

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS *MOUTHWASH* HERBAL DI  
PASARAN YANG MENGANDUNG EKSTRAK DAUN SIRIH  
(*Piper betle L.*) TERHADAP BAKTERI *STREPTOCOCCUS  
MUTANS* DAN *ESCHERICHIA COLI***

**TUGAS AKHIR**



**ANNISA PUTRI SOFIANA ROSI**

**NIM : 612110007**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MA CHUNG**

**2025**

**LEMBAR PENGESAHAN  
TUGAS AKHIR**

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS MOUTHWASH HERBAL DI PASARAN  
YANG MENGANDUNG EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP  
BAKTERI *STREPTOCOCCUS MUTANS* DAN *ESCHERICHIA COLI***

Oleh:

**ANNISA PUTRI SOFIANA ROSI  
NIM. 612110007**

dari:

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MA CHUNG**

Telah dinyatakan lulus dalam melaksanakan Tugas Akhir sebagai syarat kelulusan dan berhak mendapatkan gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Dosen Pembimbing I



Fibe Yulinda Cesa, S.Farm., M.Biomed

NIP. 20210001

Dosen Pembimbing II



apt. Annisa Lazuardy, S.Si., M.Farm

NIP. 20230017

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



Dr. apt. Rolando, S.Farm., M.Sc

NIP. 20160002

### **Pernyataan Keaslian Tugas Akhir**

Dengan ini saya menyatakan bahwa isi keseluruhan dari Tugas Akhir saya dengan judul “Perbandingan efektivitas Mouthwash Herbal Di Pasaran Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*” adalah benar-benar dari hasil karya intelektual mandiri dan diselesaikan tanpa menggunakan bahan yang tidak diizinkan dan bukan merupakan karya pihak lain yang saya akui sebagai karya sendiri.

Semua referensi yang dikutip maupun dirujuk telah ditulis dengan lengkap pada daftar pustaka. Apabila pernyataan ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 5 Agustus 2025



Annisa Putri Sofiana Rosi

NIM. 612110007

UNIVERSITAS  
MA CHUNG

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS *MOUTHWASH* HERBAL DI PASARAN  
YANG MENGANDUNG EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP  
BAKTERI *STREPTOCOCCUS MUTANS* DAN *ESCHERICHIA COLI***

**Annisa Putri S.R, Fibe Yulinda Cesa, Annisa Lazuardy  
Universitas Ma Chung**

**Abstrak**

Kesehatan rongga mulut adalah aspek vital, dengan infeksi bakteri seperti *Streptococcus Mutans* (karies) dan *Escherichia Coli* (model Gram-negatif) menjadi masalah umum. *Mouthwash* herbal, sering mengandung ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.), menawarkan alternatif alami. Penelitian ini membandingkan efektivitas antibakteri tiga *mouthwash* herbal komersial (M1, M2, M3) terhadap *S. mutans* dan *E. coli* secara *in vitro*, serta perbandingannya dengan klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif. Metode yang digunakan adalah uji difusi agar, dengan analisis statistik ANOVA dan Tukey HSD. Hasil menunjukkan, terhadap *S. mutans*, M3 ( $7.5520 \pm 0.31547$  mm) paling efektif di antara herbal, signifikan lebih baik dari M1 ( $5.8360 \pm 0.47773$  mm), namun tidak signifikan dengan M2 ( $4.9360 \pm 0.54257$  mm); M1 dan M2 tidak signifikan berbeda. Terhadap *E. coli*, M3 ( $6.7400 \pm 0.57719$  mm) juga paling efektif, signifikan terhadap M1 ( $5.62260 \pm 0.50138$  mm), tetapi tidak signifikan dengan M2 ( $5.5880 \pm 0.55034$  mm); M1 dan M2 kembali tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Efektivitas M3, yang mengandung propolis, dijelaskan oleh senyawa bioaktifnya. Namun, klorheksidin 0,2% secara konsisten jauh lebih efektif dari semua *mouthwash* herbal. Kesimpulannya, M3 adalah herbal paling efektif, namun klorheksidin tetap superior, direkomendasikan untuk kasus berat, sedangkan herbal untuk pemeliharaan atau kasus ringan.

**Kata kunci:** Efektivitas Antibakteri, *Escherichia Coli*, *Mouthwash* Herbal, Klorheksidin, *Streptococcus Mutans*.

# **COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF COMMERCIAL HERBAL MOUTHWASH CONTAINING PIPER BETLE L. LEAF EXTRACT AGAINST STREPTOCOCCUS MUTANS AND ESCHERICHIA COLI BACTERIA**

**Annisa Putri S.R, Fibe Yulinda Cesa, Annisa Lazuardy  
Universitas Ma Chung**

## **Abstract**

Oral health is a crucial aspect of general health, with bacterial infections like *Streptococcus Mutans* (caries) and *Escherichia Coli* (Gram-negative model) being common issues. Herbal mouthwashes, often containing *Piper betle* L. extract, offer a natural alternative. This study compared the antibacterial effectiveness of three commercial herbal mouthwashes (M1, M2, M3) against *S. mutans* and *E. coli* in vitro, and against 0.2% chlorhexidine as a positive control. The agar well diffusion test was used, with data analyzed via ANOVA and Tukey HSD. Results showed M3 ( $7.5520 \pm 0.31547$  mm) was most effective among herbals against *S. mutans*, significantly better than M1 ( $5.8360 \pm 0.47773$  mm), but not M2 ( $4.9360 \pm 0.54257$  mm); M1 and M2 were not significantly different. Against *E. coli*, M3 ( $6.7400 \pm 0.57719$  mm) also proved most effective, significantly outperforming M1 ( $5.62260 \pm 0.50138$  mm), but not M2 ( $5.5880 \pm 0.55034$  mm); M1 and M2 again showed no significant difference. M3's efficacy, attributed to propolis, stemmed from its broad-spectrum bioactive compounds. However, 0.2% chlorhexidine consistently demonstrated superior effectiveness over all herbal mouthwashes. In conclusion, M3 was the most effective herbal option, but chlorhexidine remains superior; recommended for severe cases, while herbal mouthwashes suit daily maintenance or mild conditions.

**Keywords:** Antibacterial Effectiveness, Chlorhexidine, *Escherichia Coli*, Herbal Mouthwash, *Streptococcus Mutans*.

## KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur atas kehadiran Yang Maha Esa yang telah melimpahkan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Tugas Akhir yang berjudul “Perbandingan efektivitas *Mouthwash* Herbal Di Pasaran Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*” tanpa halangan apapun. Tujuan dari penulisan Tugas Akhir ini adalah untuk memenuhi persyaratan kelulusan program studi strata 1 jurusan Farmasi di Universitas Ma Chung. Penulis menyadari laporan ini dapat terselesaikan karena bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dengan setulus-tulusnya kepada :

1. Bapak Dr. apt. Rollando, S.Farm, M.Sc selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan.
2. Ibu apt. Martanty Aditya, M. Farm-Klin selaku Ketua penguji penulis.
3. Ibu Fibe Yulinda Cesa, S.Farm., M.Biomed selaku dosen pembimbing pertama yang telah mengizinkan dilakukannya penelitian ini serta bersedia meluangkan waktu untuk membantu, membimbing, memeriksa dan memberikan petunjuk serta saran dalam penyusunan Tugas Akhir.
4. Ibu apt. Annisa Lazuardy, S.Si., M.Farm selaku dosen pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membantu, membimbing, memeriksa dan memberikan petunjuk serta saran dalam penyusunan Tugas Akhir.
5. Orang tua penulis yaitu Mama dan adik penulis yaitu yayuk dan farel yang memberikan banyak dukungan finansial, doa, nasihat, motivasi hingga penyusunan tugas akhir ini dapat berjalan dengan lancar.
6. Sahabat saya yaitu Crisdalena Yohana, Novia, dan Hasyim yang senantiasa mendengar keluh kesah penulis, memberikan motivasi dan saran, menyemangati, dan mengingatkan penulis untuk tidak lupa makan sehingga penelitian dan penyusunan dapat selesai tepat waktu.
7. Pihak-pihak lain yang telah memberikan bantuan dan dukungan terhadap kelancaran penelitian dan penyusunan laporan tugas akhir ini.



Demikian yang dapat penulis sampaikan. Semoga penulisan Tugas Akhir ini bermanfaat dan diterima oleh para pembaca. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Tugas Akhir ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan dapat membantu untuk menyempurnakan laporan Tugas Akhir ini.

Malang, 1 Juli 2025

Penulis



UNIVERSITAS  
**MA CHUNG**

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
Abstrak	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
Bab I Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Rumusan Masalah	5
1.5 Tujuan Penelitian	5
1.6 Manfaat Penelitian	5
1.7 Luaran Penelitian	6
1.8 Sistematika penulisan	6
Bab II Tinjauan Pustaka	8
2.1 Kesehatan Mulut	8
2.1.1 Morfologi Mulut	9
2.1.2 Bagian-Bagian Mulut	10
2.1.3 Fungsi Mulut	11
2.1.4 Penyakit mulut	13
2.2 <i>Streptococcus Mutans</i>	15
2.2.1 Morfologi	15
2.2.2 Klasifikasi	16
2.2.3 Patogenitas	17



2.2.4	Mekanisme Patogenesis	17
2.3	<i>Escherichia Coli</i>	18
2.3.1	Morfologi	19
2.3.2	Klasifikasi	20
2.3.3	Patogenisitas	21
2.4	<i>Mouthwash</i>	22
2.4.1	Komposisi Obat Kumur Herbal	25
2.4.2	Klasifikasi	27
2.5	Penanaman Media dan Klasifikasi Media Penanaman Bakteri	27
2.6	Persyaratan Media Penanaman Bakteri	29
2.7	<i>Nutrient Agar</i> (NA)	29
2.8	<i>Nutrient broth</i> (NB)	30
2.9	Isolasi Bakteri	30
2.10	Zona Hambat	32
2.11	Uji Anova	32
2.12	Uji <i>Levenne</i>	35
2.13	Penelitian Terdahulu	36
Bab III	Metodologi Penelitian	39
3.1	Rancangan Penelitian	39
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	39
3.3	Populasi dan Sampel penelitian	39
3.3.1	Populasi	39
3.3.2	Sampel	40
3.4	Variabel penelitian	40
3.4.1	Variabel Bebas	40
3.4.2	Variabel Terikat	40
3.5	Definisi Operasional	41

3.6	Prosedur Kerja	42
3.7	Analisis Data	44
3.8	Hipotesis dan Pengambilan Keputusan	46
3.9	Alur Penelitian	47
BAB IV Hasil dan Pembahasan		48
4.1	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Pada <i>Streptococcus Mutans</i>	48
4.2	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Pada <i>Escherichia Coli</i>	62
BAB V Kesimpulan dan Saran		73
5.1	Kesimpulan	73
Daftar Pustaka		75
LAMPIRAN		84



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Anatomi Mulut	10
Gambar 2.2 <i>Streptococcus Mutans</i>	16
Gambar 2.3 Mekanisme Patogenitas	18
Gambar 2.4 <i>Escherichia coli</i>	20
Gambar 2.5 Daun Sirih	27
Gambar 2. 6 Isolasi Bakteri	32
Gambar 3.1 Alur Penelitian	47
Gambar 4.1 Histogram Mouthwash Herbal <i>S.Mutans</i>	59
Gambar 4.2 Histogram Mouthwash Herbal <i>E.Coli</i>	69



UNIVERSITAS  
MA CHUNG

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Obat Kumur Herbal	25
Tabel 2.2 Penelitian Terdahulu	36
Tabel 3.1 Definisi Operasional	41
Tabel 4. 1 <i>Tukey HSD Streptococcus Mutans</i>	51
Tabel 4. 2 Hasil diameter zona hambat Bakteri <i>S.Mutans</i>	53
Tabel 4. 3 <i>Post Hoc Tukey Mouthwash Herbal S.Mutans</i>	57
Tabel 4. 4 Hasil Diameter Zona Hambat <i>Mouthwash Herbal S.Mutans</i>	58
Tabel 4. 5 <i>Tukey HSD Escherichia Coli</i>	63
Tabel 4. 6 Hasil diameter zona hambat Bakteri <i>E.Coli</i>	64
Tabel 4. 7 <i>Post Hoc Tukey Mouthwash Herbal E.Coli</i>	67
Tabel 4. 8 Hasil Diameter Zona Hambat <i>Mouthwash Herbal E.Coli</i>	68

UNIVERSITAS  
MA CHUNG

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A <i>Certificate of Analysis (CoA) Streptococcus Mutans</i>	84
Lampiran B <i>Certificate of Analysis (CoA) Escherichia Coli</i>	85
Lampiran C Dokumentasi Uji Antibakteri	86
Lampiran D Analisis Data SPSS	93



# Bab I

## Pendahuluan

### 1.1 Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut merupakan aspek penting dalam kesehatan secara keseluruhan, tetapi seringkali diabaikan. Hampir setengah dari populasi penduduk dunia mengalami masalah kesehatan gigi dan mulut. Di Indonesia, permasalahan gigi dan mulut merupakan penyakit yang dialami hampir setengah penduduk dunia yaitu sebesar 3,58 milyar jiwa. Data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 menunjukkan bahwa masyarakat Indonesia mengalami masalah gigi yaitu gigi rusak dan berlubang yang cukup tinggi dengan prevalensi mencapai 45,3%. Gigi berlubang disebabkan oleh bakteri yang dapat merusak struktur jaringan gigi, meliputi enamel, dentin, dan sementum (Riset Kesehatan Dasar, 2018).

Salah satu bakteri utama penyebab karies gigi adalah *Streptococcus Mutans*. *Streptococcus Mutans* merupakan bakteri gram positif yang berperan signifikan dalam pembentukan plak gigi dan terlibat dalam proses terjadinya karies gigi dimana bakteri ini berperan dalam proses fermentasi karbohidrat yang menghasilkan asam dan merusak email gigi. Di sisi lain, *Escherichia Coli* adalah bakteri gram negatif yang sering digunakan sebagai indikator kontaminasi mikroba dalam berbagai penelitian karena resistensinya terhadap beberapa bahan antimikroba. Meskipun, bakteri *Escherichia Coli* lebih dikenal sebagai penyebab infeksi saluran cerna, juga ditemukan dalam jumlah kecil di rongga mulut dan dapat menjadi indikator adanya kebersihan mulut yang buruk atau kontaminasi silang. Pengujian terhadap kedua bakteri ini *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli* menjadi penting untuk menilai efektivitas agen antibakteri dalam produk kebersihan mulut (Yardha et al., 2024).

*Mouthwash* atau obat kumur merupakan salah satu produk yang umum digunakan dalam menjaga kebersihan rongga mulut. Produk ini diklaim dapat mengurangi jumlah bakteri, menyegarkan napas, hingga mencegah pembentukan plak dan karang gigi. Berbagai merek *mouthwash* tersedia di pasaran dengan klaim serupa namun mengandung bahan aktif yang berbeda-beda. Beberapa mengandung antiseptik



kuat seperti *chlorhexidine*, sementara lainnya menggunakan bahan alami seperti ekstrak tanaman herbal (Feres et al., 2017). Kondisi ini menimbulkan tantangan bagi masyarakat dan praktisi kesehatan dalam memilih produk yang paling aman. Terutama karena tidak semua produk mengungkapkan konsentrasi bahan aktif atau menunjukkan hasil uji efektivitas yang transparan. Perbedaan kandungan bahan aktif juga memunculkan pertanyaan mengenai keamanan jangka panjang dari masing-masing produk. Hal ini memperkuat urgensi penelitian perbandingan antara berbagai jenis mouthwash, baik yang berbasis bahan kimia maupun herbal.

Pada *chlorhexidine*, khususnya pada konsentrasi 0,2 %, telah dikenal luas sebagai "gold standard" atau first-line agent dalam pengendalian plak dan bakteri oral. Bahan ini bekerja dengan cara mengganggu membran sel bakteri dan menyebabkan kematian sel. *Chlorhexidine* adalah agen antimikroba spektrum luas yang bekerja dengan merusak membran sel mikroba, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif. (Wakhidatul Kiromah dan Rahmatulloh, 2020). Namun demikian, penggunaan *chlorhexidine* juga memiliki sejumlah efek samping yang perlu diperhatikan. Beberapa di antaranya meliputi munculnya noda pada gigi dan lidah, perubahan sensasi rasa, serta kemungkinan terjadinya iritasi pada jaringan mukosa mulut (Hsieh et al., 2020).

Selain itu, penelitian terkini mengindikasikan bahwa paparan *chlorhexidine* secara berulang dapat memicu iritasi pada jaringan lunak di rongga mulut dan menunjukkan sifat sitotoksik terhadap sel-sel epitel oral (Dinu et al., 2024). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh (Pereira, 2023) menunjukkan bahwa *chlorhexidine* dapat berdampak pada metabolisme energi di hati dengan cara menghambat pembentukan glukosa dan mengganggu siklus urea, serta menurunkan kadar ATP dalam sel, yang berisiko menyebabkan gangguan fungsi hati jika tertelan. Penggunaan *chlorhexidine* dalam bentuk mouthwash juga dapat menimbulkan ketidakseimbangan mikrobiota di rongga mulut, yang berpotensi memengaruhi sistem pencernaan dan proses metabolisme tubuh secara keseluruhan (Carvalho et al., 2024).

Pada alternatif, penggunaan bahan alami seperti ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam obat kumur mulai banyak dikembangkan. Daun sirih diketahui memiliki sifat

antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. Pada ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi tertentu mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut secara signifikan. Di pasaran sendiri, banyak tersedia berbagai produk obat kumur herbal yang mengandung ekstrak daun sirih dengan klaim efektivitas yang beragam. Namun, perbedaan kandungan dan konsentrasi ekstrak daun sirih dalam produk-produk tersebut menimbulkan pertanyaan mengenai konsistensi dan keamanannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri mulut (Ayu dkk., 2021). Pada penelitian (Mandalas, Aini and Edinata, 2022) menunjukkan bahwa efektivitas obat kumur daun sirih dapat bervariasi tergantung pada konsentrasi ekstrak yang digunakan.

Perbandingan efektivitas antara obat kumur herbal yang mengandung ekstrak daun sirih dengan *chlorhexidine* 0,2 % ini menjadi penting untuk menentukan pilihan terbaik dalam menjaga kesehatan mulut. Penelitian lain yang berjudul Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sereh Wangi, Sirih Hijau, Dan Jahe Merah Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans* menunjukkan bahwa *chlorhexidine* memiliki efektivitas yang lebih tinggi dalam mengurangi indeks plak dibandingkan dengan obat kumur yang mengandung ekstrak daun sirih (Rizkita, 2017). Namun, penggunaan obat kumur herbal tetap menarik perhatian karena dianggap lebih alami dan memiliki efek samping yang lebih sedikit. Penggunaan ekstrak daun sirih sebagai bahan aktif dalam obat kumur dapat menjadi alternatif yang menjanjikan, terutama bagi mereka yang sensitif terhadap bahan kimia seperti *chlorhexidine*. Hal ini dapat meningkatkan tren penggunaan produk berbasis herbal yang dianggap lebih aman dan ramah lingkungan, sehingga penting untuk menguji seberapa efektif produk *mouthwash* daun sirih yang beredar di pasaran bila dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2%. Dimana penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental terhadap kedua jenis *mouthwash*, dengan fokus pada efektivitasnya dalam menekan pertumbuhan *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*.

Pada Penelitian ini lebih lanjut diperlukan untuk mengevaluasi efektivitas dan keamanan jangka panjang penggunaan obat kumur herbal ini. Oleh karena itu, keterbaruan dari penelitian ini terletak pada pendekatan komparatif yang menguji langsung efektivitas antibakteri produk *mouthwash* herbal yang mengandung ekstrak

daun sirih yang beredar di pasaran, dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2% sebagai gold-standar, terhadap dua bakteri utama penyebab masalah mulut, yaitu *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*. Berbeda dengan studi sebelumnya yang umumnya hanya menggunakan ekstrak daun sirih dalam bentuk formulasi laboratorium atau menguji satu jenis bakteri saja, penelitian ini memberikan gambaran yang lebih aplikatif dan komprehensif, sekaligus mengevaluasi kesesuaian klaim produk dengan efektivitas aktualnya berdasarkan kandungan bahan aktif yang digunakan. Dengan pendekatan ini, hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang produk kesehatan mouthwash berbahan aktif yang tidak hanya efektif, tetapi juga aman untuk menangani kesehatan gigi dan mulut dan dapat diterima oleh masyarakat secara luas.

## 1.2 Identifikasi Masalah

Kesehatan gigi dan mulut di Indonesia masih tinggi, salah satu penyebab utama adalah aktivitas bakteri *Streptococcus Mutans* yang berperan dalam terjadinya karies gigi. Selain itu, keberadaan bakteri *Escherichia Coli* di rongga mulut juga dapat menjadi indikator buruknya kebersihan mulut atau adanya kontaminasi silang. Penggunaan *chlorhexidine* 0,2% sebagai *mouthwash* cukup efektif untuk menangani masalah ini, namun dapat menimbulkan kekhawatiran terkait efek samping seperti iritasi, perubahan warna gigi, serta potensi toksisitas jika digunakan jangka panjang. Sebagai alternatif, *mouthwash* herbal yang mengandung ekstrak daun sirih banyak beredar di pasaran, namun efektivitas antibakterinya belum banyak diuji secara ilmiah. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas sediaan mouthwash yang mengandung ekstrak daun sirih yang beredar di pasaran dengan *chlorhexidine* 0,2%.

## 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini, yaitu sebagai berikut :

1. Penelitian ini hanya berfokus pada pengujian daya hambat *mouthwash* herbal dengan kandungan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) di pasaran yaitu Pepsodent herbal *mouthwash*, Enkasari herbal *mouthwash* dan Prolizama

herbal *mouthwash* terhadap dua jenis bakteri, yaitu *Streptococcus Mutans* (gram positif) dan *Escherichia Coli* (gram negatif).

2. Penelitian ini hanya berfokus pada uji, dilakukan menggunakan metode difusi agar (*disk-diffusion* atau *well-diffusion*) untuk mengukur zona hambat.

#### 1.4 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimana perbandingan efektivitas antibakteri mouthwash herbal Pepsodent Herbal (M1), Enkasari (M2), dan Prolizama (M3) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans*?
2. Bagaimana perbandingan efektivitas antibakteri mouthwash herbal Pepsodent Herbal (M1), Enkasari (M2), dan Prolizama (M3) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia Coli*?

#### 1.5 Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian pada penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas antibakteri mouthwash herbal Pepsodent Herbal (M1), Enkasari (M2), dan Prolizama (M3) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans*
2. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas antibakteri mouthwash herbal Pepsodent Herbal (M1), Enkasari (M2), dan Prolizama (M3) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia Coli*

#### 1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat Penelitian pada penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Bagi masyarakat  
Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat penggunaan mouthwash herbal dengan kandungan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dalam menjaga kesehatan gigi dan mulut dan Mendukung upaya pencegahan masalah mulut dan infeksi mulut dengan produk yang terbukti efektif.

## 2. Bagi universitas

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi atau dasar pengembangan produk kesehatan mulut oleh peneliti selanjutnya di universitas Ma Chung.

## 3. Bagi peneliti

Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memperdalam pemahaman mengenai mekanisme kerja *chlorhexidine* terhadap bakteri penyebab penyakit gigi dan mulut.

### 1.7 Luaran Penelitian

Berdasarkan laporan tugas akhir ini didapatkan luaran, yaitu publikasi karya ilmiah dan Perbandingan Efektivitas *Mouthwash* Herbal yang mengandung Ekstrak Daun Sirih

### 1.8 Sistematika penulisan

#### Bab I: Pendahuluan

Bab ini tersusun dari latar belakang penelitian, identifikasi masalah, batasan masalah, rumusan masalah, tujuan penelitian, luaran penelitian, manfaat penelitian, serta sistematika penulisan.

#### Bab II: Tinjauan Pustaka

Bab ini tersusun dari teori dasar dan ulasan tentang penelitian yang terkait dengan penelitian yang dilaksanakan.

#### Bab III Metodologi Penelitian

Bab ini menjelaskan mengenai metodologi penelitian yang terdiri dari rancangan penelitian, tempat dan waktu penelitian, populasi dan sampel, variabel operasional, pengumpulan data, alat dan bahan penelitian, prosedur penelitian, analisis data, dan kerangka operasional dari penelitian.

#### Bab IV: Hasil dan Pembahasan

Bab ini menjelaskan data-data hasil penelitian yang telah dilakukan serta pembahasan mengenai hasil evaluasi yang telah dilakukan

## Bab V: Kesimpulan dan Saran

Bab ini menjelaskan kesimpulan dari hasil penelitian serta saran yang di berikan untuk peneliti agar di dapatkan hasil yang optimal





## **Bab II**

### **Tinjauan Pustaka**

#### **2.1 Kesehatan Mulut**

Kesehatan mulut adalah keadaan di mana rongga mulut, termasuk gigi, gusi, lidah, dan jaringan pendukungnya, berada dalam kondisi sehat tanpa adanya penyakit atau gangguan fungsi. Kesehatan mulut memiliki dampak besar terhadap kualitas hidup, seperti kemampuan makan, berbicara, dan berekspresi, serta memengaruhi kesehatan secara keseluruhan karena masalah seperti karies gigi, periodontitis, infeksi mulut, dan bau mulut dapat menimbulkan gangguan yang signifikan. Infeksi bakteri pada mulut dan gigi sering terjadi pada beberapa area spesifik. Dimana pada gigi, terutama permukaan dan fissura, bakteri seperti *Streptococcus Mutans* dan *Lactobacillus* dapat menyebabkan karies melalui produksi asam yang menurunkan pH dan melarutkan mineral enamel, membentuk lubang pada gigi. Kemudian pada gusi (*gingiva*) rentan terhadap infeksi bakteri yang dapat menyebabkan gingivitis dan, jika tidak ditangani, berkembang menjadi periodontitis. Bakteri yang menyerang jaringan keras dan lunak di rongga mulut, termasuk gusi, dapat menyebabkan penyakit periodontal (Kaligis, Fatimawati and Lolo, 2017).

Pada lidah, terutama bagian belakangnya, dapat menjadi tempat berkembangnya bakteri anaerob yang berkontribusi terhadap bau mulut (Hajardhini dkk., 2020). Pada *palatine tonsil*, amandel sering terinfeksi oleh bakteri seperti *Streptococcus pyogenes*, menyebabkan tonsilitis atau radang amandel. Bakteri dapat menumpuk dalam celah (kriptus) tonsil, membentuk tonsilolit (batu amandel). Pada *superior* dan *Inferior Labial Frenulum*, area ini rentan mengalami infeksi akibat luka atau iritasi yang menyebabkan *stomatitis aftosa* (sariawan) dimana infeksi sering disebabkan oleh *Streptococcus Mutans* dan *Candida albicans*. Selain itu, rongga mulut dapat menjadi reservoir potensial bagi bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa*, yang dapat menyebabkan infeksi serius jika masuk ke bagian tubuh lain. kelenjar ludah dan mukosa mulut juga dapat terinfeksi oleh bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, yang dapat menyebabkan sialadenitis (Nanggita et al., 2023).

Pentingnya menjaga kesehatan mulut antara lain untuk mencegah penyakit seperti karies gigi dan radang gusi, mendukung kesehatan sistemik karena infeksi mulut dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya, serta menjaga estetika dan kepercayaan diri seseorang. Beberapa faktor yang memengaruhi kesehatan mulut meliputi kebersihan mulut (menyikat gigi dan *flossing*), pola makan, terutama konsumsi gula, dan keseimbangan mikroba di rongga mulut (Marla *et al.*, 2018).

Mulut adalah bagian awal dari saluran pencernaan yang berfungsi untuk memasukkan makanan, mengunyah, dan memulai proses pencernaan, sekaligus berperan penting dalam komunikasi (bicara) dan ekspresi wajah. Fungsi utama mulut meliputi mekanisme pencernaan dengan mengunyah makanan dan mencampurnya dengan saliva untuk membentuk bolus, membantu pembentukan suara dan kata dalam komunikasi, serta memberikan perlindungan melalui komponen imun seperti antibodi dan enzim yang berperan melawan pathogen (Nanci, 2017).

### **2.1.1 Morfologi Mulut**

Morfologi mulut mencakup struktur anatomi yang membentuk rongga mulut sebagai berikut (Ulliana *et al.*, 2023) :

#### **a. Bentuk Rongga Mulut**

Rongga mulut adalah ruang yang dibatasi oleh bibir di depan, palatum keras dan lunak di atas, lidah di bawah, dan faring di belakang.

#### **b. Struktur Jaringan**

Rongga mulut dilapisi oleh mukosa mulut yang terdiri dari epitel skuamosa berlapis, yang memberikan perlindungan terhadap gesekan dan cedera.

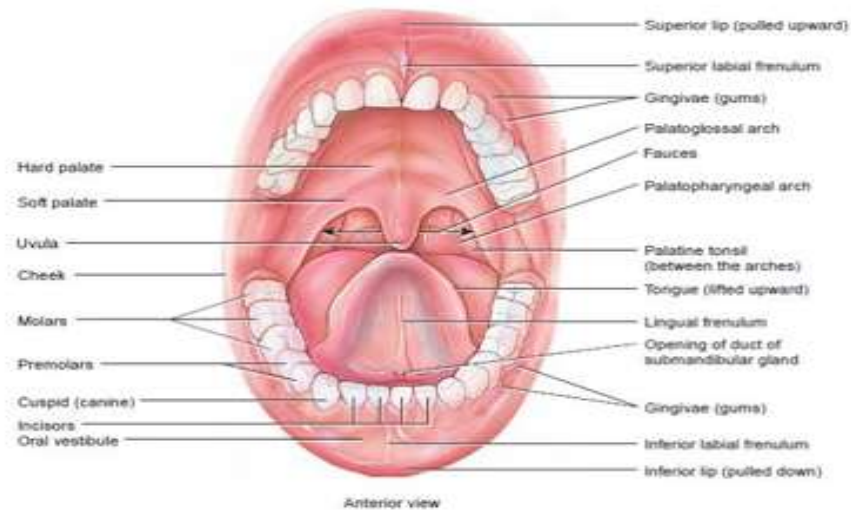
#### **c. Gigi dan Gingiva (Gusi)**

Gigi tertanam dalam rahang dengan lapisan gusi yang melindungi akar gigi.

#### **d. Saliva**

Cairan yang diproduksi oleh kelenjar ludah untuk membantu proses pencernaan, melindungi mukosa, dan menjaga keseimbangan pH.

### 2.1.2 Bagian-Bagian Mulut



Gambar 2. 1 Anatomi Mulut (Hajardhini dkk., 2020)

Mulut mempunyai anatomi, berikut penjelasan tentang bagian-bagian mulut yang ada pada gambar diatas (Ulliana *et al.*, 2023):

1. *Superior Lip* (Bibir atas) & *Inferior Lip* (Bibir bawah) yaitu untuk melindungi rongga mulut, membantu dalam artikulasi bicara, dan membantu dalam pengunyahan serta menelan makanan.
2. *Superior* dan *Inferior Labial Frenulum* yaitu jaringan yang menghubungkan bibir ke gusi, membantu stabilisasi bibir dan gerakan saat berbicara atau makan.
3. *Gingivae* (Gusi) yaitu berfungsi untuk mendukung dan melindungi akar gigi, membantu menjaga kesehatan periodontal.
4. *Hard Palate* (Langit-langit keras) yaitu berfungsi untuk memisahkan rongga mulut dari rongga hidung, berfungsi dalam pengunyahan dan membantu artikulasi suara.
5. *Soft Palate* (Langit-langit lunak) yaitu berfungsi untuk mengatur aliran udara saat berbicara dan menelan, serta menutup saluran hidung saat menelan untuk mencegah makanan masuk ke rongga hidung.
6. *Uvula* yaitu berfungsi untuk dalam produksi suara dan membantu menutup nasofaring saat menelan.

7. *Cheek* (Pipi) yaitu berfungsi untuk melindungi rongga mulut dan membantu dalam proses mengunyah makanan.
8. *Molars, Premolars, Canines, Incisors* (Geraham, Premolar, Taring, Seri) berikut penjelasan untuk fungsi setiap bagiannya :
  - a. *Molars*: Menghancurkan makanan menjadi lebih kecil.
  - b. *Premolars*: Membantu menggiling dan menghancurkan makanan
  - c. *Canines*: Merobek dan mencabik makanan.
  - d. *Incisors*: Memotong makanan.
9. *Oral Vestibule* (Vestibulum mulut) yaitu berfungsi untuk ruang antara gigi dan bibir/pipi yang membantu pergerakan makanan saat mengunyah.
10. *Palatoglossal & Palatopharyngeal Arch* yaitu berfungsi dalam refleks menelan dan membentuk batas antara rongga mulut dan faring.
11. *Fauces* yaitu berfungsi untuk pembukaan ke faring yang memungkinkan makanan dan udara melewati ke tenggorokan.
12. *Palatine Tonsil* (Amandel) yaitu struktur limfoid yang membantu melawan infeksi dengan menyaring patogen dari makanan atau udara yang masuk.
13. *Tongue* (Lidah) yaitu berfungsi untuk membantu dalam mengunyah, menelan, berbicara, serta memiliki papila pengecap untuk mendeteksi rasa.
14. *Lingual Frenulum* yaitu berfungsi untuk menghubungkan lidah dengan dasar mulut, membantu dalam mobilitas lidah saat berbicara dan makan.
15. *Opening of Duct of Submandibular Gland* yaitu berfungsi untuk saluran untuk mengeluarkan air liur dari kelenjar submandibular ke rongga mulut, membantu pencernaan awal makanan.

### 2.1.3 Fungsi Mulut

Pada anatomi, mulut terdiri dari berbagai struktur seperti gigi, lidah, gusi, dan kelenjar ludah, yang masing-masing memiliki peran penting dalam menjalankan fungsinya. Berikut beberapa fungsi utama mulut (*Ogawa, McKenna dan Kettratad-Pruksapong, 2022*):

- a. Fungsi Pencernaan

Mulut merupakan organ pertama dalam sistem pencernaan yang berperan dalam menghancurkan makanan secara mekanis melalui proses pengunyahan oleh gigi. Kelenjar ludah menghasilkan saliva yang mengandung enzim amilase, yang berfungsi dalam pemecahan karbohidrat menjadi bentuk yang lebih sederhana. Proses ini membantu pembentukan bolus atau gumpalan makanan yang memudahkan proses menelan dan pergerakan makanan ke saluran pencernaan berikutnya.

b. Fungsi Komunikasi

Mulut berperan penting dalam produksi suara dan pembentukan kata. Struktur seperti lidah, bibir, dan langit-langit bekerja sama dalam menghasilkan suara yang jelas. Gangguan pada bagian ini, seperti *ankyloglossia* (kelainan pada lidah yang membatasi gerakannya), dapat memengaruhi kemampuan berbicara seseorang.

c. Fungsi Perlindungan

Sebagai pertahanan pertama terhadap mikroorganisme patogen, rongga mulut memiliki sistem perlindungan alami. Saliva mengandung zat imun seperti lisozim, laktoferin, dan imunoglobulin A (IgA), yang berperan dalam melawan bakteri dan virus. Keseimbangan mikroflora dalam rongga mulut sangat penting dalam menjaga kesehatan oral dan mencegah infeksi, sementara ketidakseimbangan atau *dysbiosis* dapat menyebabkan berbagai penyakit, baik lokal maupun sistemik.

d. Indikator Kesehatan Sistemik

Kondisi rongga mulut sering mencerminkan kesehatan tubuh secara keseluruhan. Contohnya *xerostomia* (mulut kering) dapat mengindikasikan efek samping penggunaan obat atau penyakit sistemik seperti sindrom *Sjögren*. Selain itu, perubahan warna lidah atau mukosa mulut dapat menjadi tanda defisiensi nutrisi atau penyakit serius seperti anemia dan kanker rongga mulut.

e. Hubungan dengan Kesehatan Sistemik

Penyakit periodontal kronis dikaitkan dengan peningkatan risiko gangguan kesehatan seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, dan gangguan pernapasan.



Mikroorganisme yang berasal dari rongga mulut dapat masuk ke aliran darah, memicu inflamasi sistemik yang berdampak pada kesehatan secara menyeluruh.

f. Pengaruh terhadap Nutrisi dan Kualitas Hidup

Gangguan fungsi mengunyah akibat kehilangan gigi dapat memengaruhi pola makan, misalnya dengan mengurangi konsumsi makanan berserat tinggi. Asupan nutrisi yang tidak optimal akibat masalah kesehatan mulut dapat berdampak pada kondisi tubuh secara keseluruhan, terutama pada lansia yang rentan terhadap defisiensi nutrisi.

#### 2.1.4 Penyakit mulut

Menurut (Fejerskov *et al.*, 2018), berikut merupakan penyakit mulut yang disebabkan oleh bakteri sebagai berikut:

1. Karies Gigi (*Tooth Decay*)

Karies gigi adalah kerusakan struktur gigi yang disebabkan oleh bakteri, terutama *Streptococcus Mutans* dan *Lactobacillus spp.*. Bakteri ini memfermentasi karbohidrat dari makanan menjadi asam, yang kemudian menurunkan pH di sekitar gigi sehingga merusak enamel dan dentin. Gejala yang muncul meliputi lubang pada gigi, nyeri saat mengonsumsi makanan manis atau dingin, dan gigi yang menjadi rapuh. Karies gigi merupakan penyakit yang sangat umum dan dapat dicegah melalui kebersihan mulut yang baik dan pengurangan konsumsi gula.

2. *Gingivitis*

*Gingivitis* adalah peradangan pada gusi yang disebabkan oleh akumulasi plak bakteri di garis gusi. Bakteri seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, dan *Fusobacterium nucleatum* sering menjadi penyebab utama kondisi ini. Gejalanya meliputi gusi yang merah, bengkak, dan mudah berdarah, terutama saat menyikat gigi. Plak bakteri menghasilkan toksin dan enzim yang memicu peradangan pada jaringan gusi. Jika tidak segera ditangani, *gingivitis* dapat berkembang menjadi penyakit yang lebih serius seperti *periodontitis*.

3. *Periodontitis*

*Periodontitis* adalah bentuk lanjutan dari *gingivitis*, di mana peradangan menyebar ke jaringan pendukung gigi, seperti ligamen periodontal dan tulang



alveolar. Bakteri penyebab utama penyakit ini meliputi *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, dan *Tannerella forsythia*. Gejala yang umum ditemukan adalah resesi gusi, gigi yang goyang, bau mulut, dan pada kasus yang parah, kehilangan gigi. Mekanisme penyakit ini melibatkan faktor virulensi bakteri seperti protease dan lipopolisakarida yang merusak jaringan secara progresif.

#### 4. Halitosis (Bau Mulut)

*Halitosis* atau bau mulut sering kali disebabkan oleh metabolisme bakteri yang memproduksi senyawa sulfur volatil di rongga mulut. Bakteri seperti *Fusobacterium nucleatum* dan *Treponema denticola* memecah protein menjadi senyawa seperti hidrogen sulfida dan metil merkaptan, yang menyebabkan bau tidak sedap. Gejalanya meliputi bau mulut yang tidak hilang meskipun menyikat gigi, dan sering kali berkaitan dengan kebersihan mulut yang buruk, gingivitis, atau periodontitis.

#### 5. Abses Gigi

Abses gigi adalah kumpulan nanah yang terbentuk akibat infeksi bakteri pada jaringan di sekitar akar gigi. Bakteri seperti *Streptococcus spp.*, *Fusobacterium spp.*, dan *Prevotella spp.* sering menjadi penyebab utama. Infeksi ini menyebabkan nyeri berdenyut pada gigi, pembengkakan, dan demam. Abses gigi dapat terjadi jika infeksi tidak ditangani dan menyebar ke jaringan yang lebih dalam, sehingga memerlukan penanganan medis segera.

#### 6. Stomatitis Angular (*Angular cheilitis*)

Stomatitis angular adalah peradangan di sudut mulut yang sering disebabkan oleh infeksi bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus spp.* Kondisi ini sering terjadi akibat kelembapan berlebih atau trauma di area sudut mulut. Gejalanya meliputi luka atau pecah-pecah di sudut mulut yang terasa sakit, terutama saat membuka mulut. Kondisi ini dapat diperburuk oleh kekurangan vitamin atau kondisi medis seperti diabetes.

## 2.2 *Streptococcus Mutans*

*Streptococcus Mutans* adalah bakteri gram-positif berbentuk bulat (kokus) yang umum ditemukan dalam rongga mulut manusia dan berperan signifikan dalam pembentukan karies gigi. *Streptococcus Mutans* sebagai anaerob fakultatif, dapat hidup baik dalam kondisi dengan atau tanpa oksigen dan memiliki kemampuan untuk memetabolisme berbagai jenis gula, membentuk biofilm yang kuat, serta menghasilkan asam laktat dalam jumlah besar, yang memungkinkan bakteri ini berkembang dalam lingkungan asam yang dihasilkannya sendiri. *Streptococcus Mutans* berperan dalam demineralisasi enamel gigi melalui fermentasi sukrosa menjadi asam laktat, yang menyebabkan kerusakan gigi. Selain itu, bakteri ini memiliki faktor virulensi seperti *acidogenicity* (kemampuan menghasilkan asam), *aciduricity* (ketahanan terhadap lingkungan asam), dan kemampuan membentuk biofilm yang melindungi dari mekanisme pertahanan tubuh serta zat antimikroba. Pertumbuhan optimal *Streptococcus Mutans* terjadi pada suhu 18–40°C dan sering ditemukan dalam jumlah tinggi pada individu dengan kebiasaan konsumsi gula yang tinggi. Mikroorganisme ini pertama kali diisolasi oleh Clark pada tahun 1924 dari gigi yang mengalami karies. Pengendalian populasi *Streptococcus Mutans* dapat dilakukan melalui kebersihan gigi yang baik, penggunaan fluorida, dan konsumsi makanan rendah gula (Yardha et al., 2024).

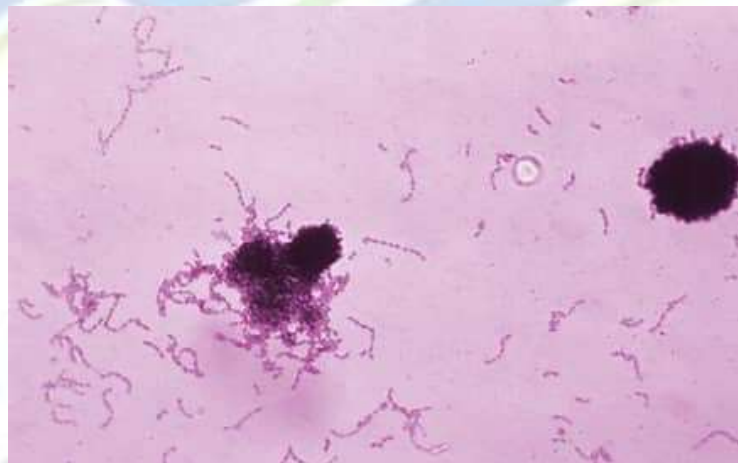
### 2.2.1 Morfologi

*Streptococcus Mutans* adalah bakteri gram positif yang termasuk ke dalam genus *Streptococcus*. Bakteri ini berbentuk kokus (bulat) dengan ukuran sekitar 0,5–0,75 µm dan sering kali membentuk rantai pendek. Bakteri ini termasuk gram-positif yaitu Menunjukkan warna ungu setelah pewarnaan Gram, tidak berspora yaitu tidak membentuk spora sehingga tidak tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrim, non-motil yaitu tidak memiliki flagela sehingga tidak bergerak secara aktif, Anaerob fakultatif yaitu dapat hidup di lingkungan dengan atau tanpa oksigen, meskipun lebih optimal dalam kondisi anaerob dan memiliki kapsul yaitu Memiliki kemampuan membentuk polisakarida ekstraseluler (EPS)

yang berfungsi sebagai biofilm pelindung (Firdus Fareen H. and Geetha R.V., 2017).

*Streptococcus Mutans* merupakan bakteri yang umum ditemukan dalam rongga mulut manusia dan berperan dalam proses pembentukan kerusakan gigi. Kondisi ini dapat berdampak pada kesehatan individu secara menyeluruh (Gunawan et al., 2014). Bakteri ini juga tumbuh optimal pada rentang suhu 18-40°C dan pertama kali berhasil diisolasi oleh Clark pada tahun 1924 dari gigi yang mengalami karies. Penamaan *Streptococcus Mutans* didasarkan pada hasil pewarnaan gram yang menunjukkan bentuk oval yang berbeda dari spesies *Streptococcus* lainnya, sehingga dianggap sebagai bentuk mutasi dari genus tersebut (Warna dan Fatmawati, 2015).

### 2.2.2 Klasifikasi



Gambar 2.2 *Streptococcus Mutans*(Li et al., 2021)

Berikut merupakan klasifikasi *streptococcus mutans* sebagai berikut (Sinaredi, Pradopo dan Wibowo, 2015) :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Lactobacillales
Family	: Streptococcaceae

Genus : *Streptococcus*  
Species : *Streptococcus Mutans*

### 2.2.3 Patogenitas

*Streptococcus Mutans* adalah bakteri gram positif yang berperan utama dalam patogenesis karies gigi. Bakteri ini mampu menempel pada permukaan gigi melalui produksi polisakarida ekstraseluler dari sukrosa, membentuk biofilm atau plak gigi. Dalam lingkungan plak, *Streptococcus Mutans* memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat, yang menurunkan pH dan menyebabkan demineralisasi enamel gigi. Keasaman yang dihasilkan menciptakan kondisi yang menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri kariogenik lainnya. Selain itu, *Streptococcus Mutans* memiliki kemampuan bertahan dalam kondisi asam tinggi dengan mengaktifkan mekanisme regulasi genetik tertentu. Faktor virulensi lainnya termasuk produksi enzim glukosiltransferase dan kemampuan membentuk toleransi asam. Kombinasi faktor-faktor ini menjadikan *Streptococcus Mutans* sebagai agen utama dalam perkembangan karies gigi (Krzyściak et al., 2015).

### 2.2.4 Mekanisme Patogenesis

Mekanisme pathogenesis dari *Streptococcus Mutans* pada mulut sebagai berikut (Biswas et al., 2021):

1. Adhesi ke Permukaan Gigi

*Streptococcus Mutans* menempel pada permukaan gigi melalui adhesin dan membentuk biofilm. Komponen saliva seperti pelikel gigi menyediakan tempat perlekatan bagi bakteri ini.

2. Pembentukan Polisakarida Ekstraseluler (EPS)

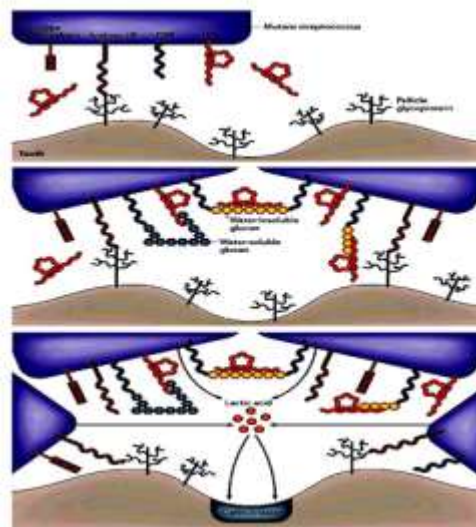
Dengan bantuan enzim glukosiltransferase (GTF), *Streptococcus Mutans* menghasilkan EPS dari sukrosa. EPS membantu bakteri bertahan di lingkungan mulut dan meningkatkan pembentukan plak gigi

3. Produksi Asam Laktat

*Streptococcus Mutans* memfermentasi karbohidrat (seperti sukrosa, glukosa, dan fruktosa) menjadi asam laktat. Asam ini menurunkan pH lingkungan mulut, menciptakan kondisi asam yang menyebabkan demineralisasi enamel gigi, yang merupakan langkah awal dalam terjadinya karies gigi.

#### 4. Virulensi yang Tinggi

Virulensi yang tinggi juga bisa membuat kemampuan untuk bertahan di lingkungan asam (*aciduric*) menjadikan *Streptococcus Mutans* sangat efektif dalam menyebabkan karies, terutama jika terdapat asupan gula tinggi secara terus-menerus. Sehingga dapat menyebabkan Penyakit yaitu Karies Gigi Penyakit ini ditandai dengan kerusakan progresif pada enamel gigi akibat proses demineralisasi yang dipicu oleh produksi asam.



Gambar 2.3 Mekanisme Patogenitas (Febrian, 2015)

### 2.3 *Escherichia Coli*

*Escherichia Coli* adalah bakteri gram-negatif berbentuk batang (basil) yang umumnya ditemukan dalam usus besar manusia dan hewan berdarah panas. Pada sebagian besar strain *Escherichia Coli* bersifat komensal dan berperan penting dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus. *Escherichia Coli* sebagai bakteri anaerob



fakultatif dapat tumbuh baik dalam kondisi aerob maupun anaerob dan memiliki peran penting dalam ekosistem usus, termasuk sintesis vitamin K serta pencernaan makanan. Namun, beberapa strain dapat bersifat patogen dan menyebabkan berbagai penyakit pada manusia. Pada strain patogen seperti *Enteropathogenic Escherichia Coli* (EPEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), dan *Enterohemorrhagic Escherichia Coli* (EHEC) dapat menyebabkan infeksi gastrointestinal serta penyakit serius seperti diare, kolitis hemoragik, hingga sindrom uremik hemolitik. Patogenisitas *Escherichia Coli* bergantung pada faktor virulensinya, termasuk adhesin, toksin, serta kemampuannya untuk bertahan dalam lingkungan tubuh manusia. Bakteri ini dapat ditularkan melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi, kontak langsung dengan hewan atau individu yang terinfeksi, serta sanitasi yang buruk. *Escherichia Coli* pertama kali diisolasi oleh Theodor Escherich pada tahun 1885 dan sejak itu menjadi salah satu mikroorganisme model dalam penelitian mikrobiologi serta bioteknologi. Pencegahan infeksi *Escherichia Coli* dapat dilakukan melalui penerapan kebersihan yang baik, memasak makanan dengan suhu yang tepat, serta memastikan sanitasi air minum yang aman (Rahayu et al., 2018).

### 2.3.1 Morfologi

*Escherichia Coli* (*E. coli*) adalah bakteri gram-negatif berbentuk batang pendek (kokobasil) dengan panjang sekitar 2,0  $\mu\text{m}$  dan diameter 0,25–1,0  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini mempunyai flagel, yang mempunyai ukuran 0,4–0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$  dan memiliki simpai. Bakteri ini juga memiliki dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan tipis yang dilapisi oleh membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS), memberikan perlindungan terhadap lingkungan eksternal sekaligus memengaruhi respons imun inang. Sebagai organisme anaerob fakultatif, *Escherichia Coli* dapat hidup baik dalam kondisi aerob maupun anaerob. Bakteri ini biasanya dilengkapi dengan flagela peritrik yang memungkinkannya bergerak secara aktif, serta pili atau fimbriae yang digunakan untuk menempel pada permukaan sel inang. Selain itu, *Escherichia Coli* dapat



memproduksi kapsul pada beberapa *strain*, yang membantu bakteri menghindari fagositosis oleh sistem imun inang (Rahayu, Nurjanah dan Komalasari, 2018).

*Escherichia Coli* (*E. coli*) merupakan bakteri yang memiliki 150 tipe antigen O, 50 tipe antigen H, dan 90 tipe antigen K. Beberapa antigen O dapat dibawa oleh mikroorganisme lain, sehingga sama seperti yang dimiliki oleh *Shigella*. Terkadang penyakit yang spesifik berhubungan dengan antigen O, dapat ditemukan pada penyakit infeksi saluran kemih dan diare (Karsinah, 2015).

### 2.3.2 Klasifikasi



Gambar 2.4 *Escherichia coli* (Anwar *et al.*, 2022)

Klasifikasi *Escherichia Coli* sebagai berikut (Rahayu, Nurjanah dan Komalasari, 2018) :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacterales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia Coli</i>
Species	: <i>Escherichia Coli</i>

### 2.3.3 Patogenisitas

*Escherichia Coli* umumnya merupakan flora normal di usus manusia dan hewan. Namun, beberapa strain dapat bersifat patogen dan menyebabkan berbagai infeksi, seperti diare, infeksi saluran kemih, dan meningitis apabila jumlahnya lebih dari normal yang ada didalam tubuh kita (Iosifidis dan Duggin, 2020). Strain patogen ini dibedakan menjadi beberapa kelompok berdasarkan faktor virulensinya sebagai berikut (Rahayu et al., 2018):

#### 1. *Enteropathogenic Escherichia Coli* (EPEC)

*Enteropathogenic Escherichia Coli* (EPEC) adalah strain patogen yang sering menyebabkan diare pada bayi dan anak-anak, terutama di negara berkembang. Berbeda dengan strain patogen lainnya, EPEC tidak menghasilkan toksin, tetapi merusak sel epitel usus melalui mekanisme *adherence and effacement* (A/E lesion). Proses ini menyebabkan kehilangan mikrovili pada usus halus, yang berakibat pada gangguan penyerapan nutrisi dan peningkatan sekresi cairan yang menyebabkan diare berair. Infeksi biasanya ditularkan melalui makanan atau air yang terkontaminasi serta kontak langsung dengan individu yang terinfeksi. Gejala utama infeksi EPEC meliputi diare tanpa darah, muntah, demam ringan, dan dehidrasi. Untuk mengatasi infeksi ini, terapi utama yang diberikan adalah rehidrasi oral, sementara antibiotik hanya digunakan pada kasus yang berat. Pencegahan dilakukan dengan menjaga kebersihan makanan dan air serta meningkatkan sanitasi lingkungan.

#### 2. *Enterotoxigenic Escherichia Coli* (ETEC)

*Enterotoxigenic Escherichia Coli* (ETEC) adalah penyebab utama *traveler's diarrhea* dan diare pada anak-anak di negara berkembang. Strain ini menghasilkan dua jenis enterotoksin utama, yaitu *heat-labile toxin* (LT) dan *heat-stable toxin* (ST). Toksin LT bekerja dengan cara meningkatkan kadar cAMP, sementara ST meningkatkan kadar cGMP, yang keduanya menghambat penyerapan natrium dan klorida serta

merangsang sekresi air dan elektrolit ke dalam lumen usus. Akibatnya, terjadi diare berair dalam jumlah besar, yang sering kali tidak berdarah dan disertai dengan kram perut, mual, serta demam ringan. Infeksi biasanya terjadi melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi. Pencegahan dapat dilakukan dengan menjaga kebersihan makanan, menghindari air minum yang tidak steril, serta vaksinasi yang masih dalam tahap pengembangan. Pengobatan utama adalah rehidrasi oral, sementara antibiotik seperti *fluoroquinolone* atau *azithromycin* dapat digunakan dalam kasus yang lebih parah.

### 3. *Enterohemorrhagic Escherichia Coli* (EHEC)

*Enterohemorrhagic Escherichia Coli* (EHEC) adalah strain patogen yang sangat virulen dan dapat menyebabkan diare berdarah yang parah serta komplikasi serius seperti *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS). Strain yang paling terkenal adalah *E. coli* O157:H7, yang menghasilkan *Shiga-like toxin* (Stx). Toksin ini merusak sel epitel usus dan dapat masuk ke dalam aliran darah, menyebabkan kerusakan pembuluh darah kecil di ginjal dan organ lainnya. Gejala infeksi EHEC meliputi diare berdarah, nyeri perut hebat, muntah, dan dalam beberapa kasus berkembang menjadi HUS, yang ditandai dengan gagal ginjal akut, anemia hemolitik, dan trombositopenia. Infeksi biasanya terjadi akibat konsumsi daging yang kurang matang, susu yang tidak dipasteurisasi, atau sayuran yang terkontaminasi. Tidak seperti strain lainnya, penggunaan antibiotik tidak disarankan karena dapat memicu pelepasan lebih banyak *Shiga-like toxin*, yang memperburuk kondisi pasien. Pencegahan dapat dilakukan dengan memastikan makanan dimasak dengan baik, menjaga kebersihan tangan, serta menghindari konsumsi produk susu yang tidak dipasteurisasi.

## 2.4 *Mouthwash*

Obat kumur atau *mouthwash*, adalah cairan antiseptik yang digunakan untuk membersihkan seluruh area rongga mulut dengan cara berkumur. Penggunaan obat

kumur dapat membantu mengurangi kuman penyebab bau mulut, plak, dan menjaga kesehatan gusi, sehingga napas lebih segar (Husna and Abral, 2015).

Berdasarkan komposisinya, obat kumur dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu sebagai berikut (Oktanauli dan Prakasa, 2017) :

#### 1. Obat Kumur Herbal

Ekstrak herbal terbukti memiliki berbagai efek samping yang berhubungan dengan pengobatan konvensional dan menjadi alternatif yang aman dan efektif untuk pengobatan konvensional yang berkembang saat ini. Berbagai ekstrak herbal seperti *chamomile*, *ocimum*, dan *echinacea* terbukti memiliki manfaat terapeutik dalam rongga mulut pada pemakaian secara topikal. Obat kumur freshol merupakan salah satu contoh obat kumur herbal yang diproduksi oleh *Charitable Institution* di India. Obat kumur ini memiliki efek antimikroba lebih baik pada *S. mutans* saliva dibandingkan *chlorhexidine* dan kapasitas dalam pengendalian plak serta kesehatan gingiva setara dengan *chlorhexidine*. Metabolit aktif dari ekstrak ini seperti carvone dan cineole memiliki efek antiplak dengan merangsang respon kekebalan tubuh dan memperlambat pembentukan biofilm. *Chamomile* dan *Echinacea*, sebaliknya menghambat *hyaluronidase* dan jalur asam *arachadonic* sehingga memberikan efek anti inflamasi pada obat kumur dan meningkatkan kesehatan gingiva. Sebagai obat kumur, freshol bebas alkohol, gula, pengawet dan warna, serta tidak memiliki efek samping. Obat kumur herbal freshol terbukti dapat menjadi alternatif yang efektif atau lebih baik dari *chlorhexidine* dalam meningkatkan kesehatan mulut.

#### 2. Obat Kumur Bebas Alkohol

Obat kumur bebas alkohol dipandang sebagai alternatif yang aman. Kemajuan teknologi telah ikut berperan dalam produksi obat kumur dengan makin berkurangnya kadar bahan kimia yang berbahaya bagi tubuh. Obat kumur bebas alkohol ini dalam memungkinkan rongga mulut untuk terus memproduksi air liur, yang berperan penting dalam menjaga kesehatan mulut, memusnahkan bakteri yang berpotensi menyebabkan bau mulut. Faktor penting dalam produksi obat kumur yang baik adalah menjaga kesehatan rongga mulut dengan mempertahankan kuantitas air liur untuk melawan bau mulut. Penggunaan obat kumur bebas alkohol

menyadarkan masyarakat untuk tidak menggunakan bahan kimia berbahaya dalam mengobati bau mulut dan menjaga kesehatan rongga mulut.

### 3. Obat Kumur Beralkohol

Alkohol yang sering ditambahkan ke dalam komposisi obat kumur adalah etanol. Ini dilakukan dengan tujuan antara lain: sebagai pelarut untuk bahan aktif lainnya, bahan antiseptik dan pengawet. Etanol juga mudah diproduksi dan relatif murah. Beberapa obat kumur dipasarkan, memanfaatkan etanol sebagai pelarut. Dalam konsentrasi tinggi, etanol juga berperan penting sebagai pengawet dan agens antiseptik. Namun demikian, obat kumur beralkohol dapat menjadi cairan yang agresif merusak jaringan rongga mulut dan menyebabkan detasemen epitel, ulserasi mukosa, gingivitis, petechias dan lesi putih pada penggunaan jangka panjang. Kadar etanol dalam obat kumur bervariasi sesuai kebutuhan sebagai pelarut untuk bahan aktif dan perasa. Bila digunakan dengan minyak esensial, jumlah etanol bebas berkurang karena ikatan kompleks yang terbentuk dengan bahan aktif fenol, sehingga kadar etanol jadi lebih kecil dari kadar yang tercantum dalam label produk. Kandungan etanol umumnya adalah 7-12% untuk *chlorhexidine* dan 22-27% untuk produk minyak esensial. Hal ini sebanding dengan 5-7% dalam bir, 12-14% dalam anggur, di atas 25% untuk berbagai minuman fermentasi. Semua obat kumur mengandung etanol harus dijauhkan dari jangkauan anak-anak. Konsentrasi alkohol yang digunakan dalam obat kumur dari konsentrasi optimum 50% sampai 70% sehingga dapat memberikan efek antiseptik, maka selain fungsinya sebagai pelarut, alkohol dalam obat kumur tidak memberikan aksi terapeutik. Alkohol dalam obat kumur hanya berefek lokal dan metabolisme, sebagaimana halnya dalam minuman. Efek samping merugikan timbul pada penggunaan jangka panjang yaitu meningkatnya risiko kanker rongga mulut, esofagus dan aksi reaktif terhadap bahan restorasi gigi



### 2.4.1 Komposisi Obat Kumur Herbal

Pada penelitian ini produk obat kumur herbal di pasaran yang digunakan umumnya mengandung berbagai bahan aktif yang berfungsi sebagai antiseptik dan memberikan rasa segar, antara lain sebagai berikut:

Tabel 2.1 Komposisi Obat Kumur Herbal

No	Nama Produk	Bahan	Fungsi Bahan
1	Pepsodent Herbal Mouthwash	Daun Sisih	Antimikroba, membantu mengurangi bakteri penyebab bau mulut (Rahmi, Rachmania and Wardani, 2019)
		Lidah Buaya	Anti-inflamasi, antibakteri, dan membantu menjaga kelembapan pada jaringan mulut(Sofia <i>et al.</i> , 2023)
		Jeruk Nipis	Antibakteri, menyegarkan napas, kaya vitamin C yang baik untuk gusi (Latupeirissa, Kurnia and Sugiaman, 2022)
2	Prolizama Herbal Mouthwash	Propolis	Antibakteri, anti-inflamasi, membantu mengatasi masalah pada gusi dan mulut(Dikarulin <i>et al.</i> , 2022)
		Ekstrak Daun Sirih	Antibakteri, anti-inflamasi, menjaga kesehatan gusi, mencegah pembentukan plak (Bustanussalam <i>et al.</i> , 2016)
		Mint	Memberikan sensasi dingin, antibakteri, menyegarkan napas (Singh, Shushni and Belkheir, 2015)



No	Nama Produk	Bahan	Fungsi Bahan
3	Enkasari Herbal Mouthwash	Daun Saga	Antibakteri, anti-inflamasi, baik untuk kesehatan mulut (Andika, Artini and Wardani, 2022)
		Ekstrak Daun Sirih	Antibakteri, anti-inflamasi, menjaga kesehatan gusi, mencegah pembentukan plak (Bustanussalam <i>et al.</i> , 2016)
		Ekstrak Akar Kayu Manis	Antibakteri, anti-inflamasi, melawan bakteri penyebab bau mulut (Intan, Diani and Nurul, 2021)
		Menthol	Memberikan sensasi segar dan dingin, menyegarkan napas (Hidayati <i>et al.</i> , 2024)
		Metil Paraben	Pengawet untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme dalam produk (Dhurhania, 2019)
		Sukrosa	Pemanis tanpa pengaruh negatif terhadap gigi (Rizal <i>et al.</i> , 2019)
		Essens Karamel	Memberikan rasa dan aroma karamel padaproduk (Prasetyorini, 2015)
		Pewarna Carmoisin	Pewarna sintetis untuk memberikan warna merah pada produk (Kartadarma, Nawawi and Halida, 2015)
		Oleum Menthae (Minyak Peppermint)	Memberikan rasa mint, antibakteri, menyegarkan napas (Laksana <i>et al.</i> , 2017)
		Etanol (0.4%)	Pelarut dan memiliki sifat antibakteri (Azizah, Ichwanuddin and Marfu'ah, 2020)

### 2.4.2 Klasifikasi



Gambar 2.5 Daun Sirih (Ayu et al., 2021)

Klasifikasi Daun Sirih sebagai berikut (Ayu et al., 2021) :

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper betle</i> L.

## 2.5 Penanaman Media dan Klasifikasi Media Penanaman Bakteri

Media penanaman bakteri adalah campuran bahan yang menyediakan nutrisi dan kondisi lingkungan yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri. Media ini dirancang untuk memenuhi kebutuhan spesifik bakteri yang akan dikultur, termasuk sumber energi, karbon, nitrogen, vitamin, mineral, dan faktor pertumbuhan lainnya (Atmanto, Asri dan Kadir, 2022)

Menurut (Atmanto dan Kadir, 2022), Klasifikasi media penanaman bakteri yaitu sebagai berikut:

1. Berdasarkan Fase Fisik:
  - a. Media Cair: Tidak mengandung agen pemat, memungkinkan pertumbuhan bakteri dalam bentuk suspensi. Contoh dari media cair ini yaitu *Nutrient broth*

(NB) yang digunakan untuk pertumbuhan umum bakteri dalam bentuk suspensi dan Tryptic Soy Broth (TSB) yang merupakan media kaya nutrisi yang digunakan untuk berbagai bakteri.

- b. Media Padat: Mengandung agen pematat seperti agar, memungkinkan pertumbuhan bakteri dalam bentuk koloni yang terlihat. Contoh dari media padat ini yaitu *Nutrient Agar* (NA) merupakan media dasar untuk pertumbuhan mikroorganisme secara umum dan *MacConkey Agar* (MCA) merupakan media selektif dan diferensial untuk bakteri Gram-negatif.
- c. Media Semi-Padat: Mengandung konsentrasi agar yang lebih rendah, memungkinkan pergerakan bakteri dalam media. Contoh dari media semi-padat ini yaitu *Sulfur Indole Motility* (SIM) merupakan medium yang digunakan untuk uji motilitas dan produksi indole pada bakteri dan *Thioglycollate Medium* merupakan media yang digunakan untuk menentukan kebutuhan oksigen bakteri.

## 2. Berdasarkan Komposisi dan Tujuan:

- a. Media Umum: Dirancang untuk pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme tanpa selektivitas khusus. Contoh dari media umum ini yaitu *Nutrient Agar* (NA) merupakan media yang digunakan untuk pertumbuhan berbagai jenis bakteri dan *Tryptic Soy Agar* (TSA) merupakan media kaya nutrisi untuk banyak bakteri dan jamur.
- b. Media Selektif: Mengandung komponen yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu, memungkinkan seleksi spesies tertentu. Contoh dari media selektif ini yaitu *MacConkey Agar* (MCA) merupakan media yang mengandung garam empedu dan kristal violet untuk menghambat Gram-positif, sehingga hanya Gram-negatif yang tumbuh dan *Mannitol Salt Agar* (MSA) merupakan media yang mengandung garam tinggi untuk seleksi *Staphylococcus spp.*
- c. Media Diferensial: Mengandung indikator yang memungkinkan perbedaan visual antara koloni mikroorganisme yang berbeda. Contoh dari media diferensial ini yaitu *Blood Agar* (BA) merupakan media yang memungkinkan diferensiasi bakteri berdasarkan hemolisis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) dan Eosin Methylene Blue

(EMB) Agar merupakan media diferensiasi *Escherichia Coli* berdasarkan fermentasi laktosa.

Media Kombinasi Selektif dan Diferensial: Menggabungkan sifat selektif dan diferensial untuk isolasi dan identifikasi spesifik. Contoh dari media kombinasi selektif dan diferensial ini yaitu *MacConkey Agar* (MCA) merupakan media selektif untuk bakteri Gram-negatif dan diferensial untuk fermentasi laktosa, serta *Mannitol Salt Agar* (MSA) merupakan selektif untuk *Staphylococcus* dan diferensial untuk fermentasi manitol.

## 2.6 Persyaratan Media Penanaman Bakteri

Menurut (Febrianty dan Suwandi, 2021), media penanaman harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu sebagai berikut:

- a. Kandungan Nutrisi: Media harus mengandung sumber energi, karbon, nitrogen, vitamin, mineral, dan faktor pertumbuhan yang dibutuhkan bakteri.
- b. pH yang Sesuai: pH media harus disesuaikan dengan kebutuhan spesifik bakteri yang akan dikultur.
- c. Kelembapan yang Cukup: Media harus memiliki kelembapan yang memadai untuk mendukung aktivitas metabolik bakteri.
- d. Sterilitas: Media harus bebas dari kontaminasi mikroorganisme lain untuk mencegah pertumbuhan yang tidak diinginkan.
- e. Konsistensi Fisik: Media harus memiliki konsistensi yang sesuai (cair, padat, atau semi-padat) sesuai dengan tujuan penggunaannya.

## 2.7 *Nutrient Agar* (NA)

*Nutrient Agar* adalah suatu media yang berbentuk padat, merupakan perpaduan antara bahan alamiah dan senyawa-senyawa kimia. Menurut Rossita (2017), berdasarkan kegunaannya media NA (*Nutrient Agar*) termasuk ke dalam jenis media universal, karena media ini merupakan media yang paling umum digunakan untuk pertumbuhan sebagian besar bakteri. Berdasarkan bentuknya media ini berbentuk padat, karena mengandung agar sebagai bahan pematatnya. Media padat biasanya

digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni bakteri (Munandar, 2016). Media NA terbuat dari campuran ekstrak daging dan pepton dengan menggunakan agar sebagai pematat. Dalam hal ini ekstrak daging dan pepton digunakan sebagai bahan dasar karena merupakan sumber protein, nitrogen, vitamin serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang, sedangkan agar digunakan sebagai pematat karena sifatnya mudah membeku dan mengandung karbohidrat yang berupa galaktam sehingga tidak mudah diuraikan oleh mikroorganisme (Fatmazira, 2017)

## **2.8 Nutrient broth (NB)**

*Nutrient broth* (NB) digunakan sebagai media pembiakan bakteri. NB yang dibuat terdiri dari ekstrak ragi yang digunakan sebagai sumber protein, pepton sebagai sumber nitrogen dan NaCl sebagai sumber garam-garam mineral. Penambahan akuades berfungsi untuk melarutkan ragi, pepton dan NaCl. Tahap selanjutnya setelah NB dingin, dilakukan penanaman bakteri dan kemudian diinkubasi dalam shaker incubator selama 24 jam dengan suhu 37°C Shaker incubator berfungsi untuk mengalirkan udara yang berada dalam erlenmeyer sehingga adanya sirkulasi oksigen yang lebih baik untuk pertumbuhan bakteri. Tujuan inkubasi itu sendiri yaitu untuk mengkondisikan lingkungan pada suhu optimum perkembangan bakteri sehingga dapat diketahui bahwa bakteri berkembang dengan baik. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam, pada media NB kontrol terlihat jernih yang menunjukkan bahwa tidak terjadi pertumbuhan bakteri dalam *nutrient broth* tersebut, sedangkan pada media NB yang diinokulasi bakteri terlihat keruh yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dalam *nutrient broth* tersebut (Meryandini, 2014).

## **2.9 Isolasi Bakteri**

Mikroorganisme pada suatu lingkungan alami merupakan populasi campuran dari berbagai jenis, baik mikroorganisme pada tanah, air, udara, makanan, maupun yang terdapat pada tubuh hewan maupun tumbuhan. Pemisahan bakteri diperlukan untuk mengetahui jenis, mempelajari kultural, morfologi, fisiologi, dan karakteristik.

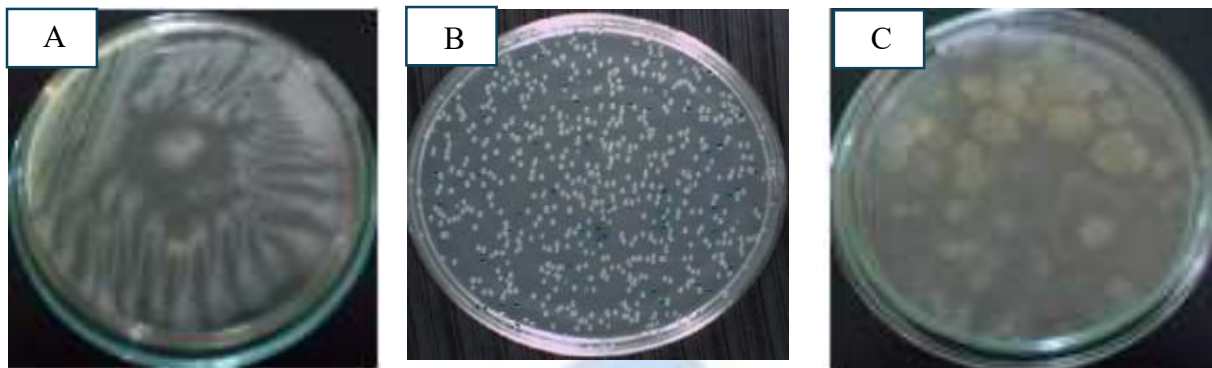


Teknik pemisahan tersebut disebut isolasi yang disertai dengan pemurnian. Pengertian isolasi bakteri yaitu suatu proses mengambil bakteri dari medium atau dari lingkungan asalnya lalu menumbuhkannya di medium buatan sehingga diperoleh biakan yang murni. Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya dalam media padat, sel-sel mikroba akan membentuk koloni sel yang tetap pada tempatnya. Beberapa cara atau metode untuk memperoleh biakan murni dari suatu biakan campuran. Dua diantaranya yang paling sering digunakan adalah metode cawan gores dan metode cawan tuang. Yang didasarkan pada prinsip pengenceran dengan maksud untuk memperoleh spesies individu. Dengan anggapan bahwa setiap koloni dapat terpisah dari satu jenis sel yang dapat diamati (Sabbathini et al., 2017). Teknik dalam isolasi dibagi menjadi 3 macam yaitu, sebagai berikut :

- a. Metode gores (*streak plate*): Isolasi dengan metode gores bertujuan untuk membuat garis sebanyak mungkin di permukaan medium biakan dengan menggunakan jarum ose sehingga terbentuk garis-garis yang semakin sedikit dan menyebabkan koloni terpisah jauh pada garis terakhir goresan.
- b. Metode tuang (*pour plate*) dan metode sebar (*spread plate*): Metode ini bertujuan untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri aerob dan anaerob yang hidup dalam suatu cairan. Hasil perhitungan jumlah bakteri disebut koloni.
- c. Metode pengenceran (*dilution plate*) : Tujuan dari teknik ini yaitu yaitu melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam aquades steril sehingga penanganannya menjadi lebih mudah.

Dari ketiga metode tersebut, ada perbedaan masing-masing hal ini dapat di lihat pada gambar 2.6





Gambar 2.6 Isolasi Bakteri dengan A. Metode *Streak Plate*, B. Metode *Pour Plate*, C. Metode *Dilution Plate* (Mahdiyah, 2015)

### 2.10 Zona Hambat

Zona hambat adalah area bening yang terbentuk di sekitar cakram atau sumur yang berisi agen antimikroba pada media padat seperti agar, sebagai hasil dari penghambatan pertumbuhan bakteri oleh agen tersebut. Zona ini terbentuk akibat difusi senyawa antibakteri dari pusat cakram ke sekeliling medium, dan semakin besar diameter zona hambat, maka semakin kuat aktivitas antibakteri senyawa tersebut terhadap mikroorganisme target. Interpretasi ukuran zona hambat biasanya dikategorikan berdasarkan klasifikasi tertentu, seperti:  $\leq 5$  mm (lemah), 6–10 mm (sedang), 11–20 mm (kuat), dan  $\geq 21$  mm (sangat kuat). Banyak faktor yang memengaruhi besar kecilnya zona hambat, termasuk jenis dan konsentrasi senyawa aktif, ketebalan medium, kecepatan difusi zat, serta sensitivitas spesies bakteri. Zona hambat ini menjadi parameter penting dalam metode difusi cakram (*disk diffusion method*) seperti uji *Kirby-Bauer*, yang umum digunakan untuk mengevaluasi efektivitas antibiotik maupun antiseptik terhadap berbagai jenis bakteri patogen (Winasti dkk, 2020).

### 2.11 Uji Anova

Uji ANOVA atau *Analysis of Variance* adalah salah satu metode statistik yang digunakan untuk menguji perbedaan rata-rata dari tiga kelompok atau lebih. Tujuan

utama dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok-kelompok tersebut. Uji ANOVA bekerja dengan membandingkan varians antar kelompok (varian antar kelompok rata-rata) dengan varians dalam kelompok (variens dalam data masing-masing kelompok). Jika varians antar kelompok jauh lebih besar dibandingkan varians dalam kelompok, maka kemungkinan besar terdapat perbedaan signifikan. Uji ANOVA mengasumsikan bahwa data terdistribusi normal dan varians antar kelompok adalah homogen. Oleh karena itu, sebelum melakukan uji ANOVA, biasanya dilakukan uji asumsi seperti uji normalitas dan uji homogenitas varians. Jika asumsi tersebut tidak terpenuhi, maka uji non-parametrik seperti Kruskal-Wallis lebih disarankan (Kim and Cribbie, 2018).

Pada Uji ANOVA terbagi menjadi dua yaitu, sebagai berikut:

#### 1. *One-Way* ANOVA

*One-Way* ANOVA (Analisis Variansi Satu Arah) adalah uji hipotesis yang digunakan untuk membandingkan rata-rata dari tiga atau lebih kelompok independen ketika hanya ada satu variabel independen (faktor) kategori yang memengaruhi satu variabel dependen kontinu. Hipotesis yang biasanya digunakan oleh *One-Way* ANOVA sebagai berikut:

- Hipotesis:
  - Hipotesis Nol ( $H_0$ ): Tidak ada perbedaan signifikan antara rata-rata semua kelompok populasi ( $\mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$ ).
  - Hipotesis Alternatif ( $H_a$ ): Setidaknya ada satu rata-rata kelompok yang berbeda secara signifikan dari rata-rata kelompok lainnya (Investopedia, t.t.; Mind the Graph Blog, 2023).
  - Jika uji *One-Way ANOVA* menolak hipotesis nol, ini berarti ada perbedaan signifikan di antara setidaknya dua kelompok, tetapi tidak secara spesifik menunjukkan kelompok mana yang berbeda. Untuk mengidentifikasi perbedaan spesifik antar kelompok, diperlukan uji *post hoc* (misalnya, Tukey

HSD), yang sering dilakukan setelah ANOVA (Russell & Kelly, 2023),

## 2. *Two-Way ANOVA*

*Two-Way ANOVA* (Analisis Variansi Dua Arah) merupakan perluasan dari *One-Way ANOVA* yang digunakan ketika peneliti ingin menganalisis efek dari dua variabel independen (faktor) kategori terhadap satu variabel dependen kontinu secara bersamaan. Selain menguji efek utama dari masing-masing faktor, *Two-Way ANOVA* juga memungkinkan peneliti untuk menguji efek interaksi antara kedua faktor tersebut. Efek interaksi terjadi jika pengaruh satu faktor terhadap variabel dependen berbeda pada level yang berbeda dari faktor lainnya. Hipotesis yang biasanya digunakan oleh *One-Way One-Way ANOVA* sebagai berikut:

- Hipotesis:
  - Hipotesis Nol ( $H_0$ ) untuk Efek Utama Faktor A: Tidak ada perbedaan signifikan pada rata-rata variabel dependen di antara level-level Faktor A.
  - Hipotesis Nol ( $H_0$ ) untuk Efek Utama Faktor B: Tidak ada perbedaan signifikan pada rata-rata variabel dependen di antara level-level Faktor B.
  - Hipotesis Nol ( $H_0$ ) untuk Efek Interaksi: Tidak ada interaksi signifikan antara Faktor A dan Faktor B terhadap variabel dependen.
  - *Two-Way ANOVA* membagi total variabilitas data menjadi empat komponen: variabilitas karena Faktor A, variabilitas karena Faktor B, variabilitas karena interaksi antara Faktor A dan B, dan variabilitas sisa (residual). Hal ini memungkinkan analisis yang lebih komprehensif dibandingkan *One-Way ANOVA*, karena mempertimbangkan bagaimana kombinasi faktor dapat memengaruhi hasil (Nibrad, 2019)

Sehingga Perbedaan utama antara *One-Way ANOVA* dan *Two-Way ANOVA* terletak pada jumlah variabel independen (faktor) yang dianalisis serta kemampuan untuk menguji efek interaksi. *One-Way ANOVA* digunakan ketika peneliti ingin membandingkan rata-rata dari tiga atau lebih kelompok berdasarkan satu variabel independen kategori, dengan fokus hanya pada efek utama dari faktor tersebut. Sebaliknya, *Two-Way ANOVA* dirancang untuk menganalisis pengaruh dua variabel independen kategori secara simultan terhadap satu variabel dependen kontinu. Selain menguji efek utama dari masing-masing dua faktor tersebut.

### 2.12 Uji *Levene*

Uji *Levene* adalah uji statistik yang digunakan untuk menguji asumsi homogenitas varians atau kesamaan varians antar kelompok. Uji ini sering digunakan sebagai prasyarat sebelum melakukan uji ANOVA. Homogenitas varians berarti bahwa kelompok-kelompok yang dibandingkan memiliki varians yang kurang lebih sama. Uji *Levene* bekerja dengan menghitung deviasi absolut dari nilai tiap observasi terhadap median atau rata-rata kelompoknya, lalu membandingkan nilai-nilai tersebut antar kelompok. Hasil uji *Levene* dianggap signifikan jika nilai *p-value*  $> 0,05$ , yang berarti varians antar kelompok tidak sama (Augusto and Ojeda, 2024).

UNIVERSITAS  
MA CHUNG

### 2.13 Penelitian Terdahulu

Tabel 2.2 Penelitian Terdahulu

No	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Tahun	Metode Penelitian	Hasil	Pembahasan	Kesimpulan
1	Meirina Gartika, Wartadewi, Hening T. Pramesti	Pengaruh Obat Kumur Herbal Jeruk Nipis terhadap Penurunan Indeks Plak Gigi	2019	Kuasi-eksperimen, pre-post test, 14 siswa, uji OHIS	Jeruk nipis menurunkan plak tapi tidak signifikan ( $p=0,307$ ); tidak berbeda signifikan dengan klorheksidin ( $p=0,135$ )	Efektivitas jeruk nipis bagus, efek samping lebih sedikit dibanding klorheksidin	Jeruk nipis bisa menurunkan plak, namun tidak signifikan; bisa jadi alternatif
2	Nabila Aini, Henry Y. Mandalas, Ken Edinata	Perbandingan Efektivitas Berkumur Dengan <i>Chlorhexidine</i> dan Obat Kumur yang	2022	Eksperimental klinis, single-blind, 30 subjek, uji t	<i>Chlorhexidine</i> : penurunan 56,37%; Daun sirih: 29,74%; $p=0,014$ (berbeda signifikan)	<i>Chlorhexidine</i> lebih efektif mengurangi plak tapi punya efek samping (rasa pahit, pewarnaan); daun sirih lebih nyaman digunakan	<i>Chlorhexidine</i> lebih efektif lebih efektif mengurangi plak, tetapi daun sirih tetap mampu menurunkan plak

No	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Tahun	Metode Penelitian	Hasil	Pembahasan	Kesimpulan
3	Nina Ristianti, Jaka Kusnanta W., Marsono	mengandung Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> ) terhadap Indeks Plak Ortodontik Perbedaan Efektivitas Obat Kumur Herbal dan Non-Herbal terhadap Akumulasi Plak	2021	Pre-post test with control group, 52 santri, uji statistik t	Kedua kelompok (klorheksidin dan daun kemangi) efektif menurunkan plak, tidak signifikan beda ( $p>0,05$ )	Daun kemangi memiliki senyawa antibakteri (eugenol), hampir setara dengan klorheksidin	Keduanya efektif; daun kemangi dapat menjadi alternatif alami
4	Farhan Alfarisi dkk.	Uji Karakteristik dan Uji	2024	Eksperimen posttest only control group,	pH 5,47–6,82 (baik); 0,25% stabil dan	Katekin gambir 0,25% efektif, stabil, disukai; konsentrasi	Katekin gambir 0,25% memenuhi syarat obat



No	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Tahun	Metode Penelitian	Hasil	Pembahasan	Kesimpulan
		Organoleptik Obat Kumur Katekin Gambir		uji pH, stabilitas, organoleptik pada 25 pasien	disukai secara organoleptik; konsentrasi tinggi menyebabkan pemisahan	tinggi kurang stabil dan tidak disukai	kumur herbal, layak dikembangkan

Dari penelitian terdahulu di atas dapat diketahui bahwa sudah banyak diteliti terkait efektivitas *chlorhexidine* 0,2% terhadap kemampuan dalam menghambat berbagai bakteri, namun untuk beberapa sediaan herbal di pasaran, masih belum diketahui perbandingan efektivitasnya. pada beberapa kandungan dalam sediaan obat kumur yang memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri namun hanya sedikit laporan yang menunjukkan perbandingan diantara produk pasaran tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas sediaan *mouthwash* herbal di pasaran yang mengandung ekstrak daun sirih dengan *chlorhexidine* 0,2%.

## **Bab III**

### **Metodologi Penelitian**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan berupa penelitian eksperimental non-*randomized control trial* dengan bentuk desain penelitian post-test only control group design. Kelas eksperimen mendapatkan perlakuan yaitu Sediaan *Mouthwash* dengan Kandungan Ekstrak Daun Sirih (Pepsodent Herbal (M1), Enkasari *Mouthwash*(M2), dan Prolizama *Mouthwash*(M3)), kontrol positif mendapatkan perlakuan *Chlorhexidine* 0,2 % , sedangkan kontrol negatif hanya *water for injection* (WFI). Penelitian ini digunakan untuk mengetahui efektivitas antibakteri dari sediaan *mouthwash* yang mengandung dengan Kandungan Ekstrak Daun Sirih terhadap pertumbuhan *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara deskriptif dan statistic.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Ma Chung Malang pada bulan Maret-Mei 2025.

#### **3.3 Populasi dan Sampel penelitian**

##### **3.3.1 Populasi**

Populasi dalam penelitian yang berjudul Uji Daya Hambat Bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli* pada Sediaan *Mouthwash* dengan Kandungan Ekstrak Daun Sirih yaitu Pepsodent herbal, Enkasari, dan Prolizama. *Streptococcus Mutans* merupakan bakteri gram positif yang berperan penting dalam pembentukan plak gigi dan karies, sementara *Escherichia Coli* adalah bakteri gram negatif yang sering dijadikan indikator dalam pengujian aktivitas antibakteri. Kedua jenis bakteri ini dipilih untuk mewakili kelompok bakteri gram positif dan gram negatif, sehingga dapat memberi gambaran komprehensif mengenai efektivitas daya hambat dari sediaan *mouthwash*.

### 3.3.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini terdiri dari isolat dari bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*. *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli* akan diinokulasi pada *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient broth* (NB) Sampel pada penelitian ini dibagi dalam 3 kelompok perlakuan diantaranya :

1. Kelompok kontrol positif : pada kelompok ini sampel diberikan *Chlorhexidine* 0,2% (minosep merah 0,2%)
2. Kelompok kontrol negatif : pada kelompok ini sampel hanya *water for injection* (WFI)
3. Kelompok perlakuan: pada kelompok perlakuan ini sampel diberikan Sediaan *Mouthwash* dengan Kandungan Ekstrak Daun Sirih (Pepsodent Herbal (M1), Enkasari *Mouthwash*(M2), dan Prolizama *Mouthwash*(M3)).

## 3.4 Variabel penelitian

### 3.4.1 Variabel Bebas

Pada penelitian ini menggunakan variable bebas yaitu *Chlorhexidine* 0,2%, *water for injection* (wfi), Sediaan *Mouthwash* dengan Kandungan Ekstrak Daun Sirih (Pepsodent Herbal (M1), Enkasari *Mouthwash* (M2), dan Prolizama *Mouthwash* (M3))

### 3.4.2 Variabel Terikat

Pada penelitian ini menggunakan variable terikat yaitu Daya hambat bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*, yang biasanya diukur melalui diameter zona hambat (mm)

### 3.5 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel penelitian	Definisi operasional	Indikator	Alat ukur	Skala
Variabel bebas	<i>Chlorhexidine</i> 0,2%, <i>water for injection</i> (wfi), M1, M2, dan M3	Bahan aktif dalam sediaan obat kumur yang diuji efektivitasnya sebagai agen antibakteri	-	-
Variabel terikat	Daya hambat bakteri <i>Streptococcus Mutans</i> dan <i>Escherichia Coli</i>	Kemampuan sediaan obat kumur herbal dengan kandungan ekstrak Daun Sirih (M1, M2, dan M3) dalam menghambat bakteri <i>Streptococcus Mutans</i> dan <i>Escherichia Coli</i> yang ditunjukkan oleh diameter	Penggaris atau jangka sorong	Rasio

Variabel penelitian	Definisi operasional	Indikator	Alat ukur	Skala
		zona hambat pada sekitar paper disk		

### 3.6 Prosedur Kerja

#### A. Alat

Alat yang digunakan yaitu Autoclave, Blue tips, Mikropipet, Cawan petri, Gelas ukur, Hockey stick / batang bengkok, Inkubator, Jangka sorong, Jarum ose, Kertas cakram, Labu Erlenmeyer, Laminar Air flow, Pembakar Bunsen, Rak tabung reaksi, Tabung reaksi, Vortex, Hot plate stirer dan magnetik stirrer, Aluminium foil.

#### B. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu *Chlorhexidie* (minosep merah 0,2%) , Pepsodent herbal *mouthwash*, Enkasari herbal *mouthwash* dan Prolizama herbal *mouthwash*, bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*, Etanol 70%, *Nutrient Agar* (NA), *Media Nutrient Brooth* (NB), Aquades,

#### C. Prosedur Kerja

##### 1. Sterilisasi

Cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, *effendorf*, *blue tips*, *white tips*, media *Blood Agar*, media NB dan seluruh alat dan bahan (kecuali sediaan *mouthwash* yang mengandung *chlorhexidine*) yang akan digunakan disterilisasi di dalam autoclave selama 24 jam dengan mengatur tekanan sebesar 15 dyne/cm<sup>3</sup> (1 atm) dan suhu sebesar 121 °C setelah sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas.

##### 2. Pembuatan Media *Nutrient Agar*

Menimbang 2,8 gram *Nutrient Agar Base oxoid*. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga 100 ml, dan disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit

pada suhu 121°C. Setelah keluar dari autoklaf dibiarkan sampai suhunya mencapai 45-50 °C atau hangat kemudian menambahkan darah domba steril yang sudah didefibrinasi masing-masing sebanyak 5 % kemudian dituang pada cawan petri sekitar 15-20 ml dan dibiarkan hingga memadat.

3. Pembuatan Media *Nutrient broth* NB)

Menimbang NB sebanyak 0,65 gram dan dilarutkan ke dalam Labu erlenmeyer dengan akuades hingga mencapai volume 50 mL, kemudian dipanaskan hingga homogen media dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan tutup rapat. Media disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit setelah itu tambahkan darah domba steril 5%.

4. Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol negatif dalam pengujian antibakteri ini menggunakan *Water for injection* sebanyak 5 µL kemudian diteteskan pada kertas cakram. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan *Chlorhexidine* 0,2%, dengan cara mengambil larutan minosep 0,2% sebanyak 5 µL kemudian diteteskan pada kertas cakram.

5. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 10 ml *Nutrient Broth*. Setelah itu bakteri di inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 – 48 jam. Untuk bakteri *Streptococcus Mutans*, menggunakan *candle jar* dengan wadah kaca dengan penutup yang rapat, kemudian letakkan tabung reaksi berisi bakteri yang akan diinkubasi di dalam wadah, tambahkan lilin kecil ke dalam stoples. Nyalakan lilin, lalu segera tutup stoples rapat. Letakkan wadah dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam. Sedangkan bakteri *Eschericia coli* setelah diinokulasikan diletakkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam. Setelah di inkubasi dan di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada setiap jenis bakteri uji. Transmittan bakteri diukur



menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 630 nm hingga menghasilkan absorbansi 0,08-0,12.

#### 6. Penanaman Bakteri

Berbagai *mouthwash* di pasar dengan mengandung ekstrak daun sirih yaitu Pepsodent herbal *mouthwash*, Enkasari *mouthwash* dan Prolizama *mouthwash* diuji terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus Mutans*. Biakan bakteri yang akan diuji ditanam pada media *Blood Agar* dengan metode *streak plate*, bakteri yang telah diinkubasi diambil sebanyak 1 ose kemudian lakukan metode streak pada media. kemudian kertas cakram dengan diameter 0,55 cm dimasukkan ke dalam media yang telah di biakan bakteri kemudian tetesi kertas dengan (Kontrol Negatif, Kontrol Positif, M1, M2, M3) sebanyak 5 µl. Dalam 1 cawan petri berisi 3 area. Dilakukan sebanyak 5 kali replikasi. Inkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam. Zona terang yang terbentuk di sekeliling kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong.

#### 7. Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat setelah itu dilakukan pengukuran zona hambat.

### 3.7 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis untuk mengetahui perbedaan daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli* pada sediaan *mouthwash* dengan Sediaan *Mouthwash* dengan Kandungan Ekstrak Daun Sirih (Pepsodent Herbal, Enkasari *Mouthwash*, dan Prolizama *Mouthwash*), kontrol positif mendapatkan perlakuan *Chlorhexidine (minosep 0,2%)* , sedangkan kontrol negatif hanya *water for injection (WFI)*. Berikut tahapan uji analisis data yang dapat dilakukan:

a. Uji Normalitas

Sebelum dilakukan analisis statistik utama, data diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk. Uji ini digunakan untuk menentukan apakah data berdistribusi normal.

b. Analisis Statistik

Pada data yang berdistribusi normal, Uji Levene dilakukan terlebih dahulu untuk memverifikasi apakah varians antar kelompok adalah homogen atau tidak. Uji ini dilakukan jika ada kecurigaan bahwa varians antar kelompok berbeda. Jika hasil uji Levene menunjukkan bahwa varians antar kelompok signifikan berbeda ( $p\text{-value} > 0,05$ ), maka asumsi homogenitas varians terpenuhi dan dapat dilanjutkan dengan analisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk menguji perbedaan rata-rata daya hambat antar kelompok perlakuan. Jika hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p\text{-value} < 0,05$ ), dilanjutkan dengan uji *post-hoc Tukey* untuk mengetahui pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan. Namun jika data tidak berdistribusi normal, dilakukan analisis menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis sebagai alternatif. Jika uji Kruskal-Wallis menunjukkan hasil signifikan ( $p\text{-value} < 0,05$ ), dilanjutkan dengan uji *dunn*, uji ini digunakan saat data tidak berdistribusi normal dan melibatkan lebih dari dua kelompok, biasanya dilengkapi dengan koreksi (seperti *Bonferroni*) untuk menghindari kesalahan akibat perbandingan ganda. Interpretasi hasil.

Hasil analisis menunjukkan bahwa dengan Sediaan Mouthwash dengan Kandungan Ekstrak Daun Sirih (Pepsodent Herbal Mouthwash, Enkasari Herbal Mouthwash, dan Prolizama Herbal Mouthwash), kontrol positif mendapatkan perlakuan *Chlorhexidine 0,2%*, sedangkan kontrol negatif hanya *water for injection (WFI)* memiliki perbedaan signifikan dalam daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*.

### 3.8 Hipotesis dan Pengambilan Keputusan

#### A. Anova

##### 1. Rumusan masalah 1

- $H_0$  : Tidak semua kelompok memiliki daya hambat yang paling tinggi terhadap bakteri *Streptococcus Mutans*
- $H_1$  : Terdapat setidaknya satu kelompok yang memiliki daya hambat yang paling tinggi terhadap bakteri *Streptococcus Mutans*.

##### 2. Rumusan masalah 2

- $H_0$  : Tidak semua kelompok memiliki daya hambat yang paling tinggi terhadap bakteri *Escherichia Coli*
- $H_1$  : Terdapat setidaknya satu kelompok yang memiliki daya hambat yang paling tinggi terhadap bakteri *Escherichia Coli*.

#### B. *Post Hoc Tukey*

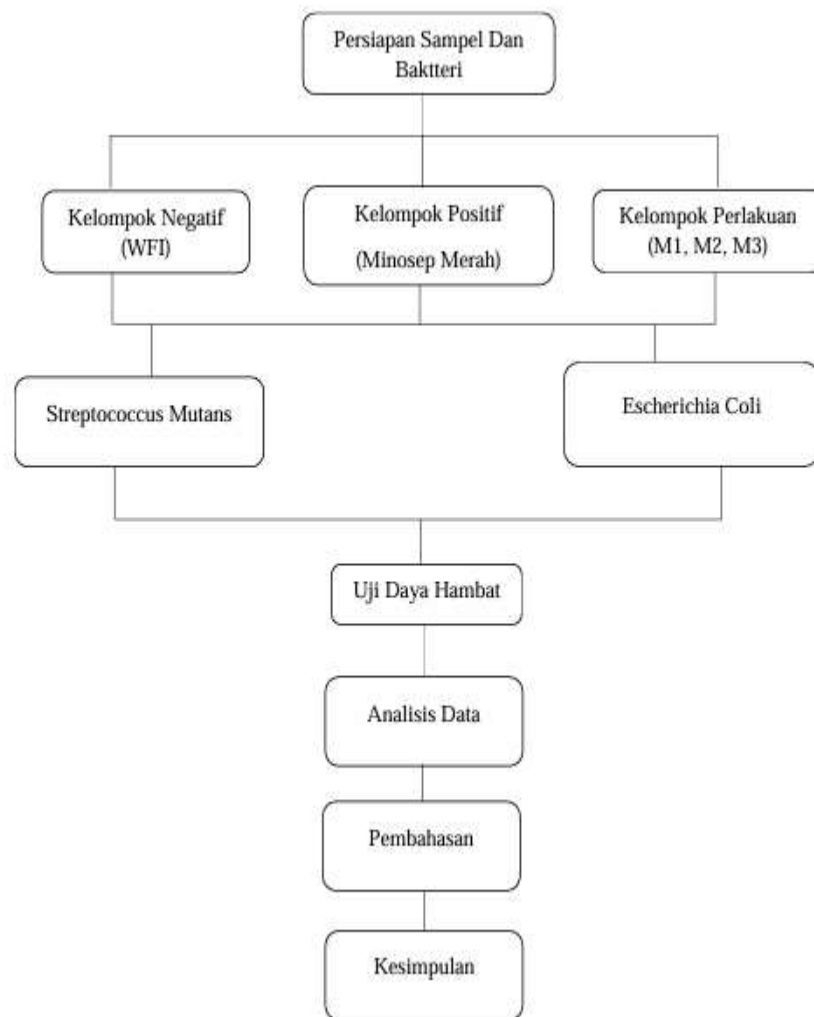
##### 1. Rumusan masalah 1

- $H_0$  : Tidak ada perbedaan signifikan dalam rata-rata daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus Mutans* antara kelompok *mouthwash* M1, M2, dan M3 ( $\mu M_1 = \mu M_2 = \mu M_3$ )
- $H_1$  : Ada perbedaan signifikan dalam rata-rata daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus Mutans* antara kelompok *mouthwash* ( $\mu M_3 > \mu M_1$  dan  $\mu M_3 > \mu M_2$ , sementara  $\mu M_1 \approx \mu M_2$ )

##### 2. Rumusan masalah 2

- $H_0$  : Tidak ada perbedaan signifikan dalam rata-rata daya hambat terhadap bakteri *Escherichia Coli* antara kelompok *mouthwash* M1, M2, dan M3 ( $\mu M_1 = \mu M_2 = \mu M_3$ )
- $H_1$  : Ada perbedaan signifikan dalam rata-rata daya hambat terhadap bakteri *Escherichia Coli* antara kelompok *mouthwash* ( $\mu M_3 > \mu M_1$  dan  $\mu M_3 > \mu M_2$ , sementara  $\mu M_1 \approx \mu M_2$ )

### 3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

## BAB IV

### Hasil dan Pembahasan

#### 4.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Pada *Streptococcus Mutans*

Pada penelitian ini, melakukan uji aktivitas pada produk *mouthwash* herbal yang ada di pasaran. Pada pemilihan produk *mouthwash* berbahan herbal yaitu Pepsodent Herbal *Mouthwash* (M1), Enkasari Herbal *Mouthwash* (M2), dan Prolizama Herbal *Mouthwash* (M3) didasarkan pada tren yang semakin berkembang di kalangan masyarakat mengenai pentingnya penggunaan bahan alami dalam produk perawatan diri, termasuk untuk menjaga kesehatan rongga mulut. Keputusan untuk menggunakan produk berbasis herbal bukan hanya karena persepsi masyarakat yang menganggap produk herbal lebih aman dan minim efek samping, melainkan juga karena berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa beberapa bahan herbal memiliki aktivitas antibakteri yang efektif terhadap mikroorganisme patogen oral, khususnya *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli*, yang dikenal sebagai bakteri utama penyebab karies gigi (Kurniawan *et al.*, 2021).

Pada setiap produk *mouthwash* yang diuji dalam penelitian ini memiliki komposisi bahan herbal yang berbeda-beda, yang masing-masing berperan dalam memberikan efek antibakteri. Pepsodent Herbal *Mouthwash* mengandung kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*), lidah buaya, dan lemon. Daun sirih diketahui memiliki senyawa aktif seperti fenol, eugenol, dan tanin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans*, penyebab utama karies gigi, dengan cara merusak membran sel dan mengganggu aktivitas enzim penting bakteri (Sharma *et al.*, 2017). Sementara itu, kandungan flavonoid dan terpenoid dalam lidah buaya dan lemon turut berperan dalam menghambat pembentukan biofilm dan meningkatkan aktivitas antibakteri secara sinergis (Reddy *et al.*, 2018).

Enkasari Herbal *Mouthwash* mengandalkan kombinasi ekstrak daun saga (*Abrus precatorius*), kayu manis (*Cinnamomum cassia*), daun sirih, dan *chamomile* yang bersama-sama memberikan efek antimikroba dan antiinflamasi. Daun saga mengandung flavonoid dan saponin yang mampu meningkatkan permeabilitas

membran sel bakteri, menyebabkan kematian sel mikroorganisme seperti *E. coli* (Nguyen et al., 2016). Kayu manis, melalui kandungan eugenol dan *cinnamaldehyde*, bekerja merusak membran bakteri dan menghambat jalur metabolik esensial (Li & Wu, 2019). *Chamomile* sendiri mengandung senyawa seperti apigenin dan chamazulene yang mendukung efek antiinflamasi dan memperkuat aktivitas antimikroba dengan mekanisme serupa (Fernandez et al., 2020). Kombinasi ini menjadikan Enkasari efektif tidak hanya dalam mencegah infeksi, tetapi juga mengurangi peradangan pada rongga mulut.

Sementara itu, Prolizama Herbal *Mouthwash* menawarkan formulasi berbasis propolis, sambiloto (*Andrographis paniculata*), dan pegagan (*Centella asiatica*) yang memberikan manfaat ganda sebagai antibakteri dan penyembuh luka. Propolis mengandung flavonoid dan asam fenolat yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu sintesis dinding sel serta menonaktifkan enzim bakteri seperti glikosiltransferase (Kurniawan et al., 2021). Sambiloto memberikan efek imunomodulator dan antibakteri melalui senyawa *andrographolide* yang telah terbukti meningkatkan pertahanan mukosa oral (Zhang et al., 2018). Pegagan, di sisi lain, mengandung triterpenoid seperti asiaticoside yang mempercepat proses regenerasi jaringan epitel dan penyembuhan luka (Lim et al., 2017). Kombinasi bahan ini membuat Prolizama sangat bermanfaat dalam mempercepat pemulihan luka di rongga mulut sekaligus mencegah infeksi.

Pada efektivitas antibakteri dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap Produk *Moutwash* Sediaan Herbal yang beredar di pasaran yaitu Pepsodent herbal Moutwash (M1), Enkasari Moutwash (M2), dan Prolizama Moutwash (M3), hal ini dilakukan untuk melihat efektivitas sediaan produk *Moutwash* Sediaan Herbal terhadap bakteri yaitu *Streptococcus Mutans* (gram positif) dan *Escherichia Coli* (gram negatif). Uji ini bertujuan untuk menguji efektivitas dari sediaan moutwash herbal di pasaran dalam menghambat yaitu *Streptococcus Mutans* (gram positif) dan *Escherichia Coli* (gram negatif).

Pada pengujian aktivitas antibakteri ini dilakukan menggunakan metode *streak plate* dan difusi kertas cakram. Pada proses uji aktivitas antibakteri dilakukan



menggunakan media *Nutrient broth* (NB) pada pembuatan suspensi bakteri dan digunakan *Nutrient Agar* (NA). Digunakan NA karena memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk kultur dari kebanyakan bakteri. Selain itu NA bersifat netral tidak mempengaruhi prosedur pengujian aktivitas antibakteri (Utomo et al., 2018).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan 5 kali replikasi. Dimana total semua menggunakan 15 cawan petri untuk 3 sampel sehingga memiliki 5 kontrol positif dan 5 kontrol negatif. Pada pengujian ini menggunakan teknik *streak plate* agar mengisolasi koloni murni dari campuran mikroorganisme dengan cara menggoreskan inokulum secara bertahap pada permukaan media padat agar mikroba tersebar dan tumbuh terpisah. Teknik *streak plate* dilakukan dengan mensterilkan ose di atas nyala api, kemudian mencelupkannya ke dalam sampel, dan menggoreskannya pada permukaan media agar padat (seperti NA) dalam pola zig-zag atau empat kuadran dengan sterilisasi ose di antara tiap kuadran untuk menipiskan jumlah mikroba, digoyangkan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan ditunggu sampai dengan memadat. Teknik *streak plate* merupakan metode isolasi koloni murni yang cocok digunakan untuk bakteri *Escherichia Coli* dan *Streptococcus Mutans*, dengan penyesuaian media dan kondisi inkubasi sesuai karakteristik masing-masing bakteri. *Escherichia Coli* adalah bakteri gram negatif, bersifat fakultatif anaerob, yang mudah tumbuh pada media umum seperti *Nutrient Agar* pada suhu 37°C tanpa memerlukan kondisi khusus, sehingga teknik *streak plate* sangat efektif untuk isolasinya (Nassar et al., 2021) Sementara itu, *S. mutans*, yang merupakan bakteri gram positif dan penyebab utama karies gigi, memerlukan penambahan 5% darah domba untuk mendukung pertumbuhannya secara optimal. Penambahan darah domba membantu menyediakan faktor pertumbuhan dan memungkinkan pengamatan karakteristik hemolitik. Selain itu, *S. mutans* memerlukan kondisi mikroaerofilik atau anaerob, sehingga inkubasi menggunakan *candle jar* sangat dianjurkan untuk meningkatkan pertumbuhan koloni (Salari et al., 2019).

Di sisi lain, metode difusi kertas cakram sangat sesuai untuk pengujian aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. mutans*. Kedua bakteri ini dapat tumbuh merata di media padat dan bersifat fakultatif anaerob, sehingga dapat beradaptasi dengan baik

pada kondisi aerobik standar metode ini. Teknik ini memungkinkan visualisasi zona hambat di sekitar cakram antibakteri dengan jelas. Selain itu, metode ini sederhana, murah, dan memberikan hasil kuantitatif melalui pengukuran diameter zona hambat, sehingga sangat relevan untuk menilai keefektifan agen antibakteri seperti mouthwash berbahan herbal (*Wojnicz and Kucharska, 2023*).

Selanjutnya, data hasil pengukuran dianalisis secara statistik menggunakan aplikasi SPSS untuk memastikan apakah perbedaan yang terlihat secara visual memiliki makna secara statistik. Langkah pertama adalah uji normalitas menggunakan metode Shapiro-Wilk, yang menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki distribusi data yang normal ( $p > 0,05$ ), sehingga dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya. Setelah itu, dilakukan uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test*, yang menunjukkan hasil tidak signifikan ( $p > 0,05$ ), menandakan bahwa data dari semua kelompok memiliki varians yang homogen. Karena asumsi normalitas dan homogenitas terpenuhi, maka dilakukan uji ANOVA satu arah untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok uji. Hasil ANOVA menunjukkan nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setidaknya dua kelompok yang diuji. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara signifikan, dilakukan uji lanjut *Post Hoc Tukey HSD*. Berdasarkan hasil uji statistik *Post Hoc Tukey HSD* terhadap zona hambat *Streptococcus Mutans* yang dapat di lihat pada table 4.1 dibawah ini.

Tabel 4.1 *Tukey HSD Streptococcus Mutans*

Sampel	Sampel	Mean Difference	Sig.
Negatif	Positif	-8,98400*	.000
	M1	-5.83600*	.000
	M2	-4.93600*	.000
	M3	-7.55200*	.000

Berdasarkan table 4.1 dapat di ketahui jika kelompok negatif yang tidak diberi perlakuan mouthwash menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan semua kelompok lainnya. Perbedaan paling besar terlihat saat dibandingkan dengan kelompok positif (Minosep Merah) dengan nilai *Mean Difference* = -8,984 , yang menunjukkan bahwa pertumbuhan *S. mutans* sangat tinggi tanpa adanya perlakuan. Nilai *p-value* = 0,000 yang menunjukkan sangat signifikan. Ini menguatkan bahwa *S. mutans* tumbuh subur tanpa perlakuan dan bisa ditekan secara efektif dengan mouthwash.

Pada lampiran gambar D.5 dapat di ketahui jika kelompok positif menunjukkan hasil paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Semua perbandingan antara kelompok positif dengan kelompok lain (negatif, M1, M2, M3) menunjukkan perbedaan yang signifikan. Misalnya, perbedaan dengan M1 (Pepsodent Herbal Mouthwash) adalah 3,148 , dan dengan M2 (Enkasari Herbal Mouthwash) adalah 4,048 , keduanya signifikan dengan *p-value* = 0,000. Meskipun terdapat perbedaan yang lebih kecil dengan M3 (Prolizama) yaitu 1,432, hasil ini tetap signifikan. Ini menunjukkan bahwa *chlorhexidine* dalam Minosep bekerja sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri dibanding mouthwash herbal.

Pada lampiran gambar D.5 dapat di ketahui kelompok M1 memiliki efektivitas zona hambat menengah. Pada saat dibandingkan dengan kelompok negatif, M1 menunjukkan perbedaan yang signifikan (*Mean Difference* = -5,836 dan *p-value* = 0,000), menandakan bahwa Pepsodent Herbal mampu menekan pertumbuhan *S. mutans*. Namun, saat dibandingkan dengan kelompok positif, perbedaan justru menunjukkan bahwa M1 kurang efektif (*Mean Difference* = -3,148 dan *p-value* = 0,000). Selain itu, perbandingan M1 dengan M2 menunjukkan perbedaan signifikan (*Mean Difference* = 0,900 dan *p-value* = 0,019), dan dengan M3 juga signifikan (*Mean Difference* -1,716 dan *p-value* = 0,000), menunjukkan efektivitas M1 berada di antara M2 dan M3, tapi tetap di bawah kelompok positif.

Pada lampiran gambar D.5 dapat di ketahui kelompok M2 juga menunjukkan kemampuan dalam menghambat *S. mutans*, meskipun tidak sekuat kelompok positif. Dibandingkan dengan kelompok negatif, M2 memiliki *Mean Difference* = -4,936 dan *p-value* = 0,000 , menunjukkan adanya penekanan pertumbuhan. Namun,

dibandingkan dengan kelompok positif (*Mean Difference* = -4,048 dan *p-value* = 0,000), Enkasari tetap tidak sebanding secara efektivitas. Dibandingkan dengan M1, perbedaannya kecil (*Mean Difference* = 0,900 dan *p-value* = 0,019), menunjukkan bahwa keduanya hampir setara, namun M2 (Enkasari Herbal *Mouthwash*) sedikit lebih rendah efektivitasnya daripada Pepsodent Herbal.

Pada lampiran gambar D.5 dapat di ketahui kelompok M3 menunjukkan juga efektivitas antibakteri di antara kelompok *mouthwash* herbal. Dibandingkan dengan kelompok negatif, M3 masih menunjukkan perbedaan signifikan (*Mean Difference* = 7,552 dan *p-value* = 0,000), menandakan adanya aktivitas antibakteri. Namun dibandingkan dengan kelompok positif, M3 jauh lebih lemah (*Mean Difference* = -1,432 dan *p-value* = 0,000). Kemudian terhadap M2 (*Mean Difference* = 2,616, *p-value* = 0,000), menandakan M3 lebih baik dari M2. Namun, saat dibandingkan dengan M1, ada perbedaan signifikan (*Mean Difference* = 1.71600, dan *p-value* = 0,000), yang berarti efektivitas M3 lebih baik daripada M1. Kemudian hasil rata-rata diameter zona hambat yang di peroleh oleh setiap produk *Mouthwash* dapat dilihat Tabel 4.4 di bawah ini.

Tabel 4.2 Hasil diameter zona hambat Bakteri *S.Mutans*

Kelompok	Replikasi	Diameter zona hambat	( $\pm$ SD)
Negatif	Kontrol (-)	-	-
	Kontrol (-)	-	
	Kontrol (-)	-	
	Kontrol (-)	-	
	Kontrol (-)	-	
	Rata-Rata	-	
Positif	Kontrol (+)	9,06	0,47889
	Kontrol (+)	8,30	
	Kontrol (+)	9,62	
	Kontrol (+)	8,83	

Kelompok	Replikasi	Diameter zona hambat	( $\pm$ SD)
	Kontrol (+)	9,11	
	Rata-Rata	8,9840	
M1	M1	5,55	0,47773
	M1	5,20	
	M1	6,10	
	M1	6,43	
	M1	5,90	
	Rata-Rata	5,8360	
M2	M2	5,13	0,54257
	M2	4,83	
	M2	4,07	
	M2	5,13	
	M2	5,52	
	Rata-Rata	4,9360	
M3	M3	7,47	0,31547
	M3	7,43	
	M3	8,03	
	M3	7,65	
	M3	7,18	
	Rata-Rata	7,5520	

Berdasarkan table 4.2 di ketahui bahwa kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat sama sekali yang di tunjukkan dengan nilai 0, yang berarti larutan pembanding tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri, sebagaimana mestinya. Sebaliknya, kontrol positif menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar  $8,9840 \pm 0,47889$  mm, hal ini menunjukkan bahwa kelompok positif yang merupakan indikator keberhasilan pengujian karena kontrol positif berfungsi sebagai pembanding



yang diketahui efektif dalam menghambat bakteri dimana mekanisme dari kelompok positif ini yaitu minosep merah mengandung *chlorhexidine* yang merupakan antiseptik spektrum luas yang sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan dan pembentukan biofilm *S. mutans* serta sangat stabil pada rongga mulut (Van Strydonck et al., 2019).

Pada kelompok uji M1 (Pepsodent Herbal *Mouthwash*) menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar  $5,8360 \pm 0,47773$  mm yang menunjukkan kekuatan yang lemah dalam menghambat bakteri *S. mutans* hal ini di karenakan M1(Pepsodent Herbal *Moutwash*) mengandung ekstrak daun sirih, mint, dan lemon yang memiliki efek antibakteri, namun kekuatannya tidak sebanding dengan antiseptik kuat seperti *chlorhexidine*. Meskipun daun sirih mengandung senyawa aktif seperti eugenol dan tanin yang bersifat antibakteri, efeknya cenderung ringan dan bekerja lebih lambat (Sari et al., 2019)

Pada kelompok M2 (Enkasari Herbal *Mouthwash*) sedikit lebih rendah yaitu  $4,9360 \pm 0,54257$  mm, yang menunjukkan kekuatan yang lemah dalam menghambat bakteri *S. mutans*. Hal ini di karena Enkasari mengandung bahan herbal seperti daun saga, akar manis, dan kunyit yang bersifat antiinflamasi dan antibakteri ringan. Meskipun efektif terhadap infeksi ringan dan radang, studi menunjukkan bahwa senyawa aktif ini kurang kuat dalam menghambat *S. mutans*, terutama dalam konsentrasi rendah yang umum pada produk komersial (Fitriani et al., 2022).

Kemudian pada kelompok M3 (Prolizama Herbal *Mouthwash*) dengan rata-rata  $7,5520 \pm 0,31547$  mm, yang menunjukkan kekuatan yang sedang dalam menghambat bakteri *S. mutans* tetapi masih dibawah dari kelompok positif Hal ini karena M3 (Prolizama Herbal *Mouthwash*) mengandung propolis yang diketahui efektif terhadap *S. mutans* dimana kandungan flavonoid seperti pinocembrin dan galangin. Namun, efektivitasnya sangat tergantung pada konsentrasi dan kualitas propolis. Formulasi komersial umumnya tidak menggunakan propolis dalam kadar tinggi karena rasa yang tajam dan harga bahan baku yang mahal, sehingga efektivitas antibakterinya tidak maksimal (Al-Maweri et al., 2020).

Berdasarkan hasil uji *post hoc* Tukey HSD dan rata-rata diameter zona hambat, dapat disimpulkan bahwa *mouthwash* dengan kandungan *chlorhexidine* (Minosep



Merah) menunjukkan efektivitas paling tinggi dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. Perbedaan efektivitas ini signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif maupun *mouthwash* berbahan herbal, yaitu Pepsodent Herbal (m1), Enkasari (m2), dan Prolizama (m3). Meskipun ketiga produk herbal tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri, efektivitasnya masih jauh lebih rendah dibanding *chlorhexidine*.

Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Van Strydonck et al. (2019), yang menyatakan bahwa *chlorhexidine* merupakan zat antimikroba paling efektif dan tahan lama karena sifat substantivitasnya yang tinggi. Penelitian oleh Putri et al. (2021) juga mendukung temuan ini, di mana perbandingan *chlorhexidine* 0,2% dengan *mouthwash* berbahan daun sirih dan teh hijau menunjukkan bahwa *chlorhexidine* menghasilkan zona hambat yang secara signifikan lebih besar terhadap *S. mutans* dibanding produk herbal, meskipun herbal masih menunjukkan efek antibakteri ringan hingga sedang. Sementara itu, *mouthwash* herbal umumnya hanya bersifat bakteriostatik dan sangat tergantung pada konsentrasi serta stabilitas senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan eugenol, sebagaimana dijelaskan oleh Al-Maweri et al. (2020) dan Fitriani et al. (2022).

Oleh karena itu, *chlorhexidine* tetap menjadi standar emas dalam pengendalian bakteri patogen mulut, khususnya direkomendasikan untuk kasus mulut berat seperti gingivitis parah, periodontitis, atau pasca-operasi gigi, di mana eliminasi bakteri yang kuat dan cepat sangat dibutuhkan (Van Strydonck et al., 2019; Putri et al., 2021). Sebaliknya, *mouthwash* herbal dapat berperan sebagai alternatif pendukung yang lebih alami untuk kondisi kasus ringan atau sebagai bagian dari regimen kebersihan mulut sehari-hari bagi individu tanpa masalah mulut yang serius, meskipun kurang efektif dalam aplikasi klinis utama yang memerlukan aksi antimikroba intensif (Al-Maweri et al., 2020; Fitriani et al., 2022).

Kemudian untuk menganalisis lebih lanjut efektivitas *mouthwash* herbal ini secara mandiri, data dari m1, m2, dan m3 dapat diuji menggunakan ANOVA dan *post hoc Tukey* di SPSS, meskipun tanpa adanya kelompok kontrol pembanding negatif atau positif. Pendekatan ini akan membantu mengidentifikasi apakah ada perbedaan signifikan dalam efektivitas antibakteri di antara ketiga *mouthwash* herbal tersebut, dan

seberapa jauh efektivitas masing-masing produk herbal satu sama lain. Pada hasil *post hoc Tukey* di SPSS di dapatkan hasil seperti pada table 4.. di bawah ini

Tabel 4. 3 *Post Hoc Tukey Mouthwash Herbal S.Mutans*

Sampel	Sampel	Mean Difference	Sig.
M1	M2	0.81200*	0.55
	M3	-1.80400*	0.000
M2	M1	-0.81200*	0.055
	M3	-2.61600	0.000
M3	M1	1.80400*	0.000
	M2	2.61600*	0.000

Tabel 4.3 yang menggambarkan perbandingan berpasangan antara Pepsodent Herbal (M1), Enkasari (M2), dan Prolizama (M3). Pada kelompok M1 di hasilkan perbandingan antara M1 (Pepsodent Herbal) dan M2 (Enkasari) menunjukkan hasil bahwa pada uji *post hoc Tukey* tidak terdapat perbedaan signifikan secara statistik antara efektivitas antibakteri *mouthwash* Pepsodent Herbal (M1) dan Enkasari (M2). Nilai *p-value* yang diperoleh adalah 0.055, yang sedikit di atas ambang batas signifikansi 0,05. Meskipun terdapat perbedaan rata-rata zona hambat sebesar 0.81200 mm, secara statistik perbedaan ini tidak cukup kuat untuk dianggap bermakna pada tingkat kepercayaan 95%. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua produk ini, yang sama-sama berbasis herbal, memiliki potensi penghambatan terhadap *S. mutans* yang relatif sebanding, kemungkinan besar karena kesamaan dalam jenis atau konsentrasi senyawa aktif antimikroba herbal yang terkandung di dalamnya, seperti flavonoid atau tanin yang umum ditemukan pada ekstrak daun sirih (Fitriani et al., 2022; Al-Maweri et al., 2020).

Pada kelompok M2 di hasilkan perbandingan antara M1 (Pepsodent Herbal) dan M3 (Prolizama) hasilnya menunjukkan dengan perbandingan yang kontras dengan sebelumnya, dimana terdapat perbedaan yang sangat signifikan secara statistik antara

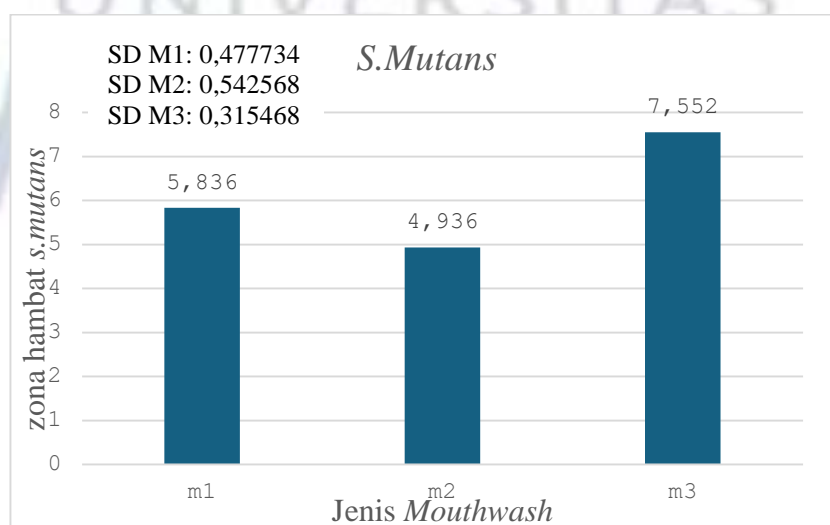
efektivitas antibakteri Pepsodent Herbal (M1) dan Prolizama (M3). Nilai *p-value* yang diperoleh adalah 0.000 ( $p < 0.05$ ), menunjukkan perbedaan yang sangat jelas. Dengan *Mean Difference* sebesar  $-1.80400$  mm (yang berarti zona hambat M1 lebih kecil dari M3), dapat disimpulkan bahwa Prolizama (M3) secara signifikan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* dibandingkan Pepsodent Herbal (M1). Keunggulan Prolizama ini dapat dijelaskan secara teoritis oleh kandungan propolis yang merupakan bahan aktif utamanya. Propolis dikenal memiliki spektrum luas senyawa bioaktif seperti flavonoid dan asam fenolik yang bekerja dengan merusak membran sel bakteri, menghambat sintesis protein, dan mengganggu metabolisme seluler bakteri, memberikan efek antimikroba yang lebih poten dibandingkan ekstrak herbal tunggal lainnya (Koru & Göde, 2020; Al-Sayed et al., 2023).

Pada kelompok M3 di hasilkan perbandingan antara M2 (Enkasari) dan M3 (Prolizama) di mana perbandingan M1 dan M3, uji *post hoc* menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan secara statistik antara efektivitas antibakteri Enkasari (M2) dan Prolizama (M3). Dengan nilai *p-value* sebesar 0.000 ( $p < 0.05$ ) dan *Mean Difference* sebesar  $-2.61600$  mm, disimpulkan bahwa Prolizama (M3) secara signifikan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* dibandingkan Enkasari (M2). Perbedaan rata-rata zona hambat yang terbesar di antara semua perbandingan herbal (2.61600 mm) semakin memperkuat argumen tentang superioritas Prolizama dalam konteks ini. Meskipun Enkasari mengandung ekstrak daun sirih yang memiliki aktivitas antibakteri, kompleksitas fitokimia dan mekanisme kerja yang lebih beragam dari propolis dalam Prolizama memberikan keuntungan yang jelas dalam menghambat *S. mutans*. Kemudian hal ini juga diperkuat oleh hasil rata-rata zona hambat pada masing-masing *mouthwash* herbal di hasilkan seperti table 4. di bawah ini

Tabel 4. 4 Hasil Diameter Zona Hambat *Mouthwash* Herbal *S. Mutans*

Kelompok	Replikasi	Diameter zona hambat	( $\pm$ SD)
M1	M1	5,55	0,47773
	M1	5,20	

Kelompok	Replikasi	Diameter	( $\pm$ SD)
<b>zona hambat</b>			
	M1	6,10	
	M1	6,43	
	M1	5,90	
	Rata-Rata	5,8360	
M2	M2	5,13	0,54257
	M2	4,83	
	M2	4,07	
	M2	5,13	
	M2	5,52	
	Rata-Rata	4,9360	
M3	M3	7,47	0,31547
	M3	7,43	
	M3	8,03	
	M3	7,65	
	M3	7,18	
	Rata-Rata	7,5520	

Gambar 4.1 Histogram Mouthwash Herbal *S. Mutans*

Tabel 4.4 menyajikan data rata-rata diameter zona hambat dan *standar deviasi* (SD) yang dihasilkan oleh setiap kelompok *mouthwash* herbal (M1: Pepsodent Herbal, M2: Enkasari, M3: Prolizama) terhadap pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. Secara deskriptif, Prolizama (M3) menunjukkan rata-rata zona hambat tertinggi sebesar  $7.5520 \pm 0.31547$  mm, diikuti oleh Pepsodent Herbal (M1) dengan  $5.8360 \pm 0.47773$  mm, dan Enkasari (M2) dengan  $4.9360 \pm 0.54257$  mm. Variasi rata-rata ini memberikan indikasi awal mengenai potensi antibakteri masing-masing produk, yang secara teoritis dapat dijelaskan melalui kandungan bahan aktif di dalamnya.

Pada kelompok M1 (Pepsodent *Mouthwash* Herbal) menghasilkan rata-rata zona hambat  $5.8360 \pm 0.47773$  mm, menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans*. Efektivitas ini secara teoritis diatribusikan pada kombinasi ekstrak herbalnya, yaitu daun sirih (*Piper betle L.*), lidah buaya (*Aloe vera*), dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Daun sirih kaya akan flavonoid, tanin, dan eugenol, yang bekerja dengan merusak integritas dinding dan membran sel bakteri, menghambat sintesis protein, dan mendenaturasi enzim esensial (Fitriani et al., 2022). Lidah buaya, dengan kandungan antosianin dan saponin, memiliki efek antiseptik dan anti-inflamasi ringan. Sementara jeruk nipis, mengandung asam sitrat dan flavonoid, menciptakan lingkungan asam yang kurang optimal bagi pertumbuhan bakteri dan memiliki sifat antibakteri (Al-Maweri et al., 2020). Efek sinergis dari komponen-komponen herbal ini berkontribusi pada zona hambat yang diamati.

Pada kelompok M2 (Enkasari *Mouthwash* Herbal) menunjukkan rata-rata zona hambat  $4.9360 \pm 0.54257$  mm. Kandungan utamanya meliputi ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*), daun saga (*Abrus precatorius*), dan ekstrak akar kayu manis (*Glycyrrhiza glabra*), ditambah menthol, metil paraben, *oleum menthae*, dan etanol. Ekstrak daun sirih memberikan efek antibakteri melalui flavonoid dan tanin (Fitriani



etal., 2022). Daun saga mengandung abrin dan triterpenoid yang juga memiliki sifat antimikroba. Ekstrak akar kayu manis, dengan glisirizin, memiliki sifat anti-inflamasi dan potensi antibakteri terhadap beberapa bakteri oral (Yao *et al.*, 2018). Meskipun demikian, nilai rata-rata zona hambat M2 adalah yang terendah di antara ketiga herbal, mengindikasikan bahwa kombinasi bahan dalam formulasi ini mungkin kurang poten atau memiliki bioavailabilitas yang lebih rendah terhadap *S. mutans* dibandingkan dengan M1 dan M3 dalam konsentrasi yang digunakan.

Pada kelompok M3 (Prolizama *Mouthwash* Herbal) menghasilkan rata-rata diameter zona hambat tertinggi, yaitu  $7.5520 \pm 0.31547$  mm. propolis, yang diperkaya dengan ekstrak daun sirih dan mint. Propolis adalah senyawa kompleks yang kaya akan flavonoid (misalnya galangin, pinocembrin), asam fenolik (seperti caffeic acid phenethyl ester/CAPE), dan terpenoid. Senyawa-senyawa ini bekerja melalui berbagai mekanisme, termasuk merusak membran sitoplasma bakteri, menghambat sintesis protein dan asam nukleat, serta menghambat aktivitas enzim esensial, sehingga memberikan efek antimikroba yang kuat (Koru & Göde, 2020; Al-Sayed *et al.*, 2023).

Mekanisme kerja dari kombinasi bahan aktif dalam Prolizama secara khusus sangat efektif terhadap *Streptococcus mutans*, yaitu bakteri Gram-positif utama penyebab karies gigi. Flavonoid dan senyawa fenolik dalam propolis memiliki afinitas tinggi terhadap dinding sel peptidoglikan yang dimiliki *S. mutans*, sehingga memudahkan penetrasi senyawa aktif ke dalam sitoplasma bakteri. Setelah masuk, senyawa seperti CAPE akan menghambat enzim DNA girase dan RNA polimerase, sehingga mengganggu proses replikasi dan transkripsi DNA bakteri. Di sisi lain, pinocembrin dan galangin bekerja dengan mengganggu fungsi ribosom, sehingga sintesis protein bakteri terhenti. Eugenol dan hidroksichavicol dalam daun sirih turut memperparah gangguan membran sel dengan menyebabkan kebocoran elektrolit dan denaturasi protein enzimatis (Koru & Göde, 2020)

Selain itu, kandungan menthol dari daun mint menimbulkan efek tambahan berupa disintegrasi struktur membran lipid serta menurunkan kemampuan *S. mutans* dalam membentuk biofilm di permukaan gigi. Mengingat biofilm merupakan



mekanisme pertahanan utama *S. mutans* terhadap pembersihan mekanik dan antibakteri, maka penghambatan biofilm ini merupakan keunggulan tersendiri dari Prolizama. Dengan kata lain, sinergi antara efek membranolisis, penghambatan sintesis makromolekul, serta gangguan pembentukan biofilm menjadikan Prolizama sangat efektif dalam menurunkan populasi dan aktivitas *S. mutans* di rongga mulut (Al-Sayed et al., 2023).

Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa Prolizama (M3) merupakan *mouthwash* herbal yang menunjukkan efektivitas antibakteri terbaik di antara ketiga produk herbal yang diuji dalam menghambat *Streptococcus Mutans*, terutama dibuktikan dengan perbedaannya yang signifikan dibandingkan Pepsodent Herbal (M1) dan rata-rata zona hambat tertinggi. Keunggulan Prolizama ini didukung oleh profil fitokimia propolis yang kaya akan senyawa antimikroba poten.

Namun demikian, penting untuk menggarisbawahi bahwa efektivitas *mouthwash* herbal secara keseluruhan, termasuk Prolizama, masih jauh lebih rendah dibandingkan dengan *mouthwash* yang mengandung *chlorhexidine* (Minosep Merah). *Chlorhexidine* tetap menjadi standar emas dalam pengendalian bakteri patogen mulut karena sifat substantivitasnya yang tinggi, spektrum luas, dan kemampuan bakterisida yang kuat terhadap berbagai mikroorganisme oral (Jones, 2016; Van Strydonck et al., 2019). Oleh karena itu, *mouthwash* herbal, meskipun menawarkan opsi yang lebih alami dan efek samping minimal, lebih cocok sebagai alternatif pendukung untuk kondisi mulut ringan atau sebagai bagian dari regimen kebersihan mulut sehari-hari, dan tidak menggantikan peran *chlorhexidine* dalam penanganan kasus klinis yang memerlukan kontrol infeksi yang intensif (Al-Maweri et al., 2020; Fitriani et al., 2022).

#### **4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Pada *Escherichia Coli***

Pada hasil uji aktivitas bakteri *Escherichia Coli* berdasarkan hasil uji *Post Hoc Tukey* terhadap diameter zona hambat *Escherichia Coli* pada table 4.3 di bawah ini.

Tabel 4. 5 Tukey HSD *Escherichia Coli*

Sampel	Sampel	Mean Difference	Sig.
Negatif	Positif	-9.01600*	.000
	M1	-5.626600*	.000
	M2	-5.58800*	.000
	M3	-6.74000*	.000

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Tukey HSD* pada table 4.5 untuk diameter zona hambat terhadap *Escherichia Coli*, data menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Kelompok positif menunjukkan hasil yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Hal ini terlihat dari perbedaan *Mean Difference* yang sangat signifikan terhadap kelompok lainnya. Dibandingkan kelompok negatif, nilai *Mean Difference* = 9,01600 , dan *p-value* = 0.000, menunjukkan perbedaan sangat signifikan. Dibandingkan dengan M1, M2, dan M3, mean difference-nya masing-masing adalah 3,39000 (M1), 3,42800 (M2), dan 2,27600 (M3) semuanya dengan nilai *p-value* = 0.000. Hal ini menandakan bahwa kelompok positif secara statistik jauh lebih efektif dibanding semua mouthwash herbal yang diuji.

Pada lampiran gambar D.10 dapat di ketahui kelompok M1 memiliki efektivitas lebih tinggi dibanding kelompok negatif, dengan nilai *Mean Difference* = 5,62600 dan *p-value* = 0,000 , yang berarti ada perbedaan signifikan. Namun, saat dibandingkan dengan M2 (*Mean Difference* = -1.11400 dan *p-value* = 0.012) dan M3 (*Mean Difference* = -1,15200 dan *p-value* = 0,009), perbedaan ini memang signifikan, namun cukup kecil. Sedangkan dengan kelompok positif, perbedaan juga signifikan yaitu (*Mean Difference* = -3,39000 dan *p-value* = 0.000), menunjukkan bahwa M1 kurang efektif dibanding kelompok positif.

Pada lampiran gambar D.10 dapat di ketahui kelompok M2 juga menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan kelompok negatif (*Mean Difference* = 5.58800 dan *p-value* = 0.000). Namun saat dibandingkan dengan M1 (*Mean Difference* = 1,11400 dan *p-value* = 0,012) dan m3 (*Mean Difference* = -0,03800 dan *p-value* = 1,000),

terlihat bahwa M2 tidak menunjukkan perbedaan signifikan terhadap M3, tetapi berbeda signifikan terhadap m1, meskipun nilai selisihnya kecil. Sedangkan pada kelompok positif, M2 jauh lebih rendah efektivitasnya (*Mean Difference* = -3.42800 dan *p-value* = 0.000), menunjukkan bahwa m2 tidak sebanding dengan kelompok positif.

Pada lampiran gambar D.10 dapat di ketahui kelompok M3 menunjukkan efektivitas lebih baik juga dari kelompok negatif (*Mean Difference* = 6,74000 dan *p-value* = 0,000), tetapi tidak berbeda signifikan dengan M2 (*Mean Difference* = 0,03800 dan *p-value* = 1,000), serta hanya berbeda sedikit dari M1 (*Mean Difference* = 1,15200 dan *p-value* = 0,009). Dibanding dengan kelompok positif, M3 masih kalah efektif, dengan *Mean Difference* = -2,27600 dan *p-value* = 0,000. Kemudian hasil rata-rata diameter zona hambat yang di peroleh oleh setiap produk *Mouthwash* dapat dilihat Tabel 4.4 di bawah ini.

Tabel 4. 6 Hasil diameter zona hambat Bakteri *E.Coli*

Kelompok	Replikasi	Diameter zona hambat	( $\pm$ SD)
Kontrol negatif	Kontrol (-)	-	-
	Kontrol (-)	-	
	Kontrol (-)	-	
	Kontrol (-)	-	
	Kontrol (-)	-	
	Rata-Rata	-	
Kontrol positif	Kontrol (+)	8,59	0,50959
	Kontrol (+)	8,81	
	Kontrol (+)	8,71	
	Kontrol (+)	9,86	
	Kontrol (+)	9,11	
	Rata-Rata	9,0160	
M1	M1	4,97	0,50138
	M1	5,64	

Kelompok	Replikasi	Diameter zona hambat	( $\pm$ SD)
	M1	5,30	
	M1	6,10	
	M1	6,12	
	Rata-Rata	5,6260	
M2	M2	4,84	0,55034
	M2	6,38	
	M2	5,66	
	M2	5,61	
	M2	5,45	
	Rata-Rata	5,5880	
M3	M3	6,76	0,57719
	M3	6,91	
	M3	7,10	
	M3	7,18	
	M3	5,75	
	Rata-Rata	6,7400	

Berdasarkan table 4.6 hasil uji *post hoc* Tukey HSD terhadap diameter zona hambat *Escherichia Coli*, dapat disimpulkan bahwa Kelompok positif (Minosep Merah) yang mengandung *chlorhexidine*, memiliki efektivitas paling tinggi dibandingkan kelompok *mouthwash* herbal lainnya, dengan nilai *mean* tertinggi sebesar 9.016 mm. Sementara itu, kelompok *mouthwash* herbal seperti Pepsodent Herbal (M1), Enkasari (M2), dan Prolizama (M3) menunjukkan daya hambat yang lebih rendah dan secara statistik tidak signifikan dibandingkan satu sama lain. Prolizama (M3) memiliki nilai hambat terbesar di antara produk herbal, namun tetap jauh di bawah kelompok positif. Dimana hasil ini sejalan dengan berbagai penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa *chlorhexidine* merupakan standar emas antiseptik oral karena memiliki spektrum luas, efek substantif, dan mampu merusak membran sel

bakteri gram negatif seperti *E. coli* (Jones, 2016). Sementara itu, produk berbahan herbal umumnya mengandung senyawa aktif seperti flavonoid dan tanin yang meskipun bersifat antibakteri, daya penetrasinya terhadap dinding sel bakteri gram negatif terbatas (Kurniasari et al., 2021). Penelitian oleh Laksana et al. (2019) juga menunjukkan bahwa *chlorhexidine* menghasilkan zona hambat *E. coli* lebih besar dibandingkan *mouthwash* berbasis propolis atau daun sirih. Oleh karena itu, meskipun *mouthwash* herbal menawarkan keamanan dan efek samping yang minimal, efektivitasnya terhadap *E. coli* masih kalah bila dibandingkan dengan sediaan berbasis *chlorhexidine*.

Oleh karena itu, *chlorhexidine* tetap menjadi standar emas dalam pengendalian bakteri patogen mulut, khususnya direkomendasikan untuk kasus mulut berat seperti gingivitis parah, periodontitis, atau pasca-operasi gigi, di mana eliminasi bakteri yang kuat dan cepat sangat dibutuhkan (Jones, 2016; Van Strydonck et al., 2019). Sebaliknya, *mouthwash* herbal dapat berperan sebagai alternatif pendukung yang lebih alami untuk kondisi kasus ringan atau sebagai bagian dari regimen kebersihan mulut sehari-hari bagi individu tanpa masalah mulut yang serius, meskipun kurang efektif dalam aplikasi klinis utama yang memerlukan aksi antimikroba intensif (Al-Maweri et al., 2020; Fitriani et al., 2022).

Untuk menganalisis lebih lanjut efektivitas dari *mouthwash* herbal itu sendiri, data dari Pepsodent Herbal (M1), Enkasari (M2), dan Prolizama (M3) diolah menggunakan ANOVA dan uji *post hoc Tukey* di SPSS, meskipun tanpa adanya kelompok kontrol pembanding negatif atau positif dalam analisis spesifik ini. Pendekatan ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan efektivitas antibakteri di antara ketiga *mouthwash* herbal tersebut, serta untuk mengidentifikasi *mouthwash* herbal mana yang menunjukkan potensi terbaik dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* di antara kelompoknya sendiri. Hasil analisis ini menjadi krusial untuk mengevaluasi secara komparatif kemampuan masing-masing formulasi herbal dalam kondisi terkontrol. Pada hasil *post hoc Tukey* di SPSS di dapatkan hasil seperti pada table 4.. di bawah ini.

Tabel 4. 7 *Post Hoc Tukey Mouthwash Herbal E.Coli*

Sampel	Sampel	Mean Difference	Sig.
M1	M2	0.3800*	0.993
	M3	-1.11400*	0.018
M2	M1	-0.3800*	0.993
	M3	-1.15200	0.15
M3	M1	1.11400*	0.18
	M2	1.15200	0.15

Pada Tabel 4.7 yang menggambarkan perbandingan berpasangan antara Pepsodent Herbal (M1), Enkasari (M2), dan Prolizama (M3). Pada kelompok M1 di ketahui bahwa perbandingan antara M1 (Pepsodent Herbal) dan M2 (Enkasari) dimana hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan secara statistik antara efektivitas antibakteri *mouthwash* Pepsodent Herbal (M1) dan Enkasari (M2). Dengan nilai *p-value* yang sangat tinggi (0.993), jauh di atas ambang batas signifikansi 0.05, menunjukkan bahwa perbedaan rata-rata zona hambat yang diamati (0.3800 mm) adalah tidak signifikan. Ini mengindikasikan bahwa kedua produk herbal ini memiliki potensi penghambatan yang sebanding terhadap *E. coli*. Kesamaan ini mungkin disebabkan oleh kesamaan mekanisme kerja atau konsentrasi relatif senyawa aktif yang serupa, seperti flavonoid dan tanin, yang sering ditemukan pada ekstrak daun sirih yang menjadi bahan dasar kedua *mouthwash* ini (Al-Maweri et al., 2020; Fitriani et al., 2022).

Pada kelompok M2 di ketahui bahwa perbandingan antara M1 (Pepsodent Herbal) dan M3 (Prolizama) dimana hasil uji *post hoc* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik antara efektivitas antibakteri Pepsodent Herbal (M1) dan Prolizama (M3). Nilai *p-value* yang diperoleh adalah 0.018, yang lebih kecil dari 0.05. Dengan *Mean Difference* sebesar -1.11400 mm, ini berarti zona hambat M1 secara signifikan lebih kecil dibandingkan M3. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa Prolizama (M3) secara signifikan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan



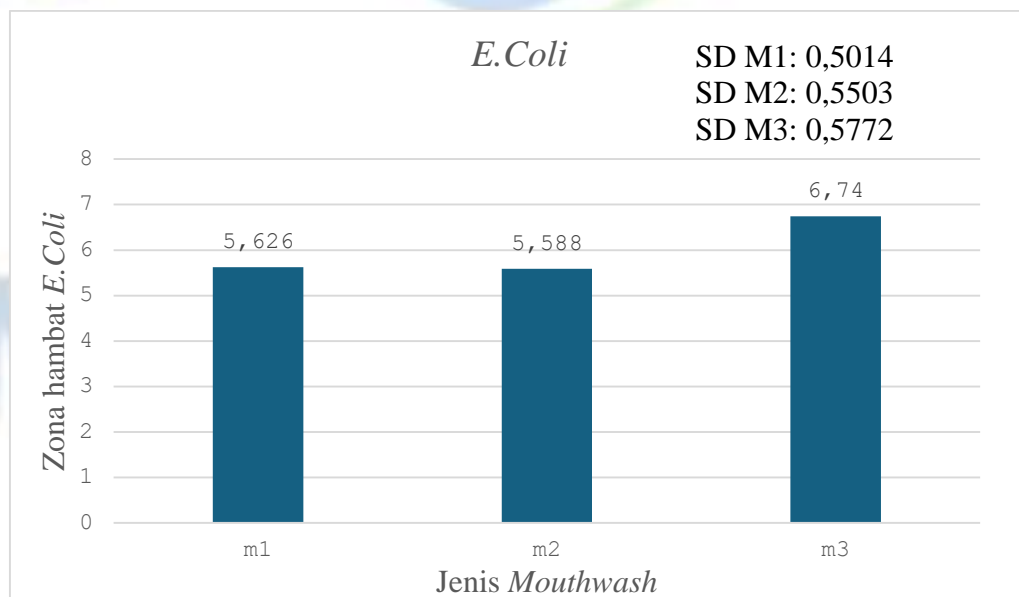
*E. coli* dibandingkan Pepsodent Herbal (M1). Keunggulan Prolizama ini kemungkinan besar berkaitan dengan kandungan propolis yang menjadi bahan aktif utamanya. Propolis memiliki spektrum senyawa bioaktif yang kompleks, termasuk flavonoid dan asam fenolik, yang mampu merusak membran sel bakteri dan menghambat jalur metabolisme esensial, sehingga memberikan efek antimikroba yang lebih kuat terhadap bakteri gram negatif seperti *E. coli* (Koru & Göde, 2020; Al-Sayed et al., 2023).

Pada kelompok M3 diketahui bahwa perbandingan antara M2 (Enkasari) dan M3 (Prolizama) di mana hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan secara statistik antara efektivitas antibakteri Enkasari (M2) dan Prolizama (M3). Nilai *p-value* yang diperoleh adalah 0.150, yang lebih besar dari 0.05. Meskipun Prolizama (M3) secara numerik memiliki rata-rata zona hambat yang lebih besar dibandingkan Enkasari (M2) (*MeanDifference*=1.15200 mm), perbedaan ini tidak cukup besar untuk dianggap signifikan secara statistik. Ini menunjukkan bahwa, dalam kondisi pengujian ini, efektivitas kedua produk tersebut dalam menghambat *E. coli* dapat dianggap serupa. Meskipun Prolizama cenderung menunjukkan efektivitas yang lebih baik, perbedaan tersebut belum mencapai ambang signifikansi statistik yang kuat. Hal ini mungkin mengindikasikan bahwa sementara propolis lebih unggul dari bahan-bahan di M1, perbandingannya dengan M2 yang juga mengandung berbagai ekstrak herbal dan komponen lain mungkin menunjukkan variabilitas yang tidak signifikan pada populasi *E. coli* ini. Kemudian hal ini juga diperkuat oleh hasil rata-rata zona hambat pada masing-masing *mouthwash* herbal di hasilkan seperti table 4. di bawah ini.

Tabel 4. 8 Hasil Diameter Zona Hambat *Mouthwash* Herbal *E.Coli*

Kelompok	Replikasi	Diameter zona hambat	(±SD)
M1	M1	5,55	0,50138
	M1	5,20	
	M1	6,10	
	M1	6,43	

	M1	5,90	
	Rata-Rata	5,62260	
M2	M2	5,13	0,55034
	M2	4,83	
	M2	4,07	
	M2	5,13	
	M2	5,52	
	Rata-Rata	5,5880	
M3	M3	7,47	0,57719
	M3	7,43	
	M3	8,03	
	M3	7,65	
	M3	7,18	
	Rata-Rata	6,7400	



Gambar 4.2 Histogram Mouthwash Herbal *E. Coli*

Pada tabel 4.8 menyajikan data rata-rata diameter zona hambat ( $\pm$ SD) yang dihasilkan oleh setiap kelompok *mouthwash* herbal (M1: Pepsodent Herbal, M2:

Enkasari, M3: Prolizama) terhadap pertumbuhan *Escherichia Coli*. Secara deskriptif, Prolizama (M3) menunjukkan rata-rata zona hambat tertinggi sebesar  $6.7400 \pm 0.57719$  mm, diikuti oleh Pepsodent Herbal (M1) dengan  $5.62260 \pm 0.50138$  mm, dan Enkasari (M2) dengan  $5.5880 \pm 0.55034$  mm. Variasi rata-rata ini memberikan indikasi awal mengenai potensi antibakteri masing-masing produk, yang secara teoritis dapat dijelaskan melalui mekanisme kerja senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.

Pada kelompok M1 (Pepsodent *Mouthwash* Herbal) menghasilkan rata-rata zona hambat  $5.62260 \pm 0.50138$  mm, mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Efektivitas ini secara teoritis diatribusikan pada kombinasi ekstrak herbalnya, yaitu daun sirih (*Piper betle L.*), lidah buaya (*Aloe vera*), dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Daun sirih kaya akan flavonoid, tanin, dan eugenol, yang bekerja dengan merusak integritas dinding dan membran sel bakteri, menghambat sintesis protein, dan mendenaturasi enzim esensial (Fitriani et al., 2022). Lidah buaya, dengan kandungan antosianin dan saponin, memiliki efek antiseptik dan anti-inflamasi ringan. Sementara jeruk nipis, mengandung asam sitrat dan flavonoid, dapat menciptakan lingkungan asam yang kurang optimal bagi pertumbuhan bakteri dan memiliki sifat antibakteri (Al-Maweri et al., 2020). Meskipun demikian, *E. coli* adalah bakteri Gram-negatif dengan dinding sel luar yang kompleks, yang dapat membatasi penetrasi beberapa senyawa herbal (Kurniasari et al., 2021).

Pada kelompok M2 (Enkasari *Mouthwash* Herbal) menunjukkan rata-rata zona hambat  $5.5880 \pm 0.55034$  mm. Kandungan utamanya meliputi ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*), daun saga (*Abrus precatorius*), dan ekstrak akar kayu manis (*Glycyrrhiza glabra*), ditambah menthol, metil paraben, oleum menthae, dan etanol. Ekstrak daun sirih memberikan efek antibakteri melalui flavonoid dan tanin (Fitriani et al., 2022). Daun saga mengandung abrin dan triterpenoid yang juga memiliki sifat antimikroba. Ekstrak akar kayu manis, dengan glisirizin, memiliki sifat anti-inflamasi dan potensi antibakteri (Yao et al., 2018). Meskipun secara numerik rata-rata zona hambat M2 sedikit lebih rendah dari M1, keduanya berada pada rentang yang serupa. Efektivitas yang terbatas terhadap *E. coli* pada M2 juga terkait dengan tantangan penetrasi dinding sel Gram-negatif oleh senyawa herbal.

Pada kelompok M3 (Prolizama *Mouthwash* Herbal) menghasilkan rata-rata diameter zona hambat tertinggi, yaitu  $6.7400 \pm 0.57719$  mm. Keunggulan ini secara teoritis dapat diatribusikan pada kandungan utamanya, yaitu propolis, yang diperkaya dengan ekstrak daun sirih dan mint. Propolis adalah senyawa kompleks yang kaya akan flavonoid (misalnya galangin, pinocembrin), asam fenolik (seperti *caffeic acid phenethyl ester*/CAPE), dan terpenoid. Senyawa-senyawa ini memiliki beragam mekanisme antimikroba yang poten terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif, termasuk pada *E.Coli* dimana mekanismenya yaitu mampu menembus dan merusak struktur membran luar *E. coli* yang merupakan bakteri Gram-negatif sehingga menyebabkan kebocoran ion dan komponen sitoplasma penting. Selain itu, propolis juga menghambat aktivitas enzim DNA girase dan RNA polimerase, yang berperan penting dalam proses replikasi dan transkripsi bakteri, sehingga pertumbuhan dan perbanyakan *E. coli* dapat dicegah secara efektif. Pada CAPE dan flavonoid dalam propolis turut mengganggu kerja ribosom, sehingga sintesis protein bakteri terhenti (Koru & Göde, 2020; Al-Sayed et al., 2023). Hal ini menyebabkan Sinergi antara propolis dengan ekstrak daun sirih dan mint menjadi faktor utama yang membuat Prolizama menunjukkan efektivitas terbaik di antara *mouthwash* herbal lainnya terhadap *E. coli*.

Berdasarkan semua hasil di atas dapat, dapat disimpulkan bahwa Prolizama (M3) merupakan *mouthwash* herbal yang menunjukkan efektivitas antibakteri terbaik di antara ketiga produk herbal yang diuji dalam menghambat *Escherichia Coli*, terutama dibuktikan dengan perbedaannya yang signifikan dibandingkan Pepsodent Herbal (M1) dan rata-rata zona hambat tertinggi. Keunggulan Prolizama ini didukung oleh profil fitokimia propolis yang kaya akan senyawa antimikroba poten, yang mungkin lebih mampu mengatasi mekanisme pertahanan bakteri Gram-negatif seperti *E. coli* dibandingkan bahan herbal lain.

Namun demikian, penting untuk menggarisbawahi bahwa efektivitas *mouthwash* herbal secara keseluruhan, termasuk Prolizama, masih jauh lebih rendah dibandingkan dengan *mouthwash* yang mengandung *chlorhexidine* (Minosep Merah). *Chlorhexidine* tetap menjadi standar emas dalam pengendalian bakteri patogen mulut

karena sifat substantivitasnya yang tinggi, spektrum luas, dan kemampuan bakterisida yang kuat terhadap berbagai mikroorganisme, termasuk bakteri Gram-negatif seperti *E. coli* (Jones, 2016; Van Strydonck et al., 2019; Laksana et al., 2019). Daya penetrasi senyawa aktif herbal seperti flavonoid dan tanin terhadap dinding sel bakteri Gram-negatif yang kompleks seringkali terbatas (Kurniasari et al., 2021). Oleh karena itu, *mouthwash* herbal, meskipun menawarkan opsi yang lebih alami dan efek samping minimal, lebih cocok sebagai alternatif pendukung untuk kondisi mulut ringan atau sebagai bagian dari regimen kebersihan mulut sehari-hari, dan tidak menggantikan peran *chlorhexidine* dalam penanganan kasus klinis yang memerlukan kontrol infeksi yang intensif.



## **BAB V**

### **Kesimpulan dan Saran**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan hasil uji antibakteri ini terhadap *Streptococcus Mutans*, Prolizama (M3) menunjukkan efektivitas antibakteri tertinggi di antara *mouthwash* herbal lainnya terhadap *Streptococcus Mutans*. Secara statistik, Prolizama (M3) secara signifikan lebih efektif dibandingkan Pepsodent Herbal (M1), meskipun tidak ada perbedaan signifikan dengan Enkasari (M2) maupun antara Pepsodent Herbal (M1) dan Enkasari (M2). Keunggulan Prolizama ini didukung oleh kandungan propolis yang kaya akan senyawa antimikroba poten.
2. Berdasarkan hasil uji antibakteri ini terhadap *Escherichia Coli*, Prolizama (M3) juga menunjukkan efektivitas antibakteri tertinggi di antara *mouthwash* herbal yang diuji terhadap *Escherichia Coli*. Secara statistik, Prolizama (M3) secara signifikan lebih efektif dibandingkan Pepsodent Herbal (M1), namun tidak terdapat perbedaan signifikan dengan Enkasari (M2). Efektivitas Prolizama yang lebih baik ini juga dapat didukung pada profil fitokimia propolis yang kompleks dan mampu melawan bakteri Gram-negatif.

#### **5.2 Saran**

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh saran yaitu untuk implikasi klinis dan penggunaan produk, klorheksidin 0,2% tetap direkomendasikan sebagai standar emas untuk penanganan kasus mulut serius seperti gingivitis parah, periodontitis, atau pasca-operasi gigi, mengingat efektivitas antibakterinya yang superior terhadap *Streptococcus Mutans* dan *Escherichia Coli* untuk eliminasi bakteri yang cepat dan kuat. Sebaliknya, *mouthwash* herbal, meskipun memiliki efektivitas lebih rendah dari klorheksidin (namun Prolizama menunjukkan potensi baik di antara herbal lainnya), dapat direkomendasikan sebagai alternatif pendukung yang lebih alami untuk



pemeliharaan kebersihan mulut sehari-hari atau kasus ringan, terutama bagi individu yang mencari opsi alami atau yang sensitif terhadap bahan kimia sintetis.



UNIVERSITAS  
**MA CHUNG**

## Daftar Pustaka

- Alfarisi, F., Lestari, C., Orienty, F. N., Fadriyanti, O., & Anggraini, N. (2024). *Uji karakteristik dan uji organoleptik obat kumur katekin gambir (Uncaria gambir Roxb.)*. *Sinnun Maxillofacial Journal*, 6(2), 70–78.
- Alsaraf, K.M., Abd, S.T. and Husain, N.S. (2016) ‘An Antimicrobial Activity of Moringa Oleifera Extract in Comparison to Chlorhexidene Gluconate : In Vitro Study’, *Journal of Baghdad College of Dentistry*, 28(1), pp. 183–187. Available at: <https://doi.org/10.12816/0024732>.
- Al-Maweri, S. A., Nassar, H. M., & Alaizari, N. A. (2020). The antimicrobial effect of propolis-based mouthwashes on oral microorganisms: A systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 8892061.
- Al-Sayed, R. M., Youssef, S. A., Al-Qurainy, F., El-Shabrawy, A. R., Salem, W. M., & Abd-Elkareem, M. (2023). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Propolis and Its Impact on Oral Health. *Molecules*, 28(8), 3504.
- Aini, N., Mandalas, H. Y., & Edinata, K. (2022). Perbandingan efektivitas berkumur dengan *chlorhexidine* dan obat kumur yang mengandung daun sirih (*Piper betle*) terhadap indeks plak ortodontik. *SONDE (Sound of Dentistry)*, 6(2), 45–57.
- Andika, N.A., Artini, K.S. and Wardani, T.S. (2022) ‘AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI AKTIF DAUN SAGA (*Abrus precatorius* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus Mutans* ATCC 25175’, *WARTA BHAKTI HUSADA MULIA: Jurnal Kesehatan*, 9 (2), pp. 1–11.
- Anwar, M.A. et al. (2022) ‘Trends in Frequency, Potential Risks and Antibigram of *E. coli* Isolated from Semi-Intensive Dairy Systems’, *Pakistan Veterinary Journal*, 42(2), pp. 167–172. Available at: <https://doi.org/10.29261/pakvetj/2022.018>.
- Atmanto, Y.K.A.A., Asri, L.A. and Kadir, N.A. (2022) ‘Media Pertumbuhan Kuman’, *Jurnal Medika Utama*, 04(01), pp. 3069–3075. Available at: <http://jurnalmedikahutama.com>.
- Augusto, C. and Ojeda, C. (2024) ‘Levene ’ s Test for Verifying Homoscedasticity Between Groups in Quasi- Experiments in Social Sciences’, *XXV*, pp. 5–11.
- Ayu, N. P., Lestari, D. A., & Putri, R. M. (2021). Potensi antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam sediaan obat kumur terhadap bakteri patogen rongga mulut. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, 8(2), 89–95.

- Azizah, A.N., Ichwanuddin, I. and Marfu'ah, N. (2020) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*', *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 4(2), p. 15.
- Bartsch, S. et al. (2024) '*Chlorhexidine* digluconate mouthwash alters the oral microbial composition and affects the prevalence of antimicrobial resistance genes', *Frontiers in Microbiology*, 15(June), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1429692>.
- Biswas, S. et al. (2021) 'Involvement of ClpE ATPase in Physiology of *Streptococcus Mutans*', *Microbiology Spectrum*, 9(3). Available at: <https://doi.org/10.1128/spectrum.01630-21>.
- Búfalo, M. C., Figueiredo, A. S., de Sousa, J. P. B., et al. (2021). Antibacterial activity of propolis and its compounds: Synergy with antimicrobial drugs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111552.
- Bustanussalam et al. (2016) 'Efektivitas Antibakteri Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) Terhadap *staphylococcus aureus*', 5(2), pp. 1–23.
- Dhurhanian, C.E. (2019) 'Penetapan Kadar Metilparaben dan Propilparaben dalam Hand and Body Lotion secara High Performance Liquid Chromatography', *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 1(1), p. 38.
- Dikarulin, S.A. et al. (2022) 'UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK PROPOLIS LEBAS Heterotrigona itama DARI BEBERAPA LOKASI BUDIDAYA DI KALIMANTAN TIMUR TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes*', 6(September), pp. 124–128.
- Escamilla-García, E. et al. (2017) 'Antimicrobial Activity of a Cationic Guanidine Compound against Two Pathogenic Oral Bacteria', *International Journal of Microbiology*, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1155/2017/5924717>.
- Fatmazira, A. (2017). *Nutrient Agar* sebagai media pertumbuhan bakteri. *Jurnal Biologi dan Sains*, 5(2), 34–40.
- Febrian (2015) 'Faktor virulen *streptococcus mutans* penyebab timbulnya karies gigi', *Journal, Andalas Dental*, 4(2), pp. 9–23.
- Febrianty, R., Sugito, S. and Suwandi, E. (2021) 'Perbedaan Pertumbuhan Jumlah Koloni Bakteri *Shigella dysenteriae* Pada Media Alami Kacang Hijau Dan Kacang Merah', *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 5(1), p. 24. Available at: <https://doi.org/10.30602/jlk.v5i1.950>.
- Fejerskov, O. et al. (2018) 'Dental caries: the disease and its clinical management. second edition.', pp. 227–228. Available at: <https://docs.google.com/viewer?a=v&pid=sites&srcid=ZGVmYXVsdGRvbW>

Fpbnxwb3J0YWZvbGlvY2liY3xneDozOTQwNTQ0YjRkOWJhOTk4.

- Feres, F Teles, R. Teles, L. C Figueiredo, M.F. (2017) 'The subgingival periodontal microbiota in the aging mouth Magda', *Physiology & behavior*, 176(1), pp. 139–148. Available at: <https://doi.org/10.1111/prd.12136>.The.
- Fernandez, A., Soriano, J. M., & Rico, H. (2020). Antimicrobial and anti-inflammatory properties of *chamomile*: a systematic review. *Molecules*, 25(21), 4992.
- Fiorentino, F.A.M., Corrêa, M.A. and Salgado, H.R.N. (2013) 'Development and validation of a microbiological assay for determination of *chlorhexidine* digluconate in aqueous solution', *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(2), pp. 351–358. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000200017>.
- Firdus Fareen H. and Geetha R.V. (2017) 'Evaluation of antimicrobial activity of herbal mouthwash on *Streptococcus Mutans* - An in vitro study', *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 45(1), pp. 161–163. Available at: <http://globalresearchonline.net/journalcontents/v45-1/31.pdf%0Ahttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed18&NEWS=N&AN=617733059>.
- Fitriani, D., Handayani, D., & Rizki, A. (2022). Efektivitas Mouthwash Herbal terhadap *Streptococcus Mutans*: Tinjauan Literatur. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, 9(2), 115–121.
- Gartika, M., Wartadewi, W. D., & Pramesti, H. T. (2019). Pengaruh obat kumur herbal jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap penurunan indeks plak gigi. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 3(2), 145–152.
- Hajardhini, P., Susilowati, H. and Yulianto, H.D.K. (2020) 'RONGGA MULUT SEBAGAI RESERVOIR POTENSIAL UNTUK INFEKSI *Pseudomonas aeruginosa*', *ODONTO: Dental Journal*, 7(2), p. 125. Available at: <https://doi.org/10.30659/odj.7.2.125-133>.
- Hakiman, F.A., Suharti, N. and Bahar, E. (2022) 'Kajian Literatur: Efektivitas Antiseptik Yang Mengandung *Chlorhexidine* Gluconate Terhadap Bakteri MRSA', *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 2(2), pp. 95–105. Available at: <https://doi.org/10.25077/jikesi.v2i2.553>.
- Henadi, K., I Gusti Ayu Fienna Novianthi Sidiartha and I Gusti Agung Sri Pradnyani (2021) 'Perbandingan Daya Hambat *Chlorhexidine* Gluconate 0.2% dan Ekstrak Ethanol Bunga Kecicang (*Etlingera elatior*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro', *Bali Dental Journal*, 5(2), pp. 102–108. Available at: <https://doi.org/10.51559/bdj.v5i2.152>.

- Hidayati, N. et al. (2024) 'Uji Efektivitas Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Daun Peppermint (*Mentha piperita* L) dan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Streptococcus Mutans*', CERATA Jurnal Ilmu Farmasi, 14(2), pp. 97–106. Available at: <https://doi.org/10.61902/cerata.v14i2.868>.
- Husna, A. and Abral, A. (2015) 'Efektivitas Obat Kumur Dalam Menghilangkan Bau Mulut (Halitosis) Pada Perokok Aktif', Kumpulan e-Journal Vokasi, 10(2), pp. 133–138. Available at: <http://www.repository.polnep.ac.id/xmlui/handle/123456789/1216>.
- Intan, K., Diani, A. and Nurul, A.S.R. (2021) 'Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*', JURNAL KESEHATAN PERINTIS (Perintis's Health Journal), 8(2), pp. 121–127. Available at: <https://doi.org/10.33653/jkp.v8i2.679>.
- Iosifidis, G. and Duggin, I.G. (2020) 'Distinct morphological fates of uropathogenic *Escherichia Coli* intracellular bacterial communities: Dependency on urine composition and pH', Infection and Immunity, 88(9), pp. 1–16. Available at: <https://doi.org/10.1128/IAI.00884-19>.
- Jones, C. G. (2016). *Chlorhexidine*: is it still the gold standard? Periodontology 2000, 71(1), 131–138.
- Kaligis, F.R., Fatimawati and Lolo, W.A. (2017) 'Identifikasi Bakteri Pada Plak Gigi Pasien Di Puskesmas Bahu Dan Uji Resistensi Terhadap Antibiotik Kloramfenikol Dan Linkosamida (Klindamisin)', PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi, 6(3), p. 224.
- Karpiński, T.M. and Szkaradkiewicz, A.K. (2015) '*Chlorhexidine* - Pharmacobiological activity and application', European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 19(7), pp. 1321–1326.
- Kartadarma, E., Nawawi, A. and Halida (2015) 'Penentuan Kuantitatif Zat Warna Karmoisin, Ponceau 4R dan Merah Alura yang Ditambahkan dalam Minuman Angrem', Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, pp. 67–71.
- Kim, Y.J. and Cribbie, R.A. (2018) 'ANOVA and the variance homogeneity assumption: Exploring a better gatekeeper', British Journal of Mathematical and Statistical Psychology, 71(1), pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1111/bmsp.12103>.
- Koru, Ö., & Göde, Y. A. (2020). Propolis and Its Components as Antimicrobial Agents: A Review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(6), 464-478.
- Krihariyani, D., Woelansari, E.D. and Kurniawan, E. (2016) 'POLA PERTUMBUHAN



*Staphylococcus aureus* PADA MEDIA AGAR DARAH MANUSIA GOLONGAN O, AB, DAN DARAH DOMBA SEBAGAI KONTROL', Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan, 3(2), pp. 191–200.

Krzyściak, W. et al. (2015) 'The virulence of *Streptococcus Mutans* and the ability to form biofilms', European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 33(4), pp. 499–515. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1993-7>.

Kurniawan, A., Pratiwi, R., & Andriani, A. (2021). The effect of propolis on the growth inhibition of *Streptococcus Mutans* and *Lactobacillus acidophilus*. Jurnal Farmasi Klinik Indonesia, 10(2), 128–134.

Kurniawati, D. (2015) 'Perbandingan Efektifitas *Chlorhexidine* Gluconate 4% dan Povidone Iodine 10% Pada Perawatan Luka Patah Tulang Terbuka Derajat III', Oktober, 1(1), pp. 35–40.

Laksana, T. R., Widodo, W. D., & Astuti, E. P. (2019). Perbandingan daya hambat mouthwash propolis dan *chlorhexidine* terhadap pertumbuhan *Escherichia Coli*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan, 6(2), 98–104. Latupeirissa, A.D.M., Kurnia, C. and Sugiaman, V.K. (2022) 'Antibacterial Effectiveness of Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) Peel Extract against *Porphyromonas gingivalis*', e-GiGi, 10(2), p. 168.

Lee, D.W. et al. (2016) 'The antibacterial activity of *chlorhexidine* digluconate against *Streptococcus Mutans* biofilms follows sigmoidal patterns', European journal of oral sciences, 124(5), pp. 440–446. Available at: <https://doi.org/10.1111/eos.12285>.

Lim, K. S., Kam, P. C. A. (2020). *Chlorhexidine*—pharmacology and clinical applications. Anaesthesia and Intensive Care, 36(4), 502–512.

Lim, Y. Y., & Quah, E. P. L. (2017). Antioxidant properties of *Centella asiatica*. Food Chemistry, 85(4), 535–539.

Li, Y., & Wu, Y. (2019). *Cinnamaldehyde*: A review on its mechanisms of antibacterial activity. Phytotherapy Research, 33(3), 562–573.

Li, Z.R. et al. (2021) 'Mutanofactin promotes adhesion and biofilm formation of cariogenic *Streptococcus Mutans*', Nature Chemical Biology, 17(5), pp. 576–584. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00745-2>.

Maarisit, I. et al. (2021) 'Isolation and Antibacterial Activity Test of Seagrass Epiphytic Symbiont Bacteria *Thalassia hemprichii* from Bahowo Waters, North Sulawesi', Jurnal Ilmiah PLATAX, 9(1), p. 115. Available at:



<https://doi.org/10.35800/jip.9.1.2021.34320>.

- Mahdiyah, D. (2015) 'Isolasi Bakteri Dari Tanah Gambut Penghasil Enzim Protease', *Jurnal Pharmascience*, 2(2), p. 73. Available at: <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1353.4326>.
- Mandalas, H. Y., Aini, N. and Edinata, K. (2022) 'Perbandingan Efektivitas Berkumur Dengan *Chlorhexidine* dan Obat Kumur yang Mengandung Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Penurunan Indeks Plak Pasien', *SONDE (Sound of Dentistry)*, 6(2), pp. 45–57.
- Marla, V. et al. (2018) 'The Importance of Oral Health during Pregnancy: A review', *Medical Express*, 5, pp. 1–6. Available at: <https://doi.org/10.5935/medicalexpress.2018.mr.002>.
- Meryandini, A. (2014). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: PT Grasindo.
- Munandar, H. (2016). *Mikrobiologi Dasar untuk Mahasiswa Kesehatan*. Bandung: Alfabeta.
- Nanci, A. (2017) *Enamel: Composition, Formation, and Structure, Ten Cates Oral Histology: Development, Structure, and Function, Eighth Edition*. Elsevier Health Sciences. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-07846-7.00007-0>.
- Nanggita, D. P., Khotimah, H., & Sari, I. P. (2023). Peran bakteri patogen rongga mulut sebagai sumber infeksi sistemik: Studi literatur. *Jurnal Kesehatan Gigi*, 10(1), 55–61.
- Nassar, H. M., & Gregory, R. L. (2021). Effect of oxygen levels on *Streptococcus Mutans* biofilm formation and virulence. *Archives of Oral Biology*, 125, 105051.
- Nguyen, H. T., Nguyen, T. N., & Nguyen, D. T. (2016). Antibacterial activity of flavonoids and saponins extracted from *Abrus precatorius* L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(5), 239–245.
- Nibrad, G.M. (2019) 'Methodology and Application of Two-way ANOVA', *International Journal of Marketing and Technology*, 9(6), pp. 1–8.
- Ogawa, H., McKenna, G. and Kettratad-Pruksapong, M. (2022) 'Prevention of Oral Functional Decline', *International Dental Journal*, 72(4), pp. S21–S26. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.05.008>.

- Oktanauli, P., Taher, P. and Prakasa, A.D. (2017) 'EFEK OBAT KUMUR BERALKOHOL TERHADAP JARINGAN RONGGA MULUT (Kajian Pustaka)', Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi, 13(1), p. 4. Available at: <https://doi.org/10.32509/jitekgi.v13i1.850>.
- Ostertagová, E., Ostertag, O. and Kováč, J. (2015) 'Methodology and application of the Kruskal-Wallis test', Applied Mechanics and Materials, 611, pp. 115–120. Available at: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.611.115>.
- Poppolo Deus, F. and Ouanounou, A. (2022) '*Chlorhexidine* in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects', International Dental Journal, 72(3), pp. 269–277. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.01.005>.
- Prasetyorini, Bina Lohitasari, dan A.A. (2015) 'FORMULASI GRANUL INSTAN EKSTRAK HERBA PEGAGAN ( *Centella asiatica* ) DAN ANALISIS ASIATIKOSIDA Prasetyorini, Bina Lohitasari, dan Ahmad Amirudin Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Pakuan', FORMULASI GRANUL INSTAN EKSTRAK HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica*) DAN ANALISIS ASIATIKOSIDA, 12(1), pp. 19–25.
- Putri, R. D., Kartini, A., & Agustina, E. (2021). Perbandingan efektivitas *chlorhexidine* 0,2% dan mouthwash herbal terhadap *Streptococcus Mutans*. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Jember, 9(2), 104–109.
- Rahayu, W.P., Nurjanah, S. and Komalasari, E. (2018) *Escherichia Coli*: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko, IPB Press.
- Rahmi, H., Rachmania, R.A. and Wardani, E. (2019) 'Pembuatan Obat Kumur Alami Daun Sirih Bagi Anggota Aisyiyah di PRA Cabang Perumnas I dan Jakasampurna', Jurnal SOLMA, 8(1), p. 119. Available at: <https://doi.org/10.29405/solma.v8i1.3102>.
- Reddy, L., Odhav, B., & Bhoola, K. D. (2018). Natural products for cancer prevention: a global perspective. Pharmacology & Therapeutics, 99(1), 1–13.
- Riset Kesehatan Dasar (2018) 'Laporan Riskesdas 2018 Nasional.pdf', Lembaga Penerbit Balitbangkes, p. hal 156. Available at: [https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan Riskesdas 2018 Nasional.pdf](https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan_Riskesdas_2018_Nasional.pdf).
- Ristianti, N., Kusnanta, J. W., & Marsono, M. (2015). Perbedaan efektivitas obat kumur herbal dan non herbal terhadap akumulasi plak di dalam rongga mulut. Medali: Media Dental Intelektual, 2(1), 31–36.
- Rizal S, Suharyono AS and Amelia R (2019) 'Pengaruh Penambahan Larutan Sukrosa

- Terhadap Aktivitas Antibakteri Minuman Sinbiotik Ekstrak Cincau Hijau Selama Penyimpanan Pada Suhu Dingin', *Jurnal Agric* , 31(1), pp. 53–66.
- Rizkita, A. (2017) 'Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sereh Wangi, Sirih Hijau, Dan Jahe Merah Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*', Universitas Negeri Semarang, (November 2017), pp. 1–2.
- Rossita, A. (2017). Perbandingan pertumbuhan bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) dan media *MacConkey Agar* (MCA). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 9(1), 25–30.
- Russell, S. E., & Kelly, M. C. (2023). The one-way ANOVA test explained. *Nursing Standard*, 37(7)
- Sabbathini, G.C. et al. (2017) 'Isolasi dan Identifikasi Bakteri Genus *Sphingomonas* dari Daun Padi (*Oryza sativa*) di Area Persawahan Cibinong', *Jurnal Akademika Biologi*, 6(1), pp. 59–64. Available at: <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19523>.
- Salari, M. H., Kadkhoda, Z., & Havasian, M. R. (2019). Evaluation of *Streptococcus Mutans* growth in different culture media with and without blood. *Iranian Journal of Microbiology*, 11(5), 427–432.
- Sari, D. P., Handayani, H., & Amelia, N. (2019). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans*. *Jurnal Kesehatan Gigi*, 6(1), 8–13.
- Sharma, N., Tripathi, A., & Dixit, V. K. (2017). Antimicrobial activity of *Piper betle* Linn. leaves. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(2), 207–212.
- Sinaredi, B.R., Pradopo, S. and Wibowo, T.B. (2015) 'Antibacterial effect of mouth washes containing *chlorhexidine*, povidone iodine, fluoride plus zinc on *Streptococcus Mutans* and *Porphyromonas gingivalis*', *Dental Journal*, 47(4), pp. 211–4. Available at: <https://doi.org/10.20473/j.djmkkg.v47.i4.p211-214>.
- Singh, R., Shushni, M.A.M. and Belkheir, A. (2015) 'Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L.', *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), pp. 322–328. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019>.
- Sofia, R. et al. (2023) 'Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro', *Jurnal Ilmiah Kesehatan Diagnosis*, 18, pp. 2302–2531.
- Sofiani, E. and Mareta, D.A. (2014) 'Perbedaan Daya Antibakteri antara Klorheksidin Diglukonat 2% dan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* Linn) Berbagai

- Konsentrasi (Tinjauan Terhadap *Enterococcus Faecalis*)', Idj, 3(1), pp. 30–41.
- Syahrul, D., Walianto, S. and Suwongto, P.S. (2023) 'the Use of *Chlorhexidine* Mouthworks Can Reduce the Accumulation of Dental Plak in Users of Fixed Orthodontic Devices', *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi (IJKG)*, 19(1), pp. 43–48. Available at: <https://doi.org/10.46862/interdental.v19i1.6095>.
- Ulliana, S.ST., M.T.T. et al. (2023) kesehatan gigi dan mulut, CV. eureka media aksara.
- Utamiputri, S. R., Arifa, R. D., & Rizki, D. (2023). Efek antibakteri ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 14(2), 98–104.
- Utomo, M. T., Rahayu, R. P., & Kartika, D. A. (2018). Uji daya hambat antibakteri dengan metode difusi cakram dan well terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan*, 10(2), 120–126.
- Van Strydonck, D. A. C., Slot, D. E., Van der Velden, U., & Van der Weijden, F. (2019). Effect of a *chlorhexidine* mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(11), 1042–1055.
- Wakhidatul Kiromah, N.Z. and Rahmatulloh, W. (2020) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Akuades Daun Ganitri (*Elaeocarpus ganitrus* Roxb.) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*', *Acta Pharmaciae Indonesia : Acta Pharm Indo*, 8(2), p. 89. Available at: <https://doi.org/10.20884/1.api.2020.8.2.3237>.
- Winasti, F. S., Rukmi, I. G. A., & Yasa, I. W. P. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Farmasi Udayana*, 9(1), 13–20.
- Wojnicz, D., & Kucharska, A. Z. (2023). Application of the *disk diffusion method* for antibacterial screening: current trends and limitations. *Pharmaceutics*, 16(3), 357.
- Yardha, M. et al. (2024) 'FORMULASI DAN Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Streptococcus Mutans* PADA SEDIAAN OBAT KUMUR KOMBINASI EKSTRAK DAUN SELEDRI (*Apium graveolens*) DAN DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) PENDAHULUAN *Streptococcus Mutans* adalah bakteri patogen gram positif berbentuk', 12(2), pp. 1889–1903.
- Zhang, X., Tan, B. K. H., & Zhu, Y. Z. (2018). *Andrographolide* and its analogues: versatile bioactive molecules for combating inflammation and cancer. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 45(4), 432–443.



## LAMPIRAN

### Lampiran A. Certificate of Analysis (CoA) *Streptococcus Mutans*


**UNIVERSITAS  
MUHAMMADIYAH  
BANJARMASIN**


Certificate of Analysis for MBF-23-004<sup>1</sup>

***Streptococcus mutans***  
(Derived from Catalog No. MBF-GS22-004)

**Species Description:**  
*Streptococcus mutans* is a Gram-positive spherically shaped bacterium, a member of the Bacillota, and is a usual member of the microbiota of the body, frequently found in the upper respiratory tract and on the skin. It is often positive for catalase and nitrate reduction and is a facultative anaerobe that can grow without the need for oxygen.

Date of analysis: 03 Jan 2023

TEST	STANDARDS	RESULTS
<b>A. Phenotypic Analysis</b>		
- Cellular morphology	Cocci	Cocci
- Colony morphology	Golden-yellow	Golden-yellow
- Sporulation	Negative	Negative
- Anaerobic growth	No growth	No growth
- Motility	Non-motile	Non-motile
<b>B. Biochemical Test</b>		
- Catalase	Positive	Positive
- Citrate	Positive	Positive
- Methyl Red	Positive	Positive
- Nitrate Reduction	Positive	Positive
- Oxidase	Negative	Negative
- Urease	Positive	Positive
<b>C. Gram stain</b>	Gram positive	Gram positive
Viability <sup>2</sup>	Growth	Growth

<sup>1</sup>MBF-23-004 was produced by inoculation of glycerol stock (MBF-GS22-003) in Nutrient Broth for 24 hours at 30°C and aerobic atmosphere.

<sup>2</sup>Inoculation for 24 hours at 30°C and aerobic atmosphere on Nutrient Agar.

Date of signed: 08 Jan 2023



Signature: 

**apt. H. Joko P. Wibowo, Ph.D.**  
**Title: Coordinator of**  
**Microbiology and**  
**Biotech. Laboratory**

**Pusat Studi Mikrobiologi dan Bioteknologi Farmasi**  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Banjarmasin  
Jl. Gubemur Syarkawi, Barito Kuala  
Kalimantan Selatan

Telp.: 0511-3363002  
E-mail: [mikrobiologi@umbjm.ac.id](mailto:mikrobiologi@umbjm.ac.id)  
Website: [farmasi.umbjm.ac.id](http://farmasi.umbjm.ac.id)

## Lampiran B Certificate of Analysis (CoA) Escherichia Coli

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC  
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific  
Microbiology  
12076 Santa Fe Trail Drive  
Lenexa, KS 66215  
800.255.6730  
830.447.5761 fax  
www.thermofisher.com

**Certificate of Analysis - Certified Reference Material**

Thermo Scientific™ Trademark™  
Product Number R4607050  
Product Name E. coli ATCC 25922 PK/5  
Lot Number 166884  
Usage Declared Accepted (OK)  
Expiration Date 2026-03-19

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. The results were derived from a representative sample of the batch and were obtained at the time of release. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use, hazard/safety requirements, and storage conditions.

**Product Char Results**

Purity	Demonstrates pure growth on applicable media
Viability	Recovered at acceptable level within test period
Passage	3 (Current preserved state)

Microbiological testing	Results	Specification
>95% Identification on MicroSEQ	100	95 - 100
Microscopic Features	Pass	
>85% Identification on API 20E	Pass	
>85% Identification on RapID ONE	Pass	

These tests are performed in accordance with ISO 17025 guidelines. Thermo Fisher Scientific has determined each loop of this reference material to be sufficiently homogeneous for its intended use. Individual products are traceable to a recognized culture collection. Although the Vitek(TM) panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Signed

*[Signature]*

Dawn Baker  
QA Manager

The identity, purity, and authenticity of the Licensed Products are exclusively the responsibility of Remel Inc. and not ATCC. The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative Word mark, and the ATCC Catalog Marks are trademarks of ATCC. Remel Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® culture.

ATCC Licensed Derivative

**A2LA**  
ACCREDITED  
CERT #6559.01

Thermo Fisher Scientific is accredited by A2LA as a registered reference material producer certificate number 6559.01 in accordance with ISO 17034[1].

[1] ISO 17034 First Edition 2016-11-01 General requirements for the competence of reference material producers

Version 1.0



## Lampiran C Dokumentasi Uji Antibakteri



Gambar C.1 Sterilisasi Alat



Gambar C.2 Suspensi Bakteri



Gambar C.3 Proses Inkubasi



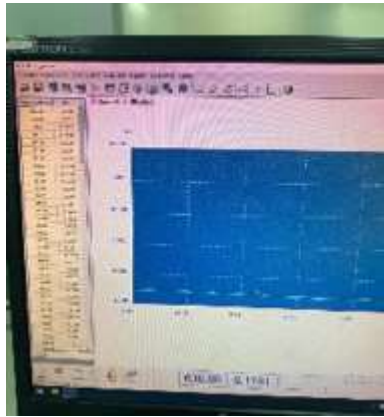
Gambar C.4 Proses Inkubasi Candle jar



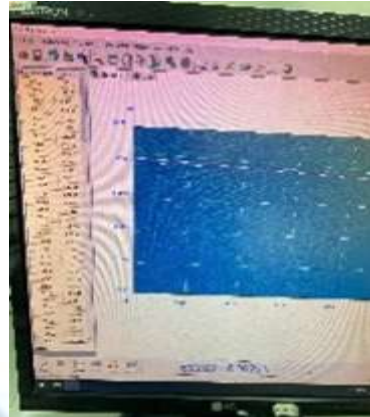
Gambar C.5 Pembuatan Media



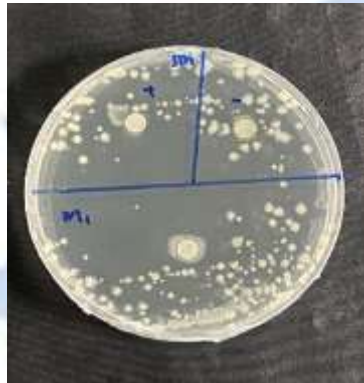
Gambar C.6 Preparasi Uji Antibakteri



Gambar C.7 Spektro *S.Mutans*



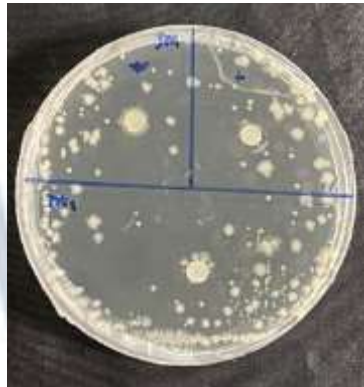
Gambar C.8 Spektro *E.Coli*



Gambar C.8 Replikasi 1 M1 *S.Mutans*



Gambar C.9 Replikasi 2 M1 *S.Mutans*



Gambar C.10 Replikasi 3 M1 *S.Mutans*



Gambar C.11 Replikasi 4 M1 *S.Mutans*



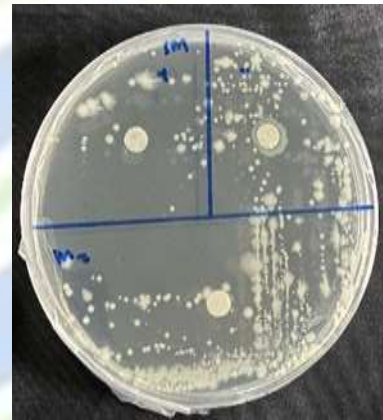
Gambar C.12 Replikasi 5 M1 *S.Mutans*



Gambar C.13 Replikasi 1 M2 *S.Mutans*



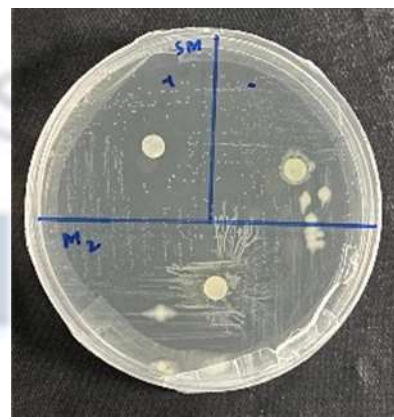
Gambar C.14 Replikasi 2 M2 *S.Mutans*



Gambar C.15 Replikasi 3 M2 *S.Mutans*



Gambar C.16 Replikasi 4 M2 *S.Mutans*



Gambar C.17 Replikasi 5 M2 *S.Mutans*

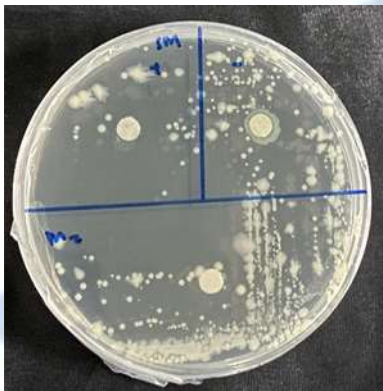




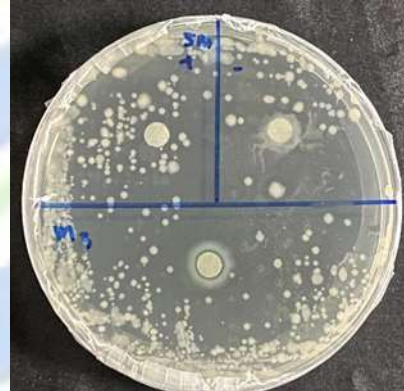
Gambar C.18 Replikasi 1 M3 *S.Mutans*



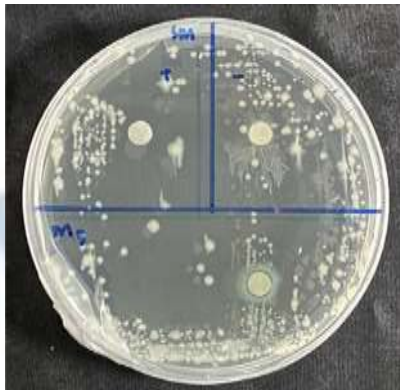
Gambar C.19 Replikasi 2 M3 *S.Mutans*



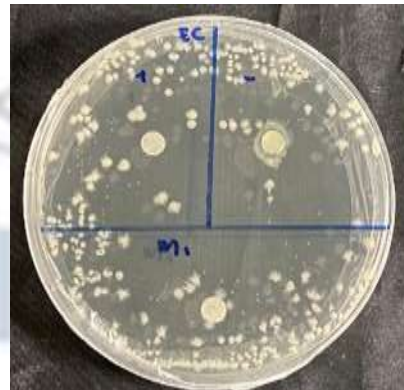
Gambar C.20 Replikasi 3 M3 *S.Mutans*



Gambar C.21 Replikasi 4 M3 *S.Mutans*



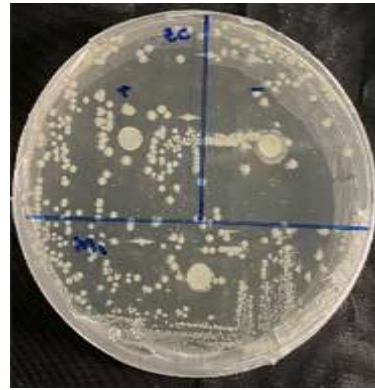
Gambar C.22 Replikasi 5 M3 *S.Mutans*



Gambar C.23 Replikasi 1 M1 *E.Coli*



Gambar C.24 Replikasi 2 M1 *E.Coli*



Gambar C.25 Replikasi 3 M1 *E.Coli*



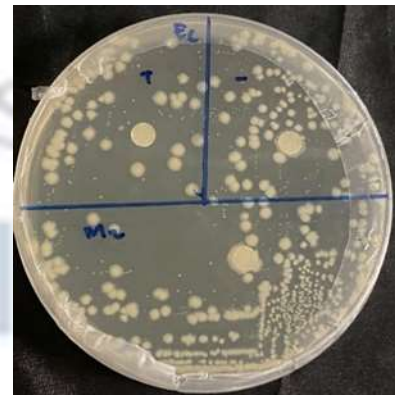
Gambar C.26 Replikasi 4 M1 *E.Coli*



Gambar C.27 Replikasi 5 M1 *E.Coli*



Gambar C.28 Replikasi 1 M2 *E.Coli*



Gambar C.29 Replikasi 2 M2 *E.Coli*





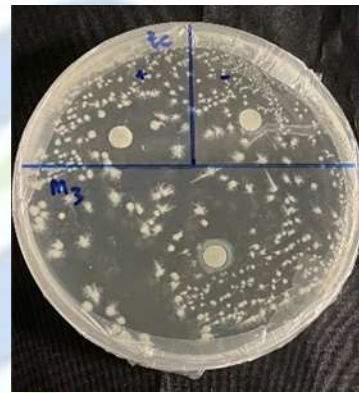
Gambar C.30 Replikasi 3 M2 *E.Coli*



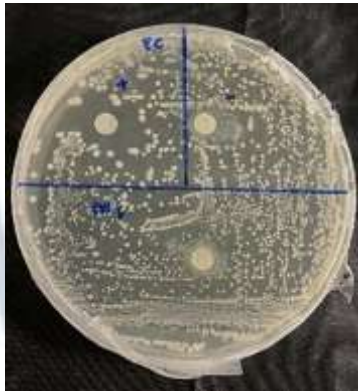
Gambar C.31 Replikasi 4 M2 *E.Coli*



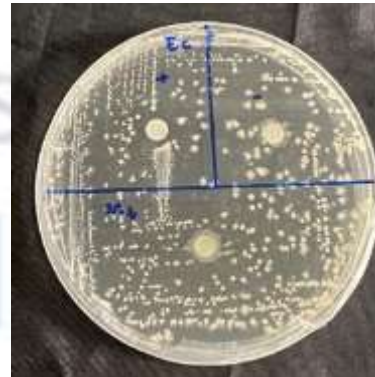
Gambar C.32 Replikasi 5 M2 *E.Coli*



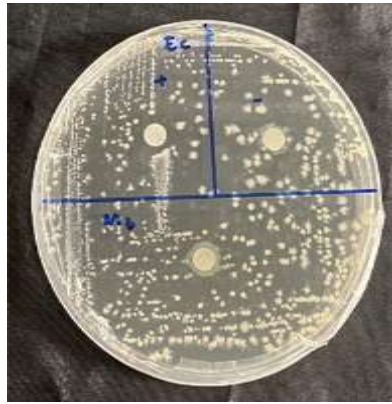
Gambar C.33 Replikasi 1 M3 *E.Coli*



Gambar C.34 Replikasi 2 M3 *E.Coli*



Gambar C.35 Replikasi 3 M2 *E.Coli*



Gambar C.36 Replikasi 4 M3 *E.Coli*



Gambar C.37 Replikasi 5 M3 *E.Coli*



## Lampiran D Analisis Data SPSS

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	perlakuan dengan streaking pada s.mutans	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter zona hambat	negatif	.196	5	.200*	.973	5	.893
	positif	.153	5	.200*	.989	5	.977
	m1	.240	5	.200*	.912	5	.478
	m2	.203	5	.200*	.960	5	.805
	m3						

\*. This is a lower bound of the true significance.  
a. Lilliefors Significance Correction.

Gambar D.1 Normalitas *S.Mutans*

Descriptives								
diameter zona hambat								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
negatif	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
positif	5	8.9840	.47899	.21421	8.3893	9.5787	8.30	9.62
m1	5	5.8360	.47773	.21365	5.2428	6.4292	5.20	6.43
m2	5	4.9360	.54257	.24264	4.2623	5.6097	4.07	5.52
m3	5	7.5520	.31547	.14108	7.1603	7.9437	7.18	8.03
Total	25	5.4616	3.15251	.63050	4.1603	6.7629	.00	9.62

Gambar D.2 Descriptives Anova *S.Mutans*

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
diameter zona hambat	Based on Mean	2.241	4	20	.101
	Based on Median	1.330	4	20	.293
	Based on Median and with adjusted df	1.330	4	12.882	.311
	Based on trimmed mean	2.184	4	20	.108

Gambar D.3 Homogenitas *S.Mutans*

## ANOVA

diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	235.113	4	58.778	345.121	.000
Within Groups	3.406	20	.170		
Total	238.519	24			

Gambar D.4 Anova *S.Mutans*

(I) perlakuan dengan streaking pada s.mutans	(J) perlakuan dengan streaking pada s.mutans	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
negatif	positif	-8.98400 <sup>*</sup>	.26101	.000	-9.7650	-8.2030
	m1	-5.83600 <sup>*</sup>	.26101	.000	-6.6170	-5.0550
	m2	-4.93600 <sup>*</sup>	.26101	.000	-5.7170	-4.1550
	m3	-7.55200 <sup>*</sup>	.26101	.000	-8.3330	-6.7710
positif	negatif	8.98400 <sup>*</sup>	.26101	.000	8.2030	9.7650
	m1	3.14800 <sup>*</sup>	.26101	.000	2.3670	3.9290
	m2	4.04800 <sup>*</sup>	.26101	.000	3.2670	4.8290
	m3	1.43200 <sup>*</sup>	.26101	.000	.6510	2.2130
m1	negatif	5.83600 <sup>*</sup>	.26101	.000	5.0550	6.6170
	positif	-3.14800 <sup>*</sup>	.26101	.000	-3.9290	-2.3670
	m2	.90000 <sup>*</sup>	.26101	.019	.1190	1.6810
	m3	-1.71600 <sup>*</sup>	.26101	.000	-2.4970	-.9350
m2	negatif	4.93600 <sup>*</sup>	.26101	.000	4.1550	5.7170
	positif	-4.04800 <sup>*</sup>	.26101	.000	-4.8290	-3.2670
	m1	-.90000 <sup>*</sup>	.26101	.019	-1.6810	-.1190
	m3	-2.61600 <sup>*</sup>	.26101	.000	-3.3970	-1.8350
m3	negatif	7.55200 <sup>*</sup>	.26101	.000	6.7710	8.3330
	positif	-1.43200 <sup>*</sup>	.26101	.000	-2.2130	-.6510
	m1	1.71600 <sup>*</sup>	.26101	.000	.9350	2.4970
	m2	2.61600 <sup>*</sup>	.26101	.000	1.8350	3.3970

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Gambar D.5 Post Hoc Tukey *S.Mutans*

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
perlakuan dengan streaking pada e.coli		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter zona hambat	negatif	.	5	.	.	5	.
	positif	.257	5	.200*	.852	5	.200
	m1	.228	5	.200*	.912	5	.477
	m2	.248	5	.200*	.953	5	.755
	m3	.314	5	.121	.800	5	.081

\*, This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Gambar D.6 Normalitas *E.Coli*

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
diameter zona hambat	Based on Mean	1.710	4	20	.187
	Based on Median	1.084	4	20	.391
	Based on Median and with adjusted df	1.084	4	14,064	.402
	Based on trimmed mean	1.581	4	20	.218

Gambar D.7 Homogenitas *E.Coli*

ANOVA					
diameter zona hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	220.586	4	55.147	240.378	.000
Within Groups	4.588	20	.229		
Total	225.175	24			

Gambar D.8 Anova *E.Coli*



► **Oneway**

**Descriptives**

diameter zona hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
negatif	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
positif	5	9.0160	.50959	.22789	8.3833	9.6487	8.59	9.86
m1	5	5.6260	.50138	.22422	5.0035	6.2485	4.97	6.12
m2	5	5.5880	.55034	.24612	4.9047	6.2713	4.84	6.38
m3	5	6.7400	.57719	.25813	6.0233	7.4567	5.75	7.18
Total	25	5.3940	3.06305	.61261	4.1296	6.6584	.00	9.86

Gambar D.9 *Descriptive Oneway Anova E.Coli*

(I) perlakuan dengan streaking pada e.coli	(J) perlakuan dengan streaking pada e.coli	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
negatif	positif	-9.01600*	.30293	.000	-9.9225	-8.1095
	m1	-5.62600*	.30293	.000	-6.5325	-4.7195
	m2	-5.58800*	.30293	.000	-6.4945	-4.6815
	m3	-6.74000*	.30293	.000	-7.6465	-5.8335
positif	negatif	9.01600*	.30293	.000	8.1095	9.9225
	m1	3.39000*	.30293	.000	2.4835	4.2965
	m2	3.42800*	.30293	.000	2.5215	4.3345
	m3	2.27600*	.30293	.000	1.3695	3.1825
m1	negatif	5.62600*	.30293	.000	4.7195	6.5325
	positif	-3.39000*	.30293	.000	-4.2965	-2.4835
	m2	.03800	.30293	1.000	-.8685	.9445
	m3	-1.11400*	.30293	.012	-2.0205	-.2075
m2	negatif	5.58800*	.30293	.000	4.6815	6.4945
	positif	-3.42800*	.30293	.000	-4.3345	-2.5215
	m1	-.03800	.30293	1.000	-.9445	.8685
	m3	-1.15200*	.30293	.009	-2.0585	-.2455
m3	negatif	6.74000*	.30293	.000	5.8335	7.6465
	positif	-2.27600*	.30293	.000	-3.1825	-1.3695
	m1	1.11400*	.30293	.012	.2075	2.0205
	m2	1.15200*	.30293	.009	.2455	2.0585

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Gambar D.1 *Post Hoc Tukey E.Coli*

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	perlakuan dengan streaking s.mutans	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter zona hambat s. mutans	M1	.230	5	.200 <sup>*</sup>	.908	5	.455
	M2	.240	5	.200 <sup>*</sup>	.912	5	.478
	M3	.203	5	.200 <sup>*</sup>	.960	5	.805

Gambar D.11 Normalitas *Mouthwash herbal* pada *s.mutans*

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter zona hambat s. mutans	Based on Mean	1.228	2	12	.327
	Based on Median	.571	2	12	.580
	Based on Median and with adjusted df	.571	2	9.748	.583
	Based on trimmed mean	1.217	2	12	.330

Gambar D.12 Homogenitas *Mouthwash herbal* pada *s.mutans*

ANOVA					
Diameter zona hambat s.mutans					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.929	2	8.964	37.157	.000
Within Groups	2.895	12	.241		
Total	20.824	14			

Gambar D.13 Anova *Mouthwash herbal* pada *s.mutans*

## Oneway

### Descriptives

Diameter zona hambat s.mutans

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M1	5	5.7480	.57434	.25685	5.0349	6.4611	5.11	6.43
M2	5	4.9360	.54257	.24264	4.2623	5.6097	4.07	5.52
M3	5	7.5520	.31547	.14108	7.1603	7.9437	7.18	8.03
Total	15	6.0787	1.21960	.31490	5.4033	6.7541	4.07	8.03

Gambar D.14 *Descriptive Oneway Anova Mouthwash herbal pada s.mutans*

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter zona hambat s.mutans

Tukey HSD

(I) perlakuan dengan streaking s.mutans	(J) perlakuan dengan streaking s.mutans	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
M1	M2	.81200	.31065	.055	-.0168	1.6408
	M3	-1.80400*	.31065	.000	-2.6328	-.9752
M2	M1	-.81200	.31065	.055	-1.6408	.0168
	M3	-2.61600*	.31065	.000	-3.4448	-1.7872
M3	M1	1.80400*	.31065	.000	.9752	2.6328
	M2	2.61600*	.31065	.000	1.7872	3.4448

Gambar D.15 *Post Hoc Tukey Mouthwash herbal pada s.mutans*

### Tests of Normality

	perlakuan streaking e.coli	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diamater zona hambat e. coli	M1	.228	5	.200*	.912	5	.477
	M2	.248	5	.200*	.953	5	.755
	M3	.314	5	.121	.800	5	.081

Gambar D.16 Normalitas *Mouthwash herbal pada E.Coli*

### Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
diamater zona hambat e. coli	Based on Mean	.024	2	12	.977
	Based on Median	.017	2	12	.983
	Based on Median and with adjusted df	.017	2	10.066	.983
	Based on trimmed mean	.015	2	12	.985

Gambar D.17 Homogenitas Mouthwash herbal pada E.Coli

### ANOVA

diamater zona hambat e.coli

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.283	2	2.141	7.239	.009
Within Groups	3.550	12	.296		
Total	7.832	14			

Gambar D.18 Anova Mouthwash herbal pada E.Coli

### Oneway

#### Descriptives

diamater zona hambat e.coli

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M1	5	5.6260	.50138	.22422	5.0035	6.2485	4.97	6.12
M2	5	5.5880	.55034	.24612	4.9047	6.2713	4.84	6.38
M3	5	6.7400	.57719	.25813	6.0233	7.4567	5.75	7.18
Total	15	5.9847	.74796	.19312	5.5705	6.3989	4.84	7.18

Gambar D.19 Descriptive Oneway Anova Mouthwash herbal pada E.Coli

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter zona hambat e.coli

Tukey HSD

(I) perlakuan streaking e. coli	(J) perlakuan streaking e. coli	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
M1	M2	.03800	.34398	.993	-.8797	.9557
	M3	-1.11400*	.34398	.018	-2.0317	-.1963
M2	M1	-.03800	.34398	.993	-.9557	.8797
	M3	-1.15200*	.34398	.015	-2.0697	-.2343
M3	M1	1.11400*	.34398	.018	.1963	2.0317
	M2	1.15200*	.34398	.015	.2343	2.0697

Gambar D.20 *Post Hoc Tukey Mouthwash herbal pada E.Coli*

