# BAB III

**METODOLOGI PENELITIAN**

# 3.1 Rancangan Penelitian

## Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian ini meliputi determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, pembuatan nanoekstrak, pengujian skrining fitokimia, pembuatan pasta gigi, karakterisasi mutu fisik pasta gigi dan uji aktivitas antibakteri pasta gigi nanoekstrak kulit buah jeruk kasturi terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

**3.1.1 Variabel Penelitian**

Pada penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah simplisia, ekstrak, nanoekstrak dan sediaan pasta gigi. Sedangkan variabel terikat penelitian ini adalah karakteristik simplisia, senyawa metabolit sekunder, karakterisasi nanoekstrak, karakterisasi mutu fisik sediaan pasta gigi dan aktivitas antibakteri sediaan pasta gigi nanoekstrak kulit buah jeruk kasturi.

**3.1.2 Parameter Penelitian**

Parameter penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. Parameter karakterisasi fisik simplisia : makroskopik, mikroskopik, susut pengeringan, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar abu total, dan penetapan kadar abu tidak larut asam.
2. Parameter skrining fitokimia : flavonoid, terpenoid/steroid, alkaloid, terhadap bakteri saponin, glikosida dan minyak atsiri.
3. Parameter karakterisasi nanoekstrak : ukuran partikel
4. Parameter karakterisasi mutu fisik sediaan pasta gigi : organoleptis, pH, homogenitas, viskositas dan uji hedonik
5. Parameter aktivitas antibakteri : diameter daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

# 3.2 Jadwal dan Lokasi Penelitian

### 3.2.1 Jadwal Penelitian

### Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Juni 2024.

### 3.2.2 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara (UMN) Al-Washliyah Medan, Laboratorium Sitematika Tumbuhan Herbarium Medanense (MEDA) USU dan Lab Nanomedicine USU.

# 3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak kulit buah jeruk kasturi, Na CMC (Merck), Kalsium Karbonat (Merck), Gliserin (Merck), Natrium Lauril Sulfal (Merck), Sorbitol (Merck), Nipagin (Merck), Nipasol (Merck), Aqudest, Etanol 96% (Merck), Kloralhidrat (Merck), Bouchardat (Merck), Dragendrof (Merck), Mayer (Marck), HCl 2N, HCl pekat, Timbal (III) Asetat 0,4 M (Marck), Isopropanol (Marck), Molish (Marck), Asam Sulfat Pekat (Marck), Kloroform (Marck), Toluena, Asam Klorida Encer 2N, Amil Alkohol, Serbuk *Nutrient Agar* (NA), Larutan NaCl 0,9%, DMSO, dan bakteri *Streptococcus mutans.*

**3.4** **Peralatan Penelitian**

 Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik (Acculab), *rotary evaporator*, waterbath, oven, tanur, deksikator, lemari pengering, cawan porselin (Pyrex), krus porselin (Pyrex), homogenizer (IKA RW 20 digital)*,* blender (Philips), saringan, toples kedap udara, *Particle Size Analyzer* (Fritsch), lampu spritus, jangka sorong, alumunium foil, jarum ose, inkubator, autoklaf, oven, waterbath, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, gelas ukur, mortir dan stamfer, dan Laminar Air Flow.

**3.5 Pembuatan Larutan Pereaksi**

**3.5.1** **Pereaksi Bouchardat**

Sebanyak 4 gram kalium iodida dilarutkan dalam 20 ml aquadest, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit 2 gram iodium dan dicukupkan dengan air aquadest hingga 100 ml (Depkes RI, 1989).

**3.5.2** **Larutan Pereaksi Dragendroff**

Sebanyak 0,85 gram bismut III nitrat ditimbang, lalu dilarutkan dalam 10 ml asam asetat glasial lalu ditambahkan 40 ml air suling. Pada wadah lain dilarutkan 8 g kalium iodida dalam 30 ml air suling. Kedua larutan dicampurkan dengan air suling hingga volume 100 ml (Depkes RI, 1989).

**3.5.3 Larutan Pereaksi Mayer**

Sebanyak 1,35 gram raksa II klorida, dilarutkan dalam 60 ml aquadest. Kemudian pada wadah lain ditimbang sebanyak 5 gram kalium iodida lalu dilarutkan dalam 10 ml air suling, kemudian kedua larutan dicampurkan dan ditambahkan air suling hingga 100 ml (Depkes RI, 1989).

**3.5.4 Larutan Pereaksi Molish**

Pembuatan pereaksi Molish dilakukan dengan cara melarutkan alfa-naftol 3% dalam etanol 96% lalu aduk sampai 100 ml (Rivai *et al*., 2013).

**3.5.5 Larutan Lieberman-Burchard**

Sebanyak 20 bagian asam asetat anhidrat dicampur dengan 1 bagian asam sulfat pekat dan 50 bagian kloroform. Larutan pereaksi harus dibuat baru (Ramadani *et al*., 2024).

**3.5.6 Larutan HCl 2 N**

Larutan HCl dibuat dengan penegenceran bertingkat dari HCl p.a 37% = 12,06 N. HCl 12,06 N diencerkan menjadi 2 N dengan memipet 16,56 ml HCl 12,06 N, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml yang sebelumnya telah diisi dengan sedikit aquadest, aduk dan tambahkan aquadest sampai tanda batas. Untuk membuat HCl 0,2 N, 10 ml larutan 2 N dipipet dan encerkan kembali dengan labu 100 ml (Syukri *et al*., 2015).

**3.5.7 Larutan Timbal (III) Asetat 0,4 M**

Sebanyak 15,17 g timbal (III) 0,4 M asetat dilarutkan dalam air suling bebas karbon dioksida hingga 100 ml (Ramadani *et al.,* 2024).

**3.5.8 Asam Klorida 2 N**

Sebanyak 17 ml asam klorida pekat diencerkan dengan air suling secukupnya hingga volume 100 ml (Depkes RI, 1979).

**3.5.9 Pembuatan Standar Kekeruhan Mc Farland 0,5**

Pembuatan standar kekeruhan 0,5 unit Mc Farland dibuat dari campuran asam sulfat (H2So4) 1 % sebanyak 9,95 ml dan larutan barium klorida 1 % sebanyak 0,05 ml (Mataram *et al*., 2017).

**3.5.10 Kloral Hidrat**

Ditimbang kloral hidrat sebanyak 50 gram dilarutkan dalam 20 ml aquadest di dalam gelas kimia 100 ml (Depkes RI, 1995).

**3.6 Pembuatan Media**

**3.6.1 Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)**

Sebanyak 2,3 gram medium NA ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquadest menggunakan erlenmeyer. Media dihomogenkan diatas penangas air sampai media Nutrien Agar benar-benar larut. Larutan tersebut kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Disimpan pada lemari pendingin, dan dipanaskan kembali ketika digunakan (Afni *et al*., 2015).

# 3.7 Persiapan Sampel

### 3.7.1 Determinasi Tumbuhan

 Determinasi terhadap kulit buah jeruk kasturi dilakukan di Herbarium Medanase (MEDA), Universitas Sumatera Utara.

### 3.7.2 Pengumpulan Sampel Tumbuhan

Sampel yang digunakan adalah kulit buah jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) yang masih segar. Pengambilan sampel dilakukan secara purposif tanpa membandingkan tumbuhan yang sama dari daerah lain. Jeruk kasturi dibeli di pasar Simpang Limun jalan M. Nawi Harahap No.48, Sitirejo III, kecamatan Medan Amplas, Kota Medan, Sumatera Utara sebanyak 20 kg.

### 3.7.3 Pengumpulan Sampel

 Jeruk kasturi yang telah dikumpulkan terlebih dahulu disortasi basah menggunakan air bersih dengan tujuan untuk memisahkan bagian-bagian yang tidak dikehendaki, kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya. Kemudian jeruk kasturi dikeringkan menggunakan kain. Lalu dipisahkan kulit dari daging buahnya buah untuk mengambil bagian kulitnya saja. Kemudian ditimbang berat basahnya (Rahmah, 2019).

**3.7.4 Pengolahan Sampel**

Kulit buah jeruk kasturi yang telah dipisahkan dari daging buahnya dikeringkan di dalam lemari pengering pada suhu 50-600C selama 48 jam. Setelah proses pengeringan, simplisia disortasi kembali untuk memastikan tidak ada benda asing yang masih tertinggal (Nadia *et al*., 2023). Pengeringan dilakukan sampai kulit buah jeruk kasturi kering, rapuh, dan mudah dipatahkan. Setelah kering dihaluskan menggunakan blender merek philips sampai halus, kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh hingga diperoleh tekstur serbuk halus (Anantami *et al*., 2023).

# 3.8 Karakterisasi Simplisia

**3.8.1 Pemeriksaan Makroskopis**

 Pemeriksaan makroskopis dilakukan dengan cara mengamati bentuk, bau, warna dan rasa. Uji makroskopik ini dilakukan pada simplisia kulit buah jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) (Utami, 2021).

**3.8.2 Pemeriksaan Mikroskopis**

 Pemeriksaan mikroskopis dilakukan terhadap serbuk simplisia, dengan cara serbuk simplisia diletakkan diatas objek glass kemudian ditetesi dengan kloralhidrat kemudian dipanaskan/difiksasi di atas lampu spritus. Kemudian diamati di bawah mikroskop (Utami, 2021).

**3.8.3 Penetapan Susut Pengeringan**

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan cawan dipijarkan di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditara. Kemudian ditimbang 2 g simplisia dan dimasukkan ke dalam cawan yang sebelumnya telah dipanaskan . Dimasukkan kedalam oven, panaskan pada temperatur 100-105°C. Timbang dan ulangi pemanasan sampai didapat berat yang konstan (Depkes RI, 1989).

% Susut Pengeringan = $\frac{Berat cawan awal-Berat cawan akhir }{Berat cawan awal} ×100 \%$

**3.8.4 Penetapan Kadar Air**

Penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan Azeotrop (destilasi toluen). Penjenuhan toluena dilakukan dengan cara destilasi yaitu sebanyak 200 ml toluena dimasukkan kedalam labu destilasi dan ditambah 2 ml aquadest, kemudian didestilasi selama 2 jam. Dibiarkan mendingin selama setengah jam. Dibaca volume air dengan ketelitian 0,01 ml (volume satu). Penetapan kadar air simplisia dilakukan dengan menimbang 5 gram bahan lalu dimasukkan ke dalam labu destilasi dan dipanaskan sampai toluena mendidih kemudian diatur suhu agar kecepatan 2 tetes tiap detik, setelah sebagian air tersuling maka kecepatan diatur menjadi 4 tetes tiap tiap detik. Setelah semua air tersuling, dicuci bagian dalam pendingin dengan toluena dan dilanjutkan penyulingan selama 5 menit, biarkan tabung penerima mendingin pada suhu kamar. Kemudian baca volume air setelah air dan toluena terpisah sempurna (Volume dua). Selisih volume satu dan volume dua dibaca. Kadar air dihitung dalam persen (v/b) (Depkes RI, 1995).

% Kadar Air = $\frac{Volume air akhir - Volume air awal}{Berat simplisia} ×100 \%$

**3.8.5 Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Air**

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 100 ml air dan kloroform (2,5 ml kloroform dalam 100 ml aquadest) selama 24 jam menggunakan labu bersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam dan disaring. Disaring cepat, 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan penguap berdasar rata di atas penangas air hingga kering. Sisanya dipanaskan pada suhu 105°C dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar sari yang larut dalam air dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 2008).

% Kadar Sari Larut Dalam Air = $\frac{Berat sari}{Bobot simplisia} ×FP ×100$

**3.8.6 Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol**

Sebanyak 5 garam serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol dalam labau bersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Lalu disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol, kemudian diuapkan 20 ml filtrat dalam cawan berdasar rata yang telah ditar, diuapkan filtrat hingga kering kemudian ditimbang sampai bobot tetap. Kadar sari yang larut dalam etanol dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 2008).

% Kadar Sari Larut Dalam Etanol = $\frac{Berat sari}{Bobot simplisia} ×FP ×100$

**3.8.7 Penetapan Kadar Abu Total**

Sebanyak 3 gram serbuk simplisia ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam krus porselin yang telah dipijarkan dan ditara. Kemudian krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, pemijaran dilakukan pada suhu 600°C selama 3 jam kemudian didinginkan dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (Depkes, 1989).

% Kadar Abu Total = $\frac{Berat abu}{Bobot simplisia}×100 \%$

**3.8.8 Penetapan Kadar Abu Yang Tidak Larut Dalam Asam**

Abu yang didapatkan pada penetapan kadar abu total didihkan dengan 25 ml asam klorida encer dan selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut asam. Pada bagian yang tidak larut dalam asam disaring melalui kertas saring bebas abu, kemudian dicuci dengan air panas. Residu dan kertas saring dipijarkan pada suhu 600°C sampai bobot tetap, kemudian didinginkan dan ditimbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (Depkes, 1998).

% Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam = $\frac{Berat abu}{Bobot simplisia}×100 \%$

**3.9 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*)**

Pembuatan ekstrak kulit buah jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) dilakukan dengan metode maserasi. Di dalam buku “Antiseptik Berbasis Bahan Alam” yang ditulis oleh (Kurniawati *et al.,* 2021), ekstraksi kulit jeruk dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Caranya 500 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah, kemudian dituangkan dengan 75 bagian etanol yaitu sebanyak 3750 ml dalam wadah tertutup rapat selama 5 hari dan terlindungi dari cahaya, sambil sering dilakukan pengadukan. Kemudian disaring atau dienaptuangkan sehingga didapat maserat I. Kemudian disaring dan ampas yang didapatkan dibilas dengan 25 bagian etanol sebanyak 1250 ml sehingga diperoleh maserat II. Maserat I dan II digabung. Kemudian dipindahkan ke dalam wadah tertutup dibiarkan di tempat yang sejuk dan terlindungi dari cahaya matahari langsung, lalu maserat yang diperoleh dipekatkan dengan cara di uapkan pada *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 1979). Maserasi digunakan dalam ekstraksi kulit jeruk karena metode ini efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa bioaktif seperti antioksidan, vitamin dan minyak atsiri dari kulit jeruk (Asendy *et al*., 2018).

**3.10 Pembuatan Nanoekstrak Kulit Buah Jeruk Kasturi**

Proses pembuatan ekstrak nanopartikel yaitu ekstrak kulit buah jeruk kasturi dihomogenizer dengan kecepatan 1.700 rpm selama 1 jam lalu dimasukkan kedalam *ultrasonic homogenizer* selama 1 jam (R. M. Fitri *et al*., 2023)*.*

**3.11 Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Jeruk Kasturi**

**3.11.1 Pemeriksaan Flavonoid**

 Sebanyak 1 gram ekstrak ditambahkan 10 ml aquadest, kemudian didihkan selama 10 menit dan disaring dalam keadaan panas. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 1 ml HCl pekat dan ditambahkan 2 ml amil alkohol. Dikocok, diamkan hingga memisah. Jika timbul warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menandakan positif flavonoid (Ananda, 2021).

**3.11.2 Pemeriksaan Terpenoid/Steroid**

 Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian filtrat dilarutkan dengan 20 ml kloroform dan ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Jika menunjukkan warna kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan akan menandakan adanya terpenoid, sedangkan bila menunjukkan warna biru kehijauan menandakan adanya steroid (Ananda, 2021).

**3.11.3 Pemeriksaan Alkaloid**

Sebanyak 1 gram ekstrak ditambahkan aquadest 1 ml HCl 2N, dan 9 ml aquadest dipanaskan pada penangas air selama 2 menit. Setelah dingin filtrat diambil dan dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama dimasukkan 2 tetes pereaksi mayer, tabung kedua dimasukkan 2 tetes pereaksi dragendroff dan tabung ketiga ditambahkan 2 tetes bouchardat. Reagen Mayer akan membentuk endapan kuning jika positif mengandung alkaloid, Kemudian Dragendroff akan menghasilkan endapan jingga atau merah jika positif menghasilkan alkaloid dan bouchardat akan membentuk endapan coklat jika positif mengandung alkaloid (Ananda, 2021).

**3.11.4 Pemeriksaan Saponin**

 Sejumlah 1 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml aquadest panas, kemudian didinginkan, dikocok kuat selama 10 detik hingga timbul busa yang mantap, tidak kurang dari 1-10 cm. Kemudian ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Positif mengandung saponin apabila busa tidak hilang (Ananda, 2021).

**3.11.5 Pemeriksaan Glikosida**

Sejumlah 3 g ekstrak disari dengan 30 ml campuran etanol 96% dan 3 bagian aquadest, ditambah 10 ml HCl 2N kemudian direfluks selama 30 menit, didinginkan lalu disaring. 20 ml filtrat diambil dan ditambahkan 25 ml aquadest dan 25 ml timbal (III) asetat 0,4 M. Dikocok lalu didiamkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat disari dengan 20 ml campuran 3 bagian kloroform dan 2 bagian isopropanol, dilakukan tiga kali pengulangan. Kumpulan sari air diuapkan pada temperatur 50°C, sisanya dilarutkan dalam 2 ml metanol. Kemudian diambil 0,1 ml larutan percobaan dimasukkan kedalam tabung reaksi, diuapkan dipenangas air. Pada sisa ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes pereaksi molish. Kemudian secara perlahan ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Jika terbentuk cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida (Depkes RI, 1995).

**3.11.6 Minyak Atsiri**

Pemeriksaan minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan mikroskopik, dengan cara serbuk simplisia kulit buah jeruk kasturi siletakkan di atas objek glass ditetesi dengan kloralhidrat lalu difiksasi. Diamati dibawah mikroskop (Depkes RI, 1995).

**3.12 Karakterisasi Nanoekstrak Kulit buah jeruk kasturi**

**3.12.1 Pemeriksaan Ukuran Partikel Nanokstrak Kulit Buah Jeruk Kasturi**

Pemeriksaan ukuran partikel dilakukan terhadap nanoestrak dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) menggunakan teknik dynamic light scattering (hamburan cahaya dinamik). Intensintas cahaya terhambur setelah mengenai sampel yang terdispersi dalam cairan diukur oleh instrumen (Yusan *et al*., 2023). Partikel yang terdispersi dalam suatu cairan akan mengikuti suatu pola pergerakan acak tertentu yang disebut gerak Brown. Persamaan Stokes Einstein yang digunakan pada teknik dynamic light scattering memodelkan hubungan antara mobilitas partikel Brownian dengan ukuran partikel, sehingga pada pengukuran dynamic light scattering, sampel yang ingin diukur harus dalam bentuk terdispersi dalam cairan (Anindya, 2018).

**3.12.2 Formulasi Pasta Gigi**

Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi nanoekstrak kulit buah jeruk kasturi yang dapat dilihat pada tabel 3.1 di bawah ini :

**Tabel 3.1** Formulasi Sediaan Pasta Gigi

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Bahan** | **Fungsi** | **Formula (%)** |
| **F0** | **F1** | **F2** | **F3** |
| Nanoekstrak kulit buah jeruk kasturi | Bahan aktif | - | 7,5 | 10 | 12,5 |
| Na CMC | Basis pasta | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Sorbiol | Humektan | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Menthol | Pengaroma | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Natrium benzoat | Pengawet | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Sodium lauril sulfat | Surfaktan | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Sadium saccarin | Pemanis | 0,12 | 0,12 | 0,12 | 0,12 |
| Calsium carbonat | Abrasif | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Etanol 95% | Pelarut | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Air suling ad | Pelarut | 100 | 100 | 100 | 100 |

Keterangan :

F0 : Blanko

F1 : Formula pasta gigi mengandung 7,5 % nanoekstrak kulit buah jeruk kasturi

F2 : Formula pasta gigi mengandung 10 % nanoekstrak kulit buah jeruk kasturi

F3 : Formula pasta gigi mengandung 12,5 nanoekstrak kulit buah jeruk kasturi

**3.13 Pembuatan Pasta Gigi**

Na CMC didispersikan dalam air suling, menthol dilarutkan dengan etanol. Natrium benzoat dilarutkan dalam aquadest. Eksrak diencerkan dengan etanol, lalu ditambah sorbitol dan larutan menthol. Kemudian ditambahkan dispersi NaCMC, kalsium karbonat dan larutan natrium benzoat. Ditambahkan sodium lauril sulfat dan sakarin kemudian diaduk sampai homogen (Yuliastri *et al*., 2019).

**3.14 Karakterisasi Mutu Fisik Sediaan Pasta Gigi**

**3.14.1 Organoleptis**

Pengamatan organoleptis pasta gigi dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perubahan secara organoleptis selama penyimpanan. Pengamatan meliputi warna, bau, dan rasa (Anggela dan Yuniarti, 2022).

**3.14.2 Homogenitas**

Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara pasta gigi yang akan diuji dioleskan pada gelas obyek kemudian diamati homogenitasnya. Bila tidak terdapat butiran-butiran kasar di atas obyek tersebut maka sediaan pasta gigi dinyatakan homogen (Rahmah, 2019).

**3.14.3 pH**

Sampel pasta gigi ditimbang sebanyak 5 gram dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 10 mL dalam Erlenmeyer 50 ml kemudian diaduk. Setelah itu dicelupkan elektroda pH meter ke dalam larutan, kemudian dicatat dan diamati nilai pH sampel pasta gigi (Wahidin *et al*., 2021).

**3.14.4 Viskositas**

Sebanyak 100 ml pasta gigi dimasukkan ke dalam gelas piala 250 ml kemudian viskositasnya diukur dengan Viscometer menggunakan spindle dan kecepatan yang sesuai (Wahidin *et al*., 2021). Spindel nomor 4 dimasukkan ke dalam wadah berisi sediaan pasta gigi dan diatur dengan kecepatan 6 rpm. Nilai viskositas tercantum pada alat telah stabil dicatat (Rachmayanti *et al*., 2024)

**3.14.5 Hedonik**

Hedonik adalah uji tingkat kesukaan seseorang terhadap suatu produk yang dikonsumsi sehingga dikenal juga dengan istilah uji sensorik. Dalam melakukan uji hedonik, panelis yang dibutuhkan adalah 20 orang untuk memberikan penilaian tingkat kesukaan berdasarkan pengamatan dengan menggunakan panca indera. Oleh karena itu metode dominan yang digunakan dalam uji hedonik adalah secara indrawi atau organoleptik (Tiyani *et al*., 2020).

**3.15 Uji Aktivitas Antibakteri**

**3.15.1 Sterilisasi Alat**

Seluruh peralatan yang terbuat dari kaca dan logam (pinset) disterilkan secara kering menggunakan oven. Pemansan oven untuk sterilisasi peralatan laboratorium dilakukan selama 1 jam hingga suhu sterilisasi yang dibutuhkan telah tercapai. Rekomendasi temperatur dan lamanya waktu oven pengering laboratorium untuk sterilisasi peralatan laboratorium adalah suhu 1600C (Wulandari *et al*., 2021).

**3.15.2 Peremajaan Bakteri*****Streptococcus mutans***

Bakteri yang akan diuji diambil 1 ose lalu diinokulasi dengan cara digoreskan pada medium MHA. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Afni *et al*., 2015).

**3.15.3 Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Pasta Gigi Terhadap Bakteri *Sterptococcus mutans***

Uji aktivitas antibakteri sediaan pasta gigi dilakukan dengan metode cakram. Ditimbang 1 gram pasta gigi nanoekstrak F0 (0%), FI (7,5%), FII (10%) dan FIII (12,5%). Kontrol positif pasta gigi merek X yang telah dilarutkan dalam 1 mL DMSO. kertas cakram steril dimasukkan secara eseptic menggunakan pinset steril ke seluruh konsentrasi pasta gigi dan pasta gigi komersial merk X (kontrol positif) dan DMSO (kontrol negatif) lalu direndam selama 10 menit. Kertas cakram yang telah direndam kemudian dipindahkan dengan pinset steril ke medium NA berisi Streptococcus mutans secara aseptik, kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam dengan suhu 37°C dan diukur diameter zona hambat (Simaremare *et al*., 2023).

**3.15.4 Analisis Data**

Data antibakteri sediaan pasta gigi yang diperoleh pada penelitian ini diolah secara statistik dengan metode *One Way Anova* dengan menggunakan program *Statistical Package for the Sciences* (SPSS).