



BDJ

Uji efektifitas antibakteri ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* in vitro

Putu Wiswananta Parama, I Dewa Made Sukrama, Steffano Aditya Handoko

ABSTRACT

Introduction: Lime fruit has been used by the society in order to prevent and cure many disease that caused by bacteria, fungus and virus infection. Lime (*Citrus aurantifolia*) contain some active compounds such as alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, tannin and phenolic that can inhibit the growth of bacteria. *Streptococcus mutans* is a Gram-Positive, facultative anaerobe bacteria that caused dental caries. The aim of this study is to know whether lime (*Citrus aurantifolia*) extract has an effect on *Streptococcus mutans* growth in vitro.

Method: An experimental research has been done using Post Test Only Control Group Design method with lime (*Citrus aurantifolia*) extract that its antibacterial effectivity was tested on *Streptococcus mutans* ATCC 35668. The test method used was Kirby-Bauer disc diffusion on Muller Hinton blood

agar media. The lime extract on this research obtained using maseration method with methanol 98% as the solvent. The concentration created was 40%, 60%, and 80%. Positive control used was Vancomycin and the negative control used was methanol 98%.

Result: The result is inhibition zone that formed around the extract disc was increased with enchancement of the extract concentration. The average of inhibition zone in 40%; 60%; 80% concentration is 14.2; 19.6; 22.6 mm. Statistical test One Way ANOVA showed that $p < 0.05$ that mean there is a significant difference in every extract concentration that inhibit *Streptococcus mutans* growth in vitro.

Conclusion: Lime fruit extract (*Citrus aurantifolia*) with a concentration of 40%, 60%, and 80% can inhibit the growth of *Streptococcus mutans* in vitro.

Keywords: *Streptococcus mutans*, lime extract (*Citrus aurantifolia*), vancomycin, disc diffusion Kirby-Bauer, inhibition zone
Cite This Article: Parama, P.W., Sukrama, I.D.M., Handoko, S.A. 2019. Uji efektifitas antibakteri ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* in vitro. *Bali Dental Journal* 3(1): 45-52

ABSTRAK

Latar Belakang: Buah jeruk nipis telah banyak digunakan oleh masyarakat dalam pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri, jamur dan virus. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung beberapa senyawa aktif yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, tanin dan fenolik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram-positif anaerob fakultatif penyebab terjadinya karies gigi. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak buah jeruk nipis terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro.

Metode: Penelitian eksperimental dilakukan dengan metode *Post Test Only Control Group Design* pada ekstrak buah jeruk nipis yang diuji efektifitas antibakterinya pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Metode pengujian yang digunakan yaitu *disc diffusion* Kirby-Bauer pada media

agar darah Muller Hinton. Ekstrak buah jeruk nipis diperoleh melalui metode maserasi dengan pelarut metanol 98%, konsentrasi sebesar 40%, 60%, dan 80%. Kontrol positif yang dipakai adalah cakram antibiotik Vancomycin dan kontrol negatif yang dipakai adalah metanol 98%.

Hasil: Diperoleh hasil bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), zona hambat yang ditimbulkan semakin luas. Rata-rata zona hambat pada konsentrasi 40%; 60%; 80% adalah 14,2; 19,6; 22,6 mm. Uji statistik One Way ANOVA menunjukkan bahwa $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro.

Conclusion: Ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan konsentrasi 40%, 60%, dan 80% dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro.

Kata Kunci: *Streptococcus mutans*, ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), Vancomycin, *disc diffusion* Kirby-Bauer, zona hambat

Sitasi Artikel Ini: Parama, P.W., Sukrama, I.D.M., Handoko, S.A. 2019. Uji efektifitas antibakteri ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* in vitro. *Bali Dental Journal* 3(1): 45-52

¹Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

*Correspondence to:

Putu Wiswananta Parama;
Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

Diterima : 20 Januari 2019
Disetujui : 12 April 2019
Diterbitkan : 7 Mei 2019



PENDAHULUAN

Karies gigi adalah salah satu penyakit gigi dan mulut yang umum ditemukan pada masyarakat di seluruh dunia dan perlu biaya mahal untuk perawatannya.¹ Karies telah menjadi permasalahan utama pada gigi dan mulut yang diderita oleh 90% dari populasi penduduk di Indonesia. Penyakit ini bersifat progresif, apabila tidak dilakukan perawatan dapat menjadi semakin parah.² Di Indonesia terjadi peningkatan prevalensi terjadinya penyakit karies gigi pada penduduk, yaitu dari 43,4 % pada tahun 2007 menjadi 53,2 % pada tahun 2013.³ Dalam upaya untuk menurunkan prevalensi karies di masyarakat, peningkatan pemahaman mengenai faktor penyebab karies gigi dan bagaimana peran bakteri dalam patogenesis karies gigi sangat diperlukan.⁴

Penyebab karies ada 2 faktor yaitu pertahanan internal seperti saliva, bentuk permukaan gigi, kesehatan umum, nutrisi dan keadaan hormonal, serta faktor eksternal seperti diet, flora mikrobial yang hidup pada gigi, kebersihan rongga mulut dan ketersediaan fluoride.⁵ Secara umum karies merupakan terjadinya destruksi enamel, dentin atau sementum gigi yang disebabkan oleh bakteri. Walaupun banyak bakteri yang bisa memproduksi asam konsentrasi tinggi, hanya beberapa spesies yang terkait dengan terjadinya karies gigi, salah satunya adalah *S.mutans*.⁶

Para praktisi kesehatan dan peneliti mencari cara untuk menekan pertumbuhan dan aktivitas bakteri *S.mutans* sebagai penyebab karies gigi.⁷ Antibiotik telah digunakan untuk membunuh bakteri penyebab penyakit karies gigi. Dinyatakan bahwa bakteri *S.mutans* dan *S.sobrinus* sensitif terhadap penisilin dan ampicilin.⁸ Cara lain yang digunakan untuk mengurangi bakteri penyebab karies gigi adalah penambahan bahan kimia atau herbal ke dalam pasta gigi dan obat kumur yang bersifat antibakteri. Bahan kimia yang ditambahkan ke dalam pasta gigi yaitu triklosan, klorheksidin, xylitol dan fluoride. Bahan herbal yang sejauh ini sudah digunakan sebagai antibakteri pada pasta gigi serta obat kumur adalah ekstrak daun sirih, jeruk nipis, peppermint, dan kamomil.⁹

Pada umumnya, untuk mendapatkan zat herbal, tanaman yang akan dijadikan sebagai obat dapat diproses lalu digunakan dengan cara dan bentuk hasil akhir yang berbeda-beda, misalnya seperti memakai keseluruhan bagian tanaman untuk langsung dikonsumsi sebagai obat, dijadikan teh, sirup, minyak esensialnya diekstraksi, salep, obat gosok, atau dikemas ke dalam tablet, kapsul berisi tanaman yang telah dihaluskan sampai berbentuk bubuk atau ekstrak tanaman yang sudah dikeringkan.¹⁰

Saat ini pemakaian bahan herbal mengalami peningkatan di masyarakat karena pemahaman mengenai hal tersebut dari segi kandungan, manfaat dan keunggulannya dibandingkan obat konvensional semakin baik.¹¹ Bahan herbal mudah didapat, aman dikonsumsi, mudah diproses oleh siapa saja untuk dijadikan sebagai obat dan juga tidak ada resiko membahayakan bagi pasien dibandingkan obat konvensional. Selain itu obat tradisional bisa didapatkan

dengan harga yang jauh lebih murah.¹² Salah satu penelitian mengenai penggunaan bahan herbal sebagai zat antibakteri adalah bawang putih yang dihaluskan lalu dicampur dengan air perasan buah jeruk nipis dapat digunakan sebagai obat kumur perawatan karies gigi.¹³

Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu tanaman herbal yang sudah sering digunakan untuk bahan masakan dan juga sebagai obat. Jeruk nipis digunakan sebagai penambah nafsu makan, antipiretik dan antibakteri.¹⁴ Bagian yang dapat dipakai sebagai agen antibakteri adalah ekstrak kulit buah, ekstrak daun, ekstrak biji serta air perasannya. Ekstrak daunnya juga dapat dipakai sebagai agen antifungal.¹⁵⁻¹⁷

Jeruk nipis dijadikan obat herbal karena terdapat senyawa kimia yang bersifat antimikroba yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, fenol dan saponin.¹⁸ Selain itu terdapat senyawa kimia yang sama pada akar, batang, daun dan kulit buahnya, disertai mineral, vitamin dan minyak atsiri.^{19,20} Salah satu senyawa kimia pada jeruk nipis yang bersifat antibakteri, tanin merupakan senyawa polifenol yang bersifat mengikat, mengendapkan dan menyusutkan protein.²¹ Selain dari jeruk nipis, tanin dapat diekstrak dari daun jambu biji, yang telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan *E.coli*, *Pseudomonas aureginosa*, *S.aureus*, *Aspergillus niger* dan *Candida albicans*.²²

Telah diteliti konsentrasi air perasan buah jeruk nipis yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan *S.aureus* adalah 100% dibandingkan dengan 25%, 50% dan 75%.²³ Selain air perasannya, ekstrak biji buah jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *S.aureus*, *E.coli*, *P.vulgaris*, *Klebsiella spp.* dan *Shigella spp.*²⁴ Penelitian lainnya memakai ekstrak buah jeruk nipis konsentrasi 40% efektif untuk mengurangi pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* pada saliva anak yang mengalami karies dini.²⁵ Dengan adanya data ini penulis menetapkan konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang telah diketahui bahwa nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dari ekstrak buah jeruk nipis terhadap bakteri *S.mutans* adalah 40%.

Penelitian sebelumnya dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak buah jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *S.mutans* pada sampel saliva anak yang mengalami karies dini dengan metode *Colony Forming Unit/CFU*, tetapi belum dilakukan penelitian tentang efektivitas ekstrak buah jeruk nipis terhadap bakteri *S.mutans* secara in vitro. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan pengujian tersebut untuk mendapatkan data apakah ekstrak buah jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan *S.mutans* secara in vitro dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah *True Experimental. Post Test Only Control Group Design*. Sampel dalam penelitian ini digunakan kultur biakan murni *Streptococcus mutans* ATCC 35668 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FK Unud.



Prosedur Pembuatan Ekstrak

Buah jeruk nipis sebanyak 1.5 kg dicuci. Lalu potong melintang yang lebarnya sekitar 0.5 cm. Lalu potongan buah diletakkan di sebuah wadah besi dan dimasukkan ke dalam *drying oven* bersuhu 40°C selama 3 hari sampai berubah warna dan kering. Setelah itu buah kering dihaluskan menggunakan blender.

Simplisia buah jeruk nipis sebanyak 700 gram, di maserasi 2 kali, dengan merendam simplisia menggunakan 2 liter metanol 98% selama 3 hari dan didiamkan dalam wadah kedap. Di antara waktu perendaman simplisia diaduk. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring dibantu pompa vakum. Residu ekstrak cair pertama dimaserasi kembali dengan 1 liter metanol 98% selama 1 hari. Kemudian disaring dan ekstrak cair yang kedua didapatkan. Selanjutnya ekstrak cair yang pertama dan kedua digabung.

Setelah itu ekstrak cair dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan dipasang pada *rotary evaporator* kecepatan 20 rpm, suhu 40° C dan tekanan pompa 150 mbar untuk dilakukan penguapan pelarut. Setelah beberapa menit lepaskan labu alas bulat dari *rotary evaporator*, ekstrak dimasukkan ke dalam botol kaca, diberi label dan disimpan dalam lemari pendingin.

Prosedur Uji Efektifitas Ekstrak Buah Jeruk Nipis terhadap Pertumbuhan *S.mutans*

5 disk yang telah ditetesi ekstrak buah jeruk nipis konsentrasi 40%, 60% dan 80% , kontrol negatif serta kontrol positif ditempelkan di atas media MHB dengan pinset steril, lalu diinkubasi dalam inkubator suhu 37° C selama 17-24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar disk diukur dengan jangka sorong lalu dicatat.

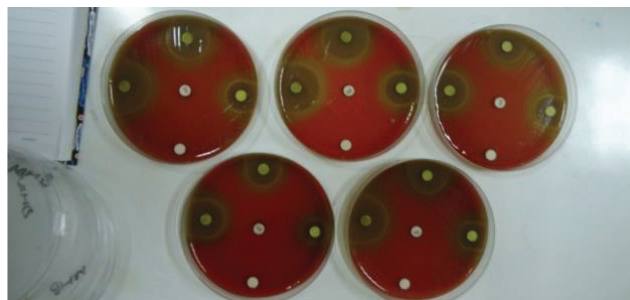
Pengolahan dan Analisis Data

Dilakukan dengan program SPSS 16 untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna dari masing-masing *disk* ekstrak masing-masing konsentrasi, kontrol negatif positif dalam menghambat pertumbuhan *S.mutans*.

HASIL



Gambar 1. Hasil ekstraksi buah jeruk nipis



Gambar 2. Hasil Uji Pengaruh Ekstrak Buah Jeruk Nipis terhadap Pertumbuhan *S.mutans*, Zona hambat yang terbentuk



Gambar 3. Pengukuran diameter zona hambat

Semakin besar konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis, diameter zona hambat *disk* ekstrak terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* semakin luas seperti terlihat pada **Tabel 2**. Berdasarkan klasifikasi Greenwood, pada hasil ini zona hambat *Streptococcus mutans* oleh ekstrak buah jeruk nipis pada konsentrasi 40% tergolong respon lemah, 60% respon sedang dan pada konsentrasi 80% respon kuat (**Tabel 1**).

Data berdistribusi normal sehingga dilakukan uji One Way ANOVA dan homogenitas. Didapatkan hasil $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap konsentrasi dan tidak homogeny, sehingga hasil ini akan dilanjutkan dengan uji Post Hoc (**Tabel 2**). Hasil uji Post Hoc menunjukkan daya hambat *disk* ekstrak konsentrasi 40%, 60%, dan 80% lebih kecil dibandingkan kontrol positif.

Melalui uji post-hoc didapatkan Konsentrasi 80% memberikan nilai hambat yang terbaik dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,001$; beda rerata -14,00), konsentrasi 40% ($p < 0,001$; beda rerata 8,40). Kemudian tidak terdapat perbedaan zona hambat antara ekstrak jeruk nipis konsentrasi 80% dibandingkan dengan 60% ($p = 0,084$; beda rerata 3,00) (**Tabel 3**).

PEMBAHASAN

Digunakan sampel buah jeruk nipis karena adanya senyawa kimia pada buah jeruk nipis yang dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, terdapat

**Tabel 1.** Hasil pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong

Pengulangan	40%	60%	80%	+	-
1	14 mm	22 mm	26 mm	34 mm	0 mm
2	12 mm	16 mm	18 mm	37 mm	0 mm
3	16 mm	22 mm	24 mm	36 mm	0 mm
4	14 mm	20 mm	26 mm	38 mm	0 mm
5	15 mm	18 mm	19 mm	38 mm	0 mm
Rata-rata	14.2 mm	19.6 mm	22.6 mm	36.6 mm	0 mm

Tabel 2. Analisis ANOVA terhadap zona hambat dari kelompok intervensi

Jenis Intervensi	Zona Hambat (Rerata ± SD)	F	P
Ekstrak Buah Jeruk Nipis			
Konsentrasi 40%	14.20 ± 1.48		
Konsentrasi 60%	19.60 ± 1.16		
Konsentrasi 80%	22.60 ± 1.72	68.63	<0.001
Kontrol positif	36.60 ± 0.74		
Kontrol negatif	0.0 ± 0.0		

beberapa senyawa kimia pada ekstrak buah jeruk nipis yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, fenol, dan tanin. Proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol 98% dan metode ekstraksinya adalah maserasi. Alasan pemakaian pelarut tersebut karena bersifat universal. Pelarut universal akan melarutkan senyawa aktif pada ekstrak yang bersifat polar dan non-polar. Alasan pemilihan metode maserasi karena sederhana, prosesnya mudah, dan metode maserasi meminimalisir terurainya senyawa aktif dalam ekstrak karena pada metode ini tidak dilakukan proses pemanasan seperti pada metode Soxhlet, kromatografi lapis tipis dan lain sebagainya.²⁶

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efektivitas antibakteri yang ditimbulkan oleh ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Streptococcus mutans* secara in vitro. Yang dimaksud dengan daya hambat adalah kemampuan suatu substansi atau zat untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme, dimana dalam penelitian ini digunakan sampel bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *S.mutans* adalah bakteri penyebab karies gigi karena memiliki tiga sifat khusus yang dapat mengakibatkan terjadinya demineralisasi email gigi, yaitu mampu memproduksi glukosa dari sisa karbohidrat, melekat pada permukaan gigi lalu membentuk plak dan memproduksi asam laktat. Merupakan jenis bakteri Gram-Positif dan hidup pada lingkungan anaerob fakultatif.²⁷

Pada penelitian sebelumnya telah digunakan berbagai macam bagian dari tanaman jeruk nipis seperti daun, biji, air perasan dan juga hasil ekstraksi minyak atsirinya. Abdul Razak dalam penelitiannya menyatakan bahwa air perasan buah jeruk nipis dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%

Tabel 3. Analisis Post-Hoc

Variabel Intervensi	Beda Rerata	p	Interval Kepercayaan 95%		
			Bawah	Atas	
Konsentrasi 0	40	22,40	<0,001	18,94	25,86
	60	17,00	<0,001	13,54	20,46
	80	14,00	<0,001	10,54	17,46
40	0	-22,40	<0,001	-25,86	-18,94
	60	-5,40	0,004	-8,86	-1,94
	80	-8,40	<0,001	-11,86	-4,94
60	0	-17,00	<0,001	-20,46	-13,54
	40	5,40	<0,001	1,94	8,86
	80	-3,00	0,084	-6,46	0,46
80	0	-14,00	<0,001	-17,46	-10,54
	40	8,40	<0,001	4,94	11,86
	60	3,00	0,084	-0,46	6,46

dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.²⁸ Penelitian lainnya telah dilakukan oleh Cut Nurkalimah yang juga menggunakan air jeruk perasan jeruk nipis, dengan metode difusi cakram menyatakan bahwa air perasan jeruk nipis memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.²⁹

Tidak hanya pada bakteri saja, jeruk nipis telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan jamur, salah satunya *Candida albicans*. Pada penelitian Putri W.D digunakan minyak atsiri kulit buah jeruk nipis konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% sebagai antijamur untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Hasilnya adalah minyak atsiri kulit buah jeruk nipis memiliki aktivitas antijamur terhadap isolat klinis *Candida albicans*, dimana konsentrasi 50% memiliki aktivitas antijamur paling optimal dibandingkan konsentrasi lainnya.³⁰

Penggunaan daun jeruk nipis, yang dibuat menjadi ekstrak telah diteliti oleh Pathan R.K. Pada penelitian itu dinyatakan bahwa ekstrak hidroalkohol daun jeruk nipis yang dibuat dengan metode maserasi dingin memiliki daya antibakteri terhadap *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas sp*, *S.aureus* serta memiliki daya antijamur terhadap *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigates*, serta *Mucor species*. Daya antibakteri paling efektif pada *S.aureus*, dibandingkan



dengan standar gentamisin, sedangkan daya antijamur paling efektif pada *Mucor species*, dibandingkan dengan standar ketokonazol.³¹

Selain penggunaan air perasan, kulit buah dan daun, penggunaan biji buah jeruk nipis sebagai agen antibakteri telah diteliti oleh Mohammed R.M.O. Pada penelitian itu biji buah jeruk nipis dibuat ekstrak dan dibagi menjadi tiga bagian sesuai dengan pelarut yang digunakan, yaitu ekstrak etanol 96%, ekstrak kloroform, dan ekstrak metanol. Ketiga macam ekstrak tersebut memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella spp* dan juga *Shigella spp* dengan masing-masing zona hambat bervariasi.³²

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fajriani dan Mahrum, menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis 40% yang diuji dengan metode CFU (*Colony Forming Unit*) dapat menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* dari saliva anak yang mengalami karies dini setelah 30 menit.³³ Dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut, pada hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari peningkatan konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis yaitu 60% dan 80% terhadap daya hambat *S.mutans*. Semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan, zona hambat yang dihasilkan juga semakin luas.

Pada penelitian sebelumnya, dinyatakan bahwa senyawa kimia yang bersifat sebagai antibakteri pada ekstrak buah jeruk nipis adalah alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, tanin, dan fenol. Uji fitokimia pada penelitian tersebut menggunakan pelarut air, yang bersifat polar.³⁴ Dibandingkan dengan hasil uji fitokimia peneliti, terdapat perbedaan yaitu ekstrak positif mengandung seluruh kandungan kimia tersebut, tetapi tidak dijumpai adanya saponin dan triterpenoid. Perbedaan hasil dikarenakan metode ekstraksi dan pelarut yang berbeda. Pada penelitian ini memakai pelarut metanol yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan senyawa polar maupun non-polar.³⁵ Namun secara khusus metanol hanya mampu menarik lebih banyak jumlah metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin pada daun *Artocarpus altilis F.* jika dibandingkan dengan etanol.³⁶ Semua senyawa tersebut memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, khususnya *S.mutans* karena mekanisme yang hampir sama yaitu mengganggu permeabilitas dinding sel, menyebabkan kebocoran dinding sel, denaturasi, lisis protein sel sehingga bakteri yang terpapar pertumbuhannya terhambat dan mati.³⁷

S.mutans terdiri dari dinding sel dan membran protoplasma. Matriks dinding sel nya terdiri dari peptidoglikan rantai silang yang mempunyai komposisi gula amino N-asetil, asam N-asetilmuramik dan terdapat beberapa jenis peptida. Struktur antigen *S.mutans* terdiri dari antigen protein, polisakarida yang spesifik dan asam lipoteikoat. Ketiga antigen ini berperan penting dalam imunogenitas *S.mutans*. Dinding sel *S.mutans* memiliki sifat-sifat yang berbeda, antara lain protein antigen I/

II sebagai mediator perletakan *S.mutans* ke glikoprotein saliva dan bakteri lainnya saat pembentukan biofilm, lalu 6 serotype sebagai aderen spesifik, dan GBP (*glucan binding protein*) sebagai pengikat glukon ekstraseluler dan penyebab akumulasi *S.mutans* pada plak gigi.³⁸

Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat ditemukan di setiap tumbuhan hijau, memiliki mekanisme mengikat dan menyusutkan protein. Merupakan zat kimia yang mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri dan sintesis protein sel bakteri gram positif dan gram negatif.³⁹ Tanin mampu mengendapkan gelatin dari larutan, bersifat toksik untuk bakteri, jamur berfilamen dan juga ragi. Telah diteliti bahwa tanin yang diekstrak dari akar tumbuhan *Dichrotachys cinerea* dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Shigella boydii* dan *Shigella flexneri*.⁴⁰

Alkaloid merupakan senyawa nitrogen pada tanaman yang berasal dari hasil metabolisme sekunder. Dapat ditemukan pada daun, kuncup yang masih muda, akar, getah yang diproduksi di dalam tabung getah pada lapisan sel korteks yang berada di bawah epidermis.⁴¹ Alkaloid bersifat aktif secara kimia-biologis, heterosiklik, memiliki aktivitas farmakologi, dapat digunakan dalam pengobatan dan ekologi.⁴² Hasil penelitian Caron menyatakan bahwa alkaloid memiliki sifat antimikrobal terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Myobacterium smegmatitis*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.⁴³

Flavonoid adalah senyawa yang terdiri atas 15 atom karbon yang tersusun menjadi cincin benzena yang terikat dalam rantai propana, membentuk susunan C₆-C₃-C₆ dalam bentuk glikosida. Terdapat pada seluruh bagian tanaman seperti buah, serbuk sari dan akarnya. Dapat menggumpalkan protein, bersifat lipofilik sehingga dapat merusak lapisan lipid pada membran sel bakteri.⁴⁴ Flavonoid mampu menghambat sintesis DNA, RNA, fungsi membran sitoplasma dan metabolisme energi sel sehingga bersifat antijamur, antivirus, dan antibakteri. Senyawa apigenin, salah satu turunan flavonoid dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus*, *S.albus*, *S.epididymis*, *E.faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes* dan *Enterobacter cloacae*.⁴⁵

Fenolik merupakan suatu senyawa kimia yang dapat ditemukan dalam jumlah besar pada jaringan daun, buah, batang dan kayu dari tanaman. Senyawa ini termasuk substansi sekunder tanaman. Berfungsi sebagai pelindung, antioksidan dan antibakteri.⁴⁶ Aktivitas senyawa fenolik sebagai antibakteri yaitu merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme sehingga menyebabkan isi sel nya keluar. Fenolik dapat mendenaturasi protein dinding sel *Candida albicans* dimana dinding sel mengalami kerapuhan sehingga mudah ditembus zat aktif lain yang bersifat fungistatik.⁴⁷ Berdasarkan penelitian Nitiema L.W, senyawa kumarin dan quercetin, yang merupakan turunan fenolik



memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap *E.coli* dan *Enterobacter aerogenes*, dan aktivitas antibakteri moderat pada *Salmonella typhimurium* dan *Salmonella infantis*.⁴⁸

Steroid adalah senyawa organik berupa lemak sterol tidak terhidrolisis yang dapat ditemukan pada tanaman, binatang dan juga jamur. Pada tanaman, steroid diproduksi dari proses inisiasi sintesis sikloartenol. Mekanisme antibakteri senyawa steroid adalah dengan cara merusak membran sel bakteri.⁴⁹ Telah diteliti bahwa steroid yang diekstrak dari akar, batang, kulit pohon, daun serta buah dari tanaman *Withania somnifera*, *Euphorbia hirta* dan *Terminalia chebula* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli*, *Enterobacter aerogenes*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *Proteus mirabilis*, *Raoultella planticola* dan *Bacillus subtilis*.⁵⁰

Triterpenoid adalah senyawa hidrokarbon berupa komponen dan eksudat resin yang diproduksi ketika tanaman menjadi rusak akibat perlindungan fisik terhadap serangan jamur dan bakteri. Komponen triterpenoid resin ini memiliki aktivitas antimikroba yang tinggi, baik mikroba yang berpotensi menyerang atau memperlambat pertumbuhannya sehingga tanaman dapat memperbaiki kerusakannya.⁵¹ Telah diteliti bahwa asam oleanolik dan asam ursolik, turunan senyawa triterpenoid pentasiklik yang diekstrak dari daun tanaman *Alstonia scholaris* dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.⁵²

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Pada konsentrasi yang rendah menyebabkan hemolisis sel darah merah.⁵³ Saponin dapat bersifat antibakteri dengan merusak membran sel. Rusaknya membran menyebabkan substansi penting keluar dari sel dan juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel. Merupakan senyawa polar yang keberadaannya dalam tumbuhan dapat diekstraksi dengan pelarut semi polar dan polar.^{54,56} Saponin yang diekstraksi dari tanaman *Sorghum bicolor* L. Moench telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.^{55,57-59}

Dengan demikian, pada ekstrak buah jeruk nipis terdapat beberapa senyawa kimia aktif yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, tanin dan fenolik yang dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro. Hal ini sejalan dengan penelitian Zenia A.U yang menyatakan bahwa ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan konsentrasi 10% dapat menghambat aktivitas enzim glukosiltransferase (GTFs) *Streptococcus mutans*.⁵⁶ Dengan dilakukannya peningkatan konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis (40%, 60%, 80%), aktivitas antibakteri yang ditimbulkan terhadap *Streptococcus mutans* yang diukur melalui zona hambat juga semakin luas secara signifikan, walaupun tidak terdapat kandungan saponin dan juga triterpenoid.

SIMPULAN

Ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan konsentrasi 40%, 60%, dan 80% dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro. Tidak

terdapat perbedaan zona hambat antara konsentrasi buah jeruk nipis 60% dan 80% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro.

SARAN

1. Perlu diteliti lebih lanjut senyawa aktif pada ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mana yang memiliki daya antibakteri paling besar dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
2. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai seberapa besar kadar zat aktif pada ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).
3. Perlu diteliti lebih lanjut efektivitas antibakteri ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes?. Microbiology-Sgm. 2003 149, 279-294.
2. Tjahja NI dkk. Gambaran Karies Gigi Permanen di beberapa Puskesmas Kota dan Kabupaten Bandung, Sukabumi serta Bogor Tahun 2002. Media Litbang Kesehatan XVI No. 4 Tahun 2006
3. Balitbang Kemenkes RI, Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. 2013. Jakarta
4. Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models. Nutrients. 2010 ;2, 290-298. Kantvik, Finlandia
5. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and Dental Caries. Adv Dent Res. April 2000 14:40-47. Turku, Finlandia
6. Swartz MN dkk. Indigenous Bacteria; Oral Microbiology. Davis BD, editor. Microbiology. 4th ed, Pennsylvania : Jb Lippincot Co. 1989
7. Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models. Nutrients. 2010 ;2, 290-298. Kantvik, Finlandia
8. Salman HA, Senthikumar R. Identification and AntibioGram Profile of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus from Dental Caries Subjects. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol.5 (06), pp. 054-057. June 2015, Tamil Nadu
9. Andiara De Rosi dkk. Antimicrobial Activity of Toothpastes Containing Natural Extracts, Chlorhexidine or Triclosan. Brazilian Dental Journal. 2014 25(3): 186-190, Sao Paulo, Brazil ISSN 0103-6440
10. Wachtel-Galor S, Benzie IFF. Herbal Medicine : Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd ed. Boca Raton (FL) : CRC Press/Taylor & Francis ; 2011. Bab 1. www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92773/
11. Fauzia, Larasati A. Uji Efek Ekstrak Air dari Daun Avokad (*Persea gratissima*) terhadap Streptococcus mutans dari Saliva dengan Kromatografi Lapisan Tipis (TLC) dan Konsentrasi Hambat Minimum (MIC), Majalah Kedokteran Nusantara Volume 41 No. 3. September 2008, Jakarta



12. Thomas ANS. Tanaman Obat Tradisional 1, Yogyakarta: Penerbit Kanisius, 1989. Hal. 11 ISBN 978-979-413-091-9
13. Owhe-Ureghe UB, Ehwarime DA, Eboh DO. Antibacterial activity of garlic and lime on isolates of extracted carious teeth. African Journal of Biotechnology Vol.9 (21), pp.3163-3166. 24 Mei 2010. Delta State, Nigeria ISSN 1684-5315
14. Fajriani dan Mahrum. Effectiveness of Lime (Citrus Aurantifolia) Extract Solution in Inhibiting Bacteria Streptococcus Mutans Case of Early Childhood Caries. Donnish Journal of Dentistry and Oral Hygiene. November 2015 Vol.1 (4) pp.016-020
15. Oikeh EI, Oriakhi K, Omoregie ES. Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. Food Science and Nutrition. 6 Juli 2015. DOI:10.1002/fsn3.268 Benin
16. Camacho-Corona MR dkk. Activity against drug resistant-tuberculosis strains of plants used in Mexican traditional medicine to treat tuberculosis and other respiratory diseases. Phytother Res. 2008 22: 82-85. DOI :10.1002/ptr.2269
17. Pathan R.K., dkk, 2012, *In Vitro Antimicrobial Activity of Citrus aurantifolia and Its Phytochemical Screening*, Life Sciences Feed 1 (2): 13-16, India
18. Okwu DE. Citrus Fruits : A Rich Source of Phytochemicals and Their Roles in Human Health. Int. J. Chem. Sci.: 6(2), 2008, 451-471, Nigeria
19. Astarini dkk. Minyak Atsiri dari Kulit Buah Citrus grandis, Citrus aurantium (L.) dan Citrus aurantifolia (Rutaceae) sebagai Senyawa Antibakteri dan Insektisida. 2010. Prosiding Kimia FMIPA, ITS, Surabaya
20. Okwu DE dkk. Phytochemical Composition and In Vitro Antifungal Activity Screening of Extracts from Citrus Plants against Fusarium Oxysporum of Okra Plant (Hibiscus esculentus). African Crop Science Conference Proceedings. 2007. Vol.8 pp. 1755 – 1758. Nigeria
21. Ashok PK, Upadhyaya K. Tannins are Astringent, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2012, No: 8192, Uttarakhand, India <https://www.phytojournal.com>
22. Mailoa MN dkk. Antimicrobial Activities of Tannins Extract From Guava Leaves (Psidium Guajava L) on Pathogens Microbial. International Journal of Scientific & Technology Research. 2014. Volume 3, Issue 1, Ambon ISSN : 2277-8616
23. Razak A, Djamal A, Revilla G. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro. Jurnal Kesehatan Andalas. 2013; 2(1)
24. Mohammed RMO, Ayoub SMH. Study of Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Citrus aurantifolia Seed Extracts, American Journal of Analytical Chemistry, 2016, 7, 254-259
25. Fajriani, Mahrum. Effectiveness of Lime (Citrus Aurantifolia) Extract Solution in Inhibiting Bacteria Streptococcus Mutans Case of Early Childhood Caries. Donnish Journal of Dentistry and Oral Hygiene. November 2015 Vol 1(4) pp.016-020
26. Kere C. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.) terhadap Fusobacterium nucleatum sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar secara in-vitr. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. 2011. Medan
27. Loesche WJ. Role of Streptococcus mutans in Human Dental Decay. Microbiol.Rev, American Society of Microbiology. 1986 Vol.5 No.4 Michigan
28. Razak A, Djamal A, Revilla G. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro. Jurnal Kesehatan Andalas. 2013; 2(1)
29. Nurkalimah C. Daya Antibakteri Air Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli yang Diuji Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. 2011
30. Putri WD. Uji Aktivitas Antijamur Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle) terhadap Isolat Klinis Candida albicans Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Syiah Kuala. 2014. Aceh
31. Pathan R.K., dkk, 2012, *In Vitro Antimicrobial Activity of Citrus aurantifolia and Its Phytochemical Screening*, Life Sciences Feed 1 (2): 13-16, India
32. Mohammed RMO, Ayoub SMH. Study of Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Citrus aurantifolia Seed Extracts, American Journal of Analytical Chemistry, 2016, 7, 254-259
33. Fajriani, Mahrum. Effectiveness of Lime (Citrus Aurantifolia) Extract Solution in Inhibiting Bacteria Streptococcus Mutans Case of Early Childhood Caries. Donnish Journal of Dentistry and Oral Hygiene. November 2015 Vol 1(4) pp.016-020
34. Oikeh EI, Oriakhi K, Omoregie ES. Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. Food Science and Nutrition. 6 Juli 2015. DOI:10.1002/fsn3.268 Benin
35. Thompson EB. Drug Bioscreening. America: Graceway Publishing Company, Inc: 1985 Pp. 40, 118. dalam Astarina NWG dkk. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (Zingiber purpureum Roxb.). 2013. Fakultas MIPA Universitas Udayana, Bali
36. Suryanto, Wehantouw. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (Artocarpus attilis F.). 2009 dalam Astarina NWG dkk. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (Zingiber purpureum Roxb.) 2013 ISSN: 2301-7716
37. Nuria MC dkk. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas L) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Escherichia coli dan Salmonella typhi, Jurnal Uji Antibakteri. 2009 5(2), h.10-12
38. Lehner T. 1995. dalam Bidarisugma B dkk. Antibodi Monoklonal Streptococcus mutans. BIMKGI Oktober 2012 Vol.1 No.1



39. Ashok PK, Upadhyaya K. Tannins are Astringent, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2012, No: 8192, Uttarakhand, India <https://www.phytojournal.com>
40. Hasborne. 1973 dalam Bansa A, Adeyemo SO. Evaluation of Antibacterial Properties of Tannins Isolated from *Dichrostachys cinerea*. African Journal of Biotechnology. 2007. Vol. 6 (15), pp. 1785-1787, Bida, Nigeria ISSN 1684-5315
41. Sirait M. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Departemen Kimia Fakultas MIPA, Bandung: Penerbit ITB. 2007. Hal. 55-69 ISBN 979-3507-99-3
42. Aniszewski T. 1994 dalam Aniszewski T. Alkaloids - Secrets of Life, Oxford, Inggris : Penerbit Elsevier, 2007, ISBN 978-0-444-52736-3
43. Caron C, Hoizey MJ, Le Men-Olivier L, Massiot G, Zeches M, Choisy C, Le Magrex E. dan Verpoorte R. 1988. Antimicrobial and antifungal activities of quasi-dimeric and related alkaloids. *Planta Medica*, 409-412 dalam Aniszewski T. Alkaloids - Secrets of Life, Oxford, Inggris : Penerbit Elsevier, 2007, ISBN 978-0-444-52736-3
44. Lenny S. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. 2006. Karya Ilmiah. Fakultas MIPA. Universitas Sumatera Utara, Medan.
45. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antibacterial Activity of Flavonoids, International Journal of Antimicrobial Agents. 26 (2005) 343-356, Aberdeen, Inggris (*Abstr.*)
46. Haslam E. 1989; Field JA, Lettinga G. 1992; Cowan MM. 1999 dalam Nitiema LW dkk. In Vitro Antimicrobial Activity of Some Phenolic Compound (Coumarin and Quercetin) Against Gastroenteritis Bacterial Strains. 2012. International Journal of Microbiology Research 3(3): 183-187. 2012. Ouagadougou, Burkina Faso.
47. Septiadi T, Pringgenies D, Radjasa OK. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Keling (*Holothuria atra*) Dari Pantai Bandengan Jepara Terhadap Jamur *Candida albicans*. Journal Of Marine Research. 2013. 76-84.
48. Nitiema LW dkk. In Vitro Antimicrobial Activity of Some Phenolic Compound (Coumarin and Quercetin) Against Gastroenteritis Bacterial Strains. 2012. International Journal of Microbiology Research 3(3): 183-187. 2012. Ouagadougou, Burkina Faso. ISSN: 2079-2093
49. Schaller H. The role of sterols in plant growth and development. *Prog.Lipid Res.* 2003. 42: 163-175. Paris, Perancis: Penerbit Elsevier.
50. Singh G dkk. Antibacterial Potential of Sterols of Some Medicinal Plants. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Vol. 4, Issue 3, 2012, University of Rajasthan
51. Heinrich dkk. Farmakognosi dan Fisioterapi (terj.) Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, 2009
52. Min Wang C dkk. Antibacterial and Synergistic Activity of Pentacyclic Triterpenoids Isolated from *Alstonia scholaris*. Journal of 2016, Taichung, Taiwan <http://www.mdpi.com/journal/molecules>
53. Robinson. 1995; IndoBC. 2005 dalam Nuria MC dkk. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Dan *Salmonella typhi* ATCC 1408, *Mediagro* 26 Vol 5. No 2, 2009: hal 26 – 37
54. Oesman F, Murniana, Khairunnas M, Saidi N. Antifungal Activity of Alkaloid from Bark of *Cerebra odollam*. *Jurnal Natural*. 2010 10(2): 18-21
55. Soetan KO dkk. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Saponins Extract of *Sorghum Bicolor L. Moench*, African Journal of Biotechnology. 2006. Vol. 5 (23), pp. 2405-2407, Ibadan, Niger ISSN 1684-5315
56. Zenia AU dkk. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*, 2013. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta
57. Tandio D, Manuaba A. Safety Procedure for Biosafety and Controlling a Communicable Disease: *Streptococcus Suis*. *Bali Medical Journal*. 2016;5(2): 260-262. DOI:10.15562/bmj.v5i2.220.
58. Amertha IBPM, Soeliongan S, Kontul C. In vitro inhibition zone test of binahong (*Andrea cordifolia*). Towards *staphylococcus aureus*, *enterococcus faecalis*, *escherichia coli*, and *pseudomonas aureginosa*. Indonesian Journal of Biomedical Science. 2012;6(1):30-34.
59. Sukrama DM, Wihandani DM, Manuaba AM. Topical binahong (*Anredera cordifolia*) leaf extract increase inteleukin-6 and VEGF (vascular endothelial growth factor) during burn wound healing in wistar rats infected with *pseudomonas aureginosa*. *Biol Med (Aligarh)*. 2017;9(1):369. DOI: 10.4172/0974-8369.1000369.

