

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK BUAH JERUK NIPIS (*CITRUS AURANTIFOLIA*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *ENTEROCOCCUS FAECALIS* SECARA *IN VITRO*

Annisa Fajriatul Arafah¹, Vivi Triana², Murniwati¹

¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas

²Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Andalas

ABSTRACT

Enterococcus faecalis is a normal microorganism in root canal teeth, anaerobic facultative, and gram positive cocci. This bacteria is opportunistic that cause secunder infection in root canal. Lime (*Citrus aurantifolia*) is one of the plants which have antimicrobial activity because lime contains flavonoid and citric acid. Flavonoids can denature proteins in bacterial cell and damaging the cell membrane. Citric acid can damaging the bacterial cell wall and inhibiting bacterial enzymes activity. The purpose of this study was to examie the effectiveness lime extract in various concentration in inhibiting *Enterococcus faecalis* in in-vitro. The research method was experimental laboratories with posttest only control group design. Samples were used in this research are *Enterococcus faecalis* bacteria in M. Djamil's Hospital Microbiology Laboratory, Padang. This research was conducted at organic chemistry of natural materials laboratory FMIPA UNAND and Kopertis Wilayah X Padang laboratory. Early stage was done by making extracts of lime with concentrations are 25%, 50%, 75%, and 100%. Then, the extracts was tested into the bacteria with the diffusion method used papper disk. The inhibition zone formed between lime extracts in various concentrations to the growth of *Enterococcus faecalis* were calculated using calipers. Data was analyzed by using Kruskal Wallis test and Mann-Whithney test with confidence interval of 95%. The result presented that 25%, 50%, 75%, and 100% lime extracts have inhibition activity in inhibiting the growth of *Enterococcus faecalis*, and the higher the concentration of the extracts, the greater the inhibition zone formed.

Keywords: *citrus aurantifolia*, diffusion, *Enterococcus faecalis*, inhibition zone

Affiliasi penulis: ¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas **Korespondensi:** murniwati, email: murniwati@dent.unand.ac.id

PENDAHULUAN

Enterococcus faecalis merupakan mikroorganisme normal yang bisa ditemukan di saluran akar gigi yang termasuk ke dalam golongan bakteri gram postif, *fakultatif anaerob*. Bakteri ini bersifat opportunistik yang nantinya dapat menyebabkan terjadinya infeksi sekunder saluran akar. Studi kultur bakterial dan molekular menegaskan bahwa *Enterococcus faecalis* merupakan salah satu bakteri dengan prevalensi terbanyak yang

ditemukan pada saluran akar pasca perawatan endodontik.¹⁻⁴ Spesies ini ditemukan pada 18% kasus infeksi endodontik primer dan 67% pada kasus infeksi gigi setelah perawatan saluran akar. Hal ini disebabkan karena kemampuannya untuk berkompetisi dengan mikroorganisme lain dalam invasinya ke tubulus dentin, mampu bertahan pada keadaan nutrisi yang rendah, serta mudah beradaptasi pada kondisi yang kurang menguntungkan seperti hiperosmolariti, panas, asam, dan basa. Kemampuan unik lainnya dari bakteri *Enterococcus faecalis* ini yaitu mampu bertahan pada lingkungan

ekstrim yaitu pada suhu 10⁰C dan 45⁰C, pada pH 9,5, pada larutan NaCl 6,5%, dan dapat bertahan pada suhu 60⁰C selama 30 menit.⁵⁻⁷ Untuk itu, dibutuhkan suatu bahan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

Indonesia memiliki banyak kekayaan alam hayati yang dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional ataupun herbal. Salah satu bahan alam yang mulai dikembangkan di bidang kesehatan ialah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Buah ini banyak dimanfaatkan masyarakat luas karena mempunyai harga yang relatif murah, mudah diperoleh, alamiah, banyak digemari masyarakat di Indonesia serta tidak menimbulkan efek samping bagi pemakainya. Jeruk nipis merupakan tumbuhan *polyembrionic* sejenis tanaman perdu yang banyak tumbuh di daerah tropis maupun subtropis. Jeruk nipis berasal dari daerah Asia Tenggara khususnya Indonesia dan Malaysia.⁸

Jeruk nipis juga dikenal sebagai salah satu tanaman yang mempunyai aktivitas antimikroba yang efektif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif.^{9,10} Hal ini disebabkan karena jeruk nipis memiliki kandungan flavonoid dan asam sitrat yang mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat.^{11,12} Flavonoid yang banyak terkandung pada kulit jeruk nipis

merupakan golongan senyawa polifenol yang dapat bekerja sebagai antioksidan dan antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel bakteri.¹³ Selain itu, asam sitrat yang banyak terdapat pada air perasan atau bulir daging buah jeruk nipis juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri yang nantinya dapat menghambat aktivitas enzim bakteri.³

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fajriani dan Mahrum pada tahun 2015 menjelaskan bahwa dengan larutan ekstrak jeruk nipis 40% mampu menurunkan jumlah koloni bakteri pada waktu 30 menit setelah berkumur.¹⁴ Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Aldi pada tahun 2016 mengungkapkan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis konsentrasi 25% sudah menunjukkan efek antibakteri terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* secara in vitro. Pada penelitian ini dijelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak kulit jeruk nipis maka semakin besar zona inhibisi yang terbentuk.¹⁵ Berdasarkan penelitian Ramadhinta pada tahun 2016 dijelaskan bahwa air perasan jeruk nipis konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.³ Namun, belum

ada penelitian yang membahas mengenai efektivitas ekstrak buah jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Untuk itu, peneliti ingin melakukan penelitian mengenai efektivitas ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan *Posttest Only Kontrol Group Design* yang dilakukan pada 30 sampel. Alat yang digunakan pada penelitian adalah sterilisator, lampu spiritus, tabung reaksi, alumunium foil, neraca analitik, cawan petri, rak tabung, tabung erlenmeyer, *vacuum rotary evaporator*, botol kaca gelap, botol ekstraksi, inkubator, pinset, spatula, kertas saring, lampu UV, ose bulat, kapas, kasa steril, masker, handsoon, *drill glass*, jangka sorong, pipet tetes, spidol, dan gunting. Bahan yang digunakan pada penelitian adalah ekstrak buah jeruk nipis, biakan bakteri *Enterococcus faecalis*, DMSO, MHA, Nutrient Agar, etanol 96%, NaCl 0,9%, dan aquades.

Prosedur penelitian dimulai dengan sterilisasi semua alat yang akan digunakan. Setelah itu pembuatan

ekstrak buah jeruk nipis dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan dilanjutkan dengan rotary menggunakan *Vacuum Rotary Evaporator* untuk memisahkan ekstrak dengan bahan pelarut. Ekstrak dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% didapatkan dengan cara pengenceran menggunakan DMSO. Suspensi bakteri dibuat dengan cara mengambil koloni bakteri menggunakan ose dan dimasukkan kedalam tabung berisi NaCl 0,9% hingga didapatkan kekeruhan yang sesuai dengan standar Mc.Farland 0,5. Suspensi bakteri tersebut ditetaskan diatas MHA pada cawan petri dan diratakan dengan *drill glass* lalu tempelkan kertas cakram yang sudah terlebih dahulu direndam pada larutan ekstrak dan larutan kontrol, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Setelah 24 jam, dilihat zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dan lakukan pengukuran diameter daya hambat menggunakan *sliding caliper* dan dirata-ratakan. Selanjutnya, data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram yang direndam pada ekstrak buah jeruk nipis,

sedangkan pada larutan kontrol DMSO tidak terbentuk zona hambat. Hasil pengukuran rata-rata diameter daya hambat yang terbentuk pada percobaan yang dilakukan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata diameter daya hambat setiap perlakuan

Kelompok		n	x ±sd	Ket
Ekstrak buah jeruk nipis 25%		6	15,36 ± 0,838	Kuat
Ekstrak buah jeruk nipis 50%		6	20,03 ± 1,918	Sangat kuat
Ekstrak buah jeruk nipis 75%		6	26,37 ± 1,593	Sangat kuat
Ekstrak buah jeruk nipis 100%		6	29,29 ± 0,542	Sangat kuat
DMSO		6	0,00 ± 0,000	-

Keterangan:

x = rata-rata diameter daya hambat
sd = standar deviasi

Hasil penelitian pada tabel 1 menunjukkan keempat konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis memiliki daya hambat yang berbeda-beda. Berdasarkan nilai rata-rata dan standar deviasi daya hambat, ekstrak buah jeruk nipis yang menghasilkan daya hambat terbesar adalah ekstrak buah jeruk nipis konsentrasi 100% sedangkan ekstrak buah jeruk nipis yang menghasilkan daya hambat terkecil adalah ekstrak buah jeruk nipis konsentrasi 25%. Akan tetapi dari keempat konsentrasi tersebut, mulai dari konsentrasi 50% sampai konsentrasi 100% tergolong sangat kuat, sedangkan konsentrasi 25% tergolong kuat.

Data yang diperoleh dari setiap perlakuan diolah secara statistik untuk menganalisis efektivitas ekstrak jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Analisis bivariat diawali dengan uji normalitas data. Uji normalitas yang dilakukan adalah uji *Shapiro Wilk*. Pada uji normalitas *Shapiro Wilk* didapatkan nilai $p = 0,000$, ini berarti distribusi data tidak normal karena nilai p yang didapatkan kecil dari 0,05. Selanjutnya data diuji dengan *Levene test*. Hasil uji *Levene test* didapatkan nilai $p = 0,127$ hal ini menunjukkan data memiliki varian yang sama (homogen) karena nilai p besar dari 0,05. Berdasarkan hasil uji tersebut, maka pengolahan data diuji menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena distribusi data tidak normal. Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p = 0,000$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Untuk mengetahui perbedaan hambatan pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* antar kelompok perlakuan, dilakukan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai p perbedaan ekstrak buah jeruk nipis antara masing-masing konsentrasi

Kelompok perlakuan	Ekstrak buah jeruk nipis				DMSO
	25%	50%	75%	100%	
Ekstrak buah jeruk nipis 25%	-	0,004	0,004	0,004	0,002
Ekstrak buah jeruk nipis 50%	0,004	-	0,006	0,004	0,002
Ekstrak buah jeruk nipis 75%	0,004	0,006	-	0,004	0,002
Ekstrak buah jeruk nipis 100%	0,004	0,004	0,004	-	0,002
DMSO	0,002	0,002	0,002	0,002	-

Hasil uji *Mann-Whitney* dengan tingkat kepercayaan 95% didapatkan nilai $p < 0,05$ pada masing-masing kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa antara masing-masing konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis memiliki perbedaan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* yang signifikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak buah jeruk nipis konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Adanya daya hambat dibuktikan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram yang digunakan. Besar nilai daya hambat yang terbentuk berbeda-beda tiap konsentrasi. Perbedaan besar daya hambat bakteri dapat dikategorikan kedalam 4 kategori Menurut David dan Stout pada tahun 1971, yaitu kategori sangat kuat dengan daya hambat > 20 mm, kategori kuat dengan daya hambat

antara 10 – 20 mm, kategori sedang dengan daya hambat 5 – 10 mm, dan kategori lemah dengan daya hambat < 5 mm.¹⁶

Diameter daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis 100% yaitu 29,29 mm yang tergolong sangat kuat. Diameter daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis 75% yaitu 26,37 mm yang tergolong sangat kuat. Diameter daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis 50% yaitu 20,03 mm yang tergolong sangat kuat. Diameter daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis 25% yaitu 15,36 mm yang tergolong kuat. Diameter daya hambat yang terbentuk pada larutan kontrol DMSO yaitu 0,00 mm yang berarti tidak adanya daya hambat bakteri. Berdasarkan nilai daya hambatnya, terlihat semakin besar konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis maka semakin besar daya hambat yang terbentuk. Perbedaan besar daya hambat disebabkan oleh perbedaan kadar zat aktif seperti flavonoid dan asam sitrat pada tiap-tiap konsentrasi. Penelitian yang dilakukan oleh Sarah,dkk pada tahun 2014 mengungkapkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak jeruk nipis, maka semakin tinggi kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak jeruk nipis yang

dihasilkan.¹² Penelitian yang dilakukan oleh Aldi pada tahun 2016 menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Pada penelitian ini dijelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak kulit jeruk nipis maka semakin besar zona inhibisi yang terbentuk.¹⁵ Penelitian yang dilakukan oleh Ramadhinta pada tahun 2016 dijelaskan bahwa air perasan jeruk nipis konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dan didapatkan hasil bahwa semakin besar konsentrasi air perasan jeruk nipis semakin besar daya hambat yang terbentuk.³

Daya hambat yang terdapat pada ekstrak buah jeruk nipis disebabkan adanya kandungan dalam ekstrak buah jeruk nipis yang bersifat antibakteri seperti flavonoid dan asam sitrat.^{11,12} Flavonoid bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel bakteri sehingga menyebabkan kematian pada bakteri. Selain itu, flavonoid pada jeruk nipis juga dapat menghambat sintesis asam nukleat, merusak sitoplasma bakteri, serta menghambat metabolisme energi pada bakteri sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat. Kerusakan membran sitoplasma juga menyebabkan

keluarnya asam amino dan nukleotida sehingga mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel dan menyebabkan kematian bakteri.^{2,3,17} Kandungan asam sitrat pada buah jeruk nipis juga memiliki daya antibakteri. Mekanisme kerjanya yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak dinding sel bakteri lalu masuk ke dalam inti sel bakteri, mengganggu proses respirasi sel, dan menghambat aktivitas enzim bakteri.³ Sesuai penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Yahya pada tahun 2016 mengenai Pengaruh Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis* dijelaskan bahwa kandungan flavonoid dan asam sitrat pada air perasan jeruk nipis memiliki daya antibakteri.² Penelitian yang dilakukan Ladytama pada tahun 2014 mengenai Efektivitas Larutan Ekstrak Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Obat Kumur Terhadap Penurunan Indeks Plak Pada Remaja Usia 12 – 15 Tahun didapatkan hasil bahwa kandungan flavonoid pada jeruk nipis bersifat bakterisid yang dapat menghambat dan membunuh aktivitas bakteri, virus, dan jamur.¹² Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p < 0,05$. Berdasarkan nilai tersebut dapat ditarik kesimpulan statistik terhadap hipotesis penelitian yaitu

terdapatnya perbedaan keefektivan ekstrak buah jeruk nipis (*Cistrus aurantifolia*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.¹⁸

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah jeruk nipis, semakin besar daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

KEPUSTAKAAN

1. Mulyawati, Erna. Peran Bahan Disinfeksi pada Perawatan Saluran Akar. *Maj Ked Gigi*. 2011 Vol 18(2) : 206
2. Yahya, Hilmi. Pengaruh Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*Swingle) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis*Dominan Pada Saluran Akar Secara *In Vitro* [online]. Tersedia : [www.eprints.ums.ac.id/28357/2/BA BI.pdf](http://www.eprints.ums.ac.id/28357/2/BA%20BI.pdf). [23 November 2015]
3. Ramadhinta, TM.,M. Yanuar., Lia Yulia. Uji Efektivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Alami terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* In Vitro. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2016; Vol I(2) : 125-126
4. Pinheiro and Mayer. *Enterococcus faecalis* in Infections. *Journal Interdisciplinary Medicine and Dental Science*. 2014; Vol 3(1) : 1-2
5. Santoso, ML.,Achmad, Sudirman., Laksmiari, Setyowati. Konsentrasi hambat minimum larutan propolis terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. *Jurnal PDGI*. 2012; Vol 61(3) : 97
6. Wardhana, DV., Mandoja, Rukmo., Ananta TB. Daya Antibakteri Kombinasi Metronidazol, Siprofloksasin, dan Minosiklin terhadap *Enterococcus faecalis*. *Jurnal Konservasi Gigi*. 2008; Vol 1(1) : 23-24
7. Haikal,Rahul.,Mithra, NH., Kiran, Haikal. *Enterococcus faecalis* Can Survive Extreme Challenges- Overview. *Nitte University Journal of Health Science*. 2012; vol 2(3) : 50
8. Diakses pada 25 November 2016. Tersedia : <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page.id=183>
9. Das, T and Pradeep. Microbial Etiology of Root Canal Treatment

- Failure. *International Journal of Pharmacy and Technology*. 2016.; Vol 8(3) : 4558 - 4563
10. Daokar, Sadashiv and Anita, Kalekar. Endodontic Failures - A Review. *IOSR Journal of Dental and Medical Science*. 2013; Vol 4(5) : 6-9
 11. Lauma, SW., Damajanty, Pangemanan., Bernart, Hutagalung. Uji Efektivitas Perasan Air Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Pharmacon jurnal ilmiah farmasi UNSRAT*. 2015; Vol 4(4) : 10
 12. Ladytama, Rr., Arlina, Nurhapsari., Moh, Baehaqi. Efektivitas Larutan Ekstrak Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai Obat Kumur terhadap Penurunan Indeks Plak pada Remaja Usia 12-15 Tahun. *ODONTO Dental Journal*. 2014; Vol 1(1) : 42-43
 13. Adindaputri, Zenia., Nunuk, Purwanti., Ivan, AW. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) Konsentrasi 10% terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. *Maj Ked Gi*. 2013; Vol 20(2) : 127-130
 14. Fajriani and 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*. 2015; Vol 1(4) : 019
 15. Aldi, A. Efektivitas Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan NaOCl 5,25% sebagai Alternatif Larutan Irigasi Saluran Akar dalam Menghambat Bakteri *Enterococcus faecalis*. 2016. Skripsi. Universitas Hasanuddin
 16. Davis, W.W., dan T. R. Stout. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 1971; Vol 22 (4) : 659 – 665.
 17. Enejo, OS., Ibukun, Oladejo., Madu, SB., Isaiah, SO., Mohammed, MS., Suleiman, FA. Ethnomedical Importance of *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle. *The pharma innovation journal*. 2015; Vol 4(8) : 01-04
 18. Dahlan, Sopiudin. *Statistik untuk Kesehatan dan Kedokteran*. 2006. Jakarta : Epidemiologi Indonesia