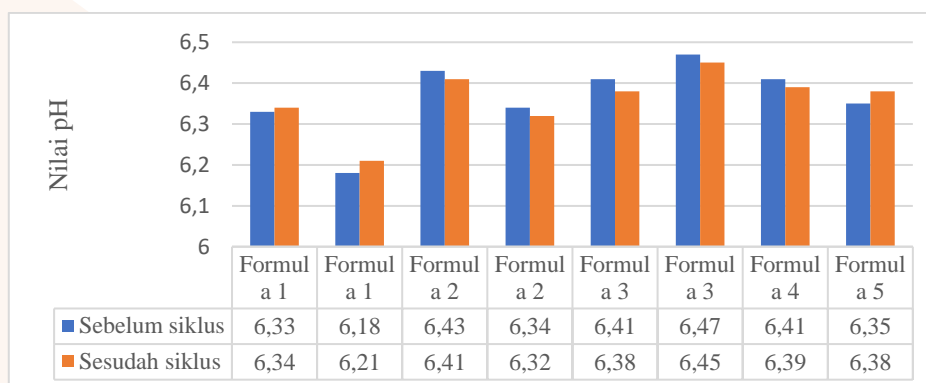
## Freeze-Thaw

Uji *Freeze-Thaw* untuk mengamati kestabilan sediaan pada suhu yang berbeda yaitu suhu dingin dan suhu ruang, yang dilakukan sebanyak 7 siklus. Sediaan *mouthwash* dikatakan baik apabila setelah uji *Freeze-Thaw* menunjukkan tidak adanya perubahan drastis secara organoleptis, pH, massa jenis, dan viskositas setelah uji dilakukan. Sediaan diamati secara organoleptis tiap siklus, mengukur pH dan viskositasnya di akhir siklus. Hasil pengamatan organoleptis pada formula I, II, III, V dan VI menunjukkan stabilitas yang sama, warna tetap hijau tua jernih, homogen, rasa mint, dan bau khas kelor. Formula IV terdapat perbedaan, tidak homogen sebab bahan tidak tercampur sempurna saat pembuatan.



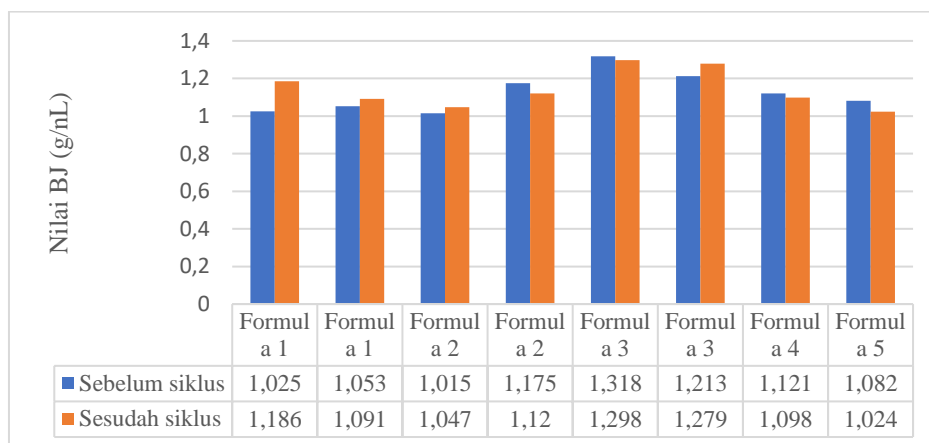
**Gambar 2. Grafik perubahan viskositas siklus *Freeze-Thaw***

Hasil uji *Freeze-Thaw* setelah 7 siklus menunjukkan perubahan viskositas pada sediaan *mouthwash*, hal ini dapat dipengaruhi karena *mouthwash* merupakan sediaan larutan yang masa simpannya relatif lebih singkat dibandingkan dengan bentuk sediaan padat. Sediaan larutan lebih mudah terurai oleh suhu dan cahaya serta bereaksi dengan lingkungannya. Data hasil uji viskositas sediaan dianalisis dengan uji *paired sample T-test* dengan hasil viskositas memiliki nilai  $p > 0,05$  yang artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna dan viskositas antara data sebelum dan sesudah *Freeze-Thaw* dinyatakan stabil.



**Gambar 3. Grafik perubahan pH siklus *Freeze-Thaw***

Hasil pH *mouthwash* seluruh formula di akhir siklus menunjukkan perubahan tetapi masih dalam rentang pH standar *mouthwash* yaitu 5-7. Penurunan disebabkan terbentuknya asam-asam lemah yang dihasilkan dari aktivitas mikroba dari bahan baku. Kurang sterilnya alat yang digunakan selama pembuatan obat kumur juga dapat menyebabkan tumbuhnya mikroba. Kenaikan pH dapat disebabkan oleh pelepasan ion hidroksil secara perlahan oleh wadah botol kaca yang digunakan selama penyimpanan (Nurhadi, 2015). Hasil uji pH yang didapat dianalisis menggunakan uji *paired sample T-test* dan menunjukkan hasil  $p > 0,05$ , pH sediaan sebelum dan sesudah *Freeze-Thaw* tidak menunjukkan adanya perbedaan data.



**Gambar 4. Perubahan BJ siklus *Freeze-Thaw***

Hasil analisis pengujian bobot jenis dilakukan dengan uji *paired sample T-test* untuk melihat perbedaan bermakna data sebelum dan sesudah uji *Freeze-Thaw* dan menunjukkan hasil  $p > 0,05$ . Hasil penelitian, setelah uji *Freeze-Thaw* terjadi perubahan nilai bobot jenis pada sediaan obat kumur, tetapi perubahan nilai bobot jenis tidak terjadi secara signifikan, maka sediaan obat kumur ini dapat dikatakan stabil selama penyimpanan.

### Penentuan formula optimum

Penentuan formula optimum dilakukan menggunakan aplikasi *Design Expert* versi 13.0 dengan *Simplex Lattice Design*. Respon yang digunakan adalah hasil uji pH, uji viskositas, dan uji bobot jenis, kemudian dilakukan analisis formula optimum yang tertera pada Tabel 9.

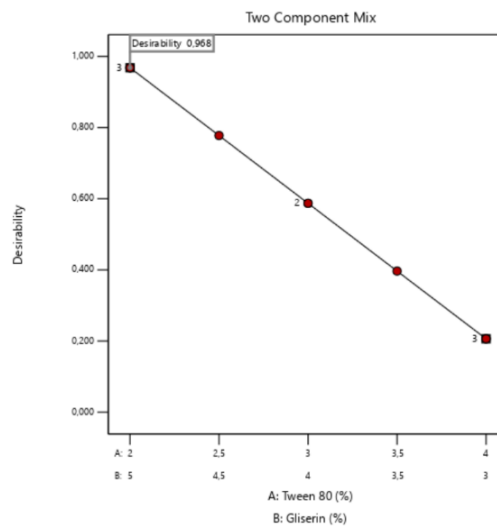
**Tabel 9. Kriteria formula optimum sediaan *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor**

Respon	Limit	Target
pH	6,18-6,47	In range
Viskositas (cP)	1,538-1,876	Minimize
Bobot Jenis (g/mL)	1,025-1,318	In range

Analisis penentuan formula optimum kombinasi humektan gliserin dan surfaktan tween 80 dilakukan dengan aplikasi *Design Expert* versi 13.0 menggunakan metode *SLD*. Respon pH menggunakan sasaran *in range* dengan limit uji adalah 6,18-6,47 karena sesuai dengan pH obat kumur yaitu di range 5-7. Limit respon viskositas yaitu 1,538-1,876 cP. Target viskositas

yang dipilih adalah minimize karena nilai viskositas yang baik adalah yang mendekati viskositas air yaitu 1 cP. Respon bobot jenis yang ditargetkan adalah *in range* dengan limit 1,015-1,318. Jika bobot jenis *mouthwash* mendekati bobot jenis air (0,99718) maka sediaan dapat dikategori memiliki kemurnian yang tinggi.

Optimasi dilakukan pada kombinasi tween 80 sebagai surfaktan pada konsentrasi 4% dan gliserin sebagai humektan pada konsentrasi 10%. Formula optimum prediksi *Design Expert* versi 13.0 mendapatkan prediksi pH (6,33), viskositas (1,538), dan bobot jenis (1,213). Dari respon prediksi tersebut mendapatkan nilai *desirability* sebesar 0,968. Nilai *desirability* adalah target nilai tujuan optimasi yang menunjukkan kemampuan untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan. Nilai *desirability* berkisar dari 0-1. Semakin mendekati satu maka *desirability* tersebut semakin baik.



Gambar 5. Grafik *desirability* formula optimum *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor

### Verifikasi formula optimum

Hasil yang diperoleh dari formula optimum adalah kombinasi tween 80 dan gliserin pada konsentrasi 4% dan 10%, konsentrasi tersebut sama seperti formula I. Hasil observasi dibandingkan dengan hasil prediksi yang diperoleh dari *software Design Expert*.

Tabel 10. Hasil analisis respon prediksi dan verifikasi sediaan ekstrak etanol daun kelor

Respon	Prediksi	Hasil	<i>p-value</i>	95% CI low	95% CI high
pH	6,276	6,33 ± 0,115	0,058	6,193	6,359
Viskositas (cP)	1,548	1,538 ± 0,081	0,075	1,440	1,656
BJ (g/mL)	1,259	1,213 ± 0,198	0,069	1,137	1,789

Tabel 11. Hasil uji sifat fisik formula optimum *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor

Pengujian	Formula I
Organoleptis	Homogen, hijau tua jernih, bau khas mint
pH	6,33 ± 0,115
Viskositas (cP)	1,538 ± 0,081
Bobot Jenis (g/mL)	1,213 ± 0,198

Hasil pada respon uji pH, uji viskositas, dan uji bobot jenis didapatkan nilai prediksi dengan hasil observasi tidak berbeda secara signifikan, dengan nilai  $p\text{-value} > 0,05$ . Hasil dikatakan memiliki nilai yang signifikan apabila diperoleh nilai  $p\text{-value} < 0,05$ . Hasil berada dalam rentang interval prediksi (95% CI) artinya nilai prediksi yang didapatkan dari individu terverifikasi dengan tingkat kepercayaan 95%. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada respon dan prediksi, sehingga tidak dilakukan verifikasi formula, hasil uji formula I dapat dilihat pada Tabel 11.

### Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*

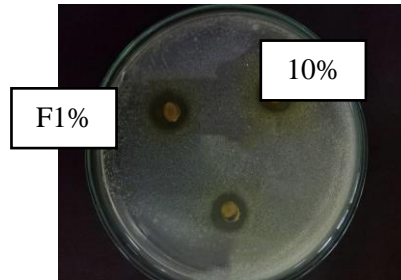
Formula optimum *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor yaitu kombinasi tween 80 (4%) dan gliserin (10%) diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode sumuran. Metode ini memiliki kelebihan yaitu daya hambat yang dihasilkan lebih baik daripada metode *disk*. Bakteri *Staphylococcus aureus* disebar di atas media NA yang telah dibuat. Kemudian di dalamnya dibuat beberapa lubang menggunakan *cockborer*, tiap lubang diisi dengan formula optimum *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor, ekstrak etanol daun kelor dalam DMSO, kontrol positif dan kontrol negatif. *Staphylococcus aureus* dipilih sebagai bakteri uji karena merupakan salah satu bakteri penyebab plak gigi.

**Tabel 12. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus***

Sampel	Diameter daya hambat termasuk diameter sumuran (mm) (n=3)	Kategori
Formula optimum <i>mouthwash</i> ekstrak etanol daun kelor	11,3 ± 1,527	Kuat
10% b/v ekstrak etanol daun kelor dalam DMSO	9,5 ± 1,258	Sedang
Basis <i>mouthwash</i>	0	Tidak ada
Kontrol Positif	15,8 ± 0,763	Kuat

Daun kelor mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, saponin, dan terpenoid yang berperan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak dinding bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino. Gugus alkohol pada senyawa flavonoid bereaksi dengan lipid dan asam amino sehingga dinding sel akan rusak (Ernawati dan Sari, 2015). Flavonoid akan bereaksi dengan DNA dan menyebabkan rusaknya struktur lipid DNA sehingga bakteri akan lisis dan sel akan mati. Tanin memiliki aktivitas antibakteri karena dapat mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel bakteri. Saponin berperan sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak permeabilitas dinding sel sehingga dapat menimbulkan kematian sel (Cannell, 1998). Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan protein transmembran (porin) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Penelitian yang dilakukan oleh Lusi *et al.*, (2016) memberikan bukti bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat yang diperoleh sebesar 11 mm (kategori

kuat). Penelitian sebelumnya menyatakan ekstrak etanol daun kelor pada *Staphylococcus aureus* konsentrasi 100% dengan daya hambat 8,5 mm (kategori sedang). Kategori daya hambat bakteri menggunakan difusi sumuran, pada daya hambat <5 mm tergolong kategori lemah, daya hambat 6-10 mm tergolong kategori sedang, daya hambat 11-20 mm tergolong kategori kuat dan daya hambat >21 mm tergolong kategori sangat kuat.



**Gambar 6. Daya hambat formula optimal terhadap *Staphylococcus aureus***

## KESIMPULAN

Kombinasi tween 80 dan gliserin sebagai surfaktan dan humektan dalam sediaan *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menunjukkan hasil bahwa tween 80 memberikan pengaruh yang lebih besar terhadap sifat pH, viskositas dan bobot jenis *mouthwash* jika dibandingkan dengan gliserin. Kombinasi tween 80 dan gliserin yang optimal adalah 4% dan 10%, sesuai dengan formula I prediksi yang menunjukkan sifat fisik formula optimum *mouthwash* yaitu homogen, berwarna hijau tua jernih dan berbau khas *mint*. Nilai desirability yang dihasilkan yaitu 0,968 yang tergolong dalam desirability sangat baik karena mendekati 1. Uji antibakteri sediaan *mouthwash* ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 11,3 mm yang tergolong dalam kategori kuat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aulia D.S., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Rebusan dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, Thesis, STIKES RS Anwar Media.
- Basri I.F., Mohamad F., Slamet N.S., Imran A.K., Daud R.P.A., Yunus F.A.M., Wicita P.S., Basri R.F., 2022. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Metanol Akar Kelor (*Moringa oleifera* L.). *Journal of Experimental and Clinical Pharmacy (JECP)*, 2(2), 78. <https://doi.org/10.52365/jecp.v2i2.345>
- Cannell R. J. P., 1998. *Natural Products Isolation Methods in Biotechnology*; 4. Totowa : Humana Press
- Collins F. M., 2009. *Reflections on Dentifrice Ingredients, Benefits and Recommendations*. Chesterland: Pennwell. 6.
- Gustin A., 2019. Formulasi Sediaan Obat Kumur Ekstrak daun Jarak Pagar (*Jatropha curcus* L.) dan Uji Kestabilan Fisiknya, *Skripsi*, Poltekes Kemenkes Palembang, Palembang.
- Ikalinus, R., Widyastuti S.K., Setiasih N.L.E., 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus.*, 4(1). 73-74.

- Kono S. R., Yamlean P. V. Y., Sudewi S., 2018. Formulasi Sediaan Obat Kumur Herba Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) dan Uji Antibakteri *Prophyromonas gingivalis*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, Unsrat, 7(1), pp.37-46.
- Lukas A., 2012. Formulasi Obat Kumur Gambir dengan Tambahan Peppermint dan Minyak Cengkeh, *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*, 23(2), pp.67-76.
- Lusi L.R.H., Dima, Fatimawali, Widya A.L., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5:1-8.
- Mahmood M.E., Al-Koofee D.A.F., 2013. Effect of Temperature Changes on Critical Micelle Concentration for Tween Series Surfactant, *Global Journal of Science Frontier Research Chemistry.*, 13(1). 1.
- Mitsui T., 1997. *New Cosmetic Science*. Amsterdam: Elsevier Science B.V. (hal 487-490).
- Pintauli S., Hamada T., 2008. *Menuju Gigi dan Mulut Sehat: Pencegahan dan Pemeliharanya*, Ed.1, Medan: USU Press.
- Powers J.M., Sakaguchi R.L., Ferracane J., 2019. *Craig s Restorative Dental Materials*. 14th ed. St. Louis: Elviesier p. 160-1
- Rachma M., 2010. Formulasi Sediaan Obat Kumur yang Mengandung Minyak Atsiri Temulawak (*Curcuma xanthorriza*) sebagai Anti Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Penyakit Bau Mulut, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Rahaswanti L.W.A., 2018. Perbandingan Indeks Plak setelah Konsumsi Buah Apel Fuji (*Malus pumila*) dan Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris mill*) pada Anak Usia 9 dan 10 Tahun di SD Negeri 1 Dalung, *Bali Dental Journal*, Vol. 2(1): 54–58.
- Satpathy A., Ravindra S., Porwal A., Das A.C., Kumar M., and Mukhopadhyay I., 2013. Effect of Alcohol Consumption Status and Alcohol Concentration on Oral Pain Induced by Alcohol-Containing Mouthwash. *Journal of Oral Science.*, 55(2). 103.
- Shanebrook A.C., 2004, *Formulation and Use of Surfactants in Toothpastes*.
- Yunita E., Permatasari D.G., Lestari D., 2020. Antibacterial Activity of Moringa Leaves Extract *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* 189–195.