

DOI: 10.21009/Bioma18(2).2

Research article

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK LIMAU (*Citrus amblycarpa* (HASSK.) OCHSE) DALAM MENGENDALIKAN BAKTERI *Streptococcus mutans*

Muhammad Junaedi<sup>1,\*</sup><sup>1</sup> Program Tadris IPA-Biologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Mataram

\* Corresponding author: muhammadjunadi234@gmail.com

---

### ABSTRACT

Dental caries is an infection disease of tooth tissue caused by *Streptococcus mutans* bacteria. Atsiri is essential oil is a liquid-shaped compound that is thought to have potential as an antibacterial. The purpose of this study was to determine the antibacterial potential of essential oil of limau lime in controlling *Streptococcus mutans* bacteria. The antibacterial test in this study used disk diffusion method with 8 treatment groups and 4 replications is 5 concentrations of atsiri oils, 1 positif disc amoxicillin antibiotic, 2 negative control with DMSO and aquades. The data obtained were analyzed with normality test, Anova test and BNT test. Isolation of atsiri's oil of limau lime in this study using the method of steam-water distillation. *Streptococcus mutans* bacteria were isolated from dental caries patients and tested using macroscopic, microscopic, gram staining, and biochemical methods. The study found that the atsiri oils of limau lime has antibacterial activity in vitro against *Streptococcus mutans* bacteria, as evidenced by the formation of an inhibit zone. Concentration as 100% with 15.38mm inhibitory zone diameter is the most effective concentration to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* bacteria. The statistical analysis revealed a significant influence between the treatments at the 5% significance level.

Keywords: dental, atsiri oils, *Streptococcus mutans*

---

### PENDAHULUAN

Karies gigi adalah penyakit infeksi bakteri pada gigi yang prevalensinya paling tinggi pada masyarakat, tepatnya menginfeksi pada jaringan gigi seperti email, dentin dan sementum kemudian meluas ke arah pulpa. Karies gigi disebabkan oleh aktivitas mikroba pada rongga mulut dengan memfermentasikan karbohidrat yang proses terjadinya dimulai dengan pembentukan plak (*biofilm*) dari koloni bakteri dan sukrosa, serta sisa-sisa makanan pada permukaan gigi yang tergenang saliva kemudian dengan cepat menebal (Warna *et al.*, 2011). Data Kementerian Kesehatan tahun 2014 menyebutkan bahwa 90% penduduk Indonesia mengalami masalah pada gigi dan mulut salah satunya adalah karies gigi (Anugrah *et al.*, 2018). Mikroba yang sering dijumpai dalam rongga mulut adalah golongan *Streptococcus*. Bakteri *Streptococcus mutans* adalah salah satu bakteri oral patogen yang menyebabkan karies gigi. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus yang hidup dengan cara berkoloni dan biasanya melekat pada permukaan gigi. Bakteri ini bersifat kariogenik pada mulut karena mampu mengubah karbohidrat dari makanan yang dikonsumsi menjadi asam melalui proses fermentasi sehingga bakteri ini dikenal bersifat asidogenik yaitu bakteri yang mampu menghasilkan asam asidodurik berupa suatu polisakarida ekstra sel berbentuk cairan lengket (*dextran*) yang mampu mendukungnya melarutkan email gigi (Forssten *et al.*, 2010).

Polisakarida ekstra sel ini terdiri atas polimer glukosa yang menyebabkan matriks plak mempunyai konsentrasi seperti gelatin yang sangat lengket sehingga bakteri dapat mudah melekat pada permukaan gigi dan berkoloni kemudian menjadi dasar terbentuknya plak. Plak makin lama akan semakin menebal sehingga fungsi saliva dapat terhambat dalam melakukan aktivitas bakterinya (Artha *et al.*, 2022). Jika proses ini berlangsung lama dalam waktu berbulan-bulan, sampai bertahun-tahun akan menimbulkan lubang pada gigi yang disebut karies. Jika dibiarkan dan tidak diobati maka dapat menyebabkan rasa sakit, dan infeksi bahkan kehilangan gigi. Beberapa penyakit gigi yang disebabkan oleh bakteri dan banyak dikeluarkan oleh masyarakat diantaranya keberadaan plak gigi, karang gigi dan karies gigi.

Plak gigi merupakan endapan yang terbentuk pada gigi akibat sisa makanan dan protein yang bercampur dengan bakteri dalam mulut. Plak yang dibiarkan menumpuk dalam jangka waktu yang lama dan lama kelamaan akan mengeras menyebabkan karang gigi. Sedangkan karies gigi merupakan lubang pada gigi yang timbul akibat sisa makanan dan gula yang diubah menjadi asam oleh bakteri dan merusak lapisan gigi sehingga menyebabkan lubang. Pengobatan sekaligus pencegahan penyakit yang timbul akibat bakteri tersebut dapat dilakukan secara mekanik dan kimiawi. Secara mekanik dapat dilakukan dengan pembersihan karang pada gigi, plak gigi dan karies gigi dengan mengkonsultasikannya kedokter ahli. Akan tetapi sebagian dari masyarakat masih enggan dan malas datang ke dokter meskipun mengalami gangguan kesehatan gigi. Masyarakat pedesaan misalnya hanya membersihkan gigi dengan pasta gigi saja, padahal menyikat gigi sebenarnya belum cukup untuk menjaga kesehatan gigi (Alhamda, 2011).

Metode preventif yang telah dilakukan untuk mencegah infeksi bakteri *Streptococcus mutans* dan bakteri oral patogen lainnya adalah dengan antibiotik. *Chlorhexidine* merupakan antibiotik dengan bentuk obat kumur yang biasa digunakan masyarakat, akan tetapi penggunaan obat kimia secara terus menerus dalam jangka panjang dinilai memiliki efek samping dan tingkat keamanan yang rendah. Efek samping yang ditimbulkan adalah kekeringan pada mulut, iritasi pada mulut dan tenggorokan, perubahan rasa pada lidah, serta memberikan bekas warna pada lidah dan gigi. Untuk itu perlu diupayakan untuk beralih ke alternatif lain yang lebih aman, yakni dengan mencari agen antibakterial yang berasal dari tanaman salah satunya adalah jeruk limau (Nasution *et al.*, 2021).

Jeruk limau memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia karena mengandung senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakterial yaitu minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan minyak yang berasal dari tanaman yang bersifat mudah menguap, biasanya digunakan untuk membuat parfum karena mempunyai bau yang khas. Menurut Agusta (2000), kulit buah jeruk limau segar mengandung minyak atsiri yang merupakan senyawa antibakterial (Nareswari & Kuncoro, 2016). Beberapa penelitian yang menunjukkan kemampuan minyak atsiri sebagai antibakterial diantaranya adalah penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.* (2013), hasil destilasi minyak atsiri dari kulit buah jeruk Pontianak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian tersebut menunjukkan konsentrasi 2,5% minyak atsiri paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata zona hambat 19 mm dan 21 mm dan memiliki tingkat resistensi lebih tinggi pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Oleh karenanya manuskrip ini menyajikan hasil penelitian aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk limau (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Ochs) dalam mengendalikan salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit karies pada gigi yaitu bakteri *Streptococcus mutans*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat destilasi, corong pemisah, timbangan analitik, inkubator, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, *paper disk*, magnetik *stirrer*, pinset,

mikropipet, gelas kimia, jarum ose, laminar air flow, kaca benda, erlenmeyer, mikroskop, penggaris, kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa kulit jeruk limau, *medium Nutrient Agar* (NA), *medium Mueller Hinton Agar* (MHA), NaCl steril, aquades, *Nutrient Broth* (NB), larutan *Dimetil sulfoksida* (DMSO), kapas, tisu, aluminum foil, kristal violet, lugol, safranin dan alkohol.

Data diperoleh melalui percobaan eksperimen. Secara keseluruhan prosedur kerja dalam penelitian ini mengacu kepada standar operasional prosedur sterilisasi, semua alat yang digunakan harus steril. Prosedur yang dilakukan terdiri dari isolasi minyak atsiri isolasi bakteri, pemurnian bakteri, pengamatan morfologi koloni dan sel bakteri kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri yang meliputi pembuatan media agar miring, penanaman bakteri, pembuatan media cair *Nutrient Broth* (NB), penanaman bakteri pada media cair (suspensi bakteri), pembuatan media *Muller Hinton Agar* (MHA), inokulasi bakteri dan dan terakhir uji daya hambat dengan mengukur zona hambat yang terbentuk.

### **Isolasi Minyak Atsiri**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jeruk limau (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Ochse) yang masih segar dan dipetik langsung dari pohonnya. Jeruk limau kemudian dikupas untuk diambil kulitnya, selanjutnya dipotong kecil-kecil kemudian ditimbang beratnya menggunakan timbangan analitik. Proses pemisahan minyak atsiri dari kulit jeruk limau dilakukan dengan destilasi uap air yaitu sekitar  $\pm 283,93$  gram dimasukkan kedalam labu kemudian didestilasi secara bertahap, setiap kali destilasi dicampur dengan aquades. Selama proses destilasi suhu dan tekanan tetap dikontrol, dengan suhu  $30^{\circ}\text{C}$  dan tekananya 3-4 atm. Proses destilasi dihentikan apabila destilat yang keluar dari kondensator sudah terlihat jernih, hasil destilasi uap berupa campuran minyak dengan air, selanjutnya minyak dibebaskan dari sisa-sisa air dalam corong pemisah.

### **Isolasi Bakteri *Streptococcus mutans***

Untuk mendapatkan bakteri *Streptococcus mutans* terlebih dahulu mencari probandus manusia yang menderita karies gigi dicirikan dengan gigi yang nampak terlihat coklat, bercak kuning, hitam dan berlubang. Setelah itu bakteri diisolasi dengan teknik swab dengan mengoleskan cotton swab steril di permukaan gigi yang mengalami karies kemudian dimasukkan kedalam plastik steril dan dibawa ke laboratorium. Media isolasi yang digunakan adalah media nonselektif yaitu *Nutrien Agar* (NA). Media nonselektif ini digunakan untuk menumbuhkan dan memelihara bakteri, media NA dilarutkan dengan aquades kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer lalu disterilkan, dan dituangkan ke dalam cawan petri steril.

Hasil sampel swab kemudian dioleskan ke dalam dalam tabung reaksi pada pengenceran  $10^{-1}$  hingga pengenceran  $10^{-5}$  diambil sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet volume 1 ml steril, kemudian dituangkan ke dalam masing-masing cawan petri yang telah dituangkan media Nutrien Agar steril. Selanjutnya masing-masing cawan petri dibungkus dan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-72 jam. Seleksi awal dilakukan dengan memilih bakteri yang memiliki kenampakan koloni, bentuk, ukuran, dan warna yang berbeda. Bakteri yang memiliki karakter gram positif dimurnikan kembali di media yang sama.

### **Tahap Pemurnian**

Pada tahap pemurnian dimulai dengan memilih koloni bakteri yang mencirikan bakteri gram positif sehingga didapatkan isolat murni. Mensterilkan jarum ose bulat, lalu disentuhkan pada permukaan koloni bakteri kemudian diinokulasikan pada permukaan medium NA dengan metode gores. Hal ini dilakukan beberapa kali sehingga didapatkan koloni yang murni dari bakteri gram positif. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam.

## **Pengamatan Morfologi Koloni dan Sel Bakteri**

Dari koloni yang diperoleh kemudian diamati sifat-sifat morfologinya yaitu bentuk tepian, elevasi, dan warna. Sedangkan pada pengamatan karakterisasi sel bakteri meliputi bentuk sel, pewarnaan gram, pewarnaan spora, dan uji fisiologi serta biokimia. Dari hasil karakterisasi bakteri dilakukan pendugaan bakteri dengan berpedoman pada buku *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria* (Cowan dan Steel's 1974) selanjutnya dilakukan pewarnaan gram bakteri dan uji biokimia meliputi uji motilitas, uji oksidase, uji katalase, uji urease, uji kandungan gula, uji manitol, uji voges proskeur. Setelah diperoleh isolat bakteri yang diinginkan melalui proses identifikasi, prosedur selanjutnya dapat dilanjutkan yaitu uji aktivitas antibakteri.

## **Uji Aktivitas Antibakteri**

### *Pembuatan Media Agar Miring*

Media agar miring yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dibuat dengan cara menimbang *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 2,8 gram. Kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 200 ml kemudian ditambahkan 100 ml aquades. Memanaskan media tersebut menggunakan *hot plate* sampai mendidih agar media larut sempurna. Selanjutnya menuangkan 5 ml *Nutrient Agar* kedalam tabung reaksi steril. Kemudian media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Selanjutnya media steril diletakkan dengan kemiringan yang diinginkan lalu tunggu hingga mengeras.

### *Penanaman Bakteri*

Kultur bakteri *Streptococcus mutans* yang telah diisolasi diambil menggunakan jarum ose bundar. Kemudian bakteri digoreskan rapat pada media agar miring secara zig-zag dari bawah sampai atas. Selanjutnya biakan diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24 jam.

### *Pembuatan Media Cair Nutrient Broth (NB)*

Menimbang media NB sebanyak 3,25 gram dimasukkan kedalam Erlenmeyer 500 ml kemudian ditambahkan 250 ml aquades. Memanaskan media NB menggunakan *hot plate* serta diaduk hingga mendidih dan homogen. Media yang telah homogen kemudian dituangkan kedalam erlenmeyer 500 ml sebanyak 30 ml NB. Kemudian media disterilkan dengan cara di autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C, selanjutnya media didiamkan selama 24 jam.

### *Penanaman Bakteri pada Media Cair (Suspensi Bakteri)*

Penanaman bakteri uji pada media cair dengan langkah mengambil satu koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada media miring menggunakan jarum ose steril. Selanjutnya koloni bakteri dimasukkan kedalam media cair sehingga mencapai kekeruhan yang ekuivalen dan disesuaikan dengan larutan standar 0,5 Mc Farland ( $1 \times 10^8$  CFU/ml).

### *Pembuatan Media Muller Hinton Agar (MHA)*

Pembuatan media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan menimbang media MHA sebanyak 38 gram, kemudian ditambahkan aquades 1000 ml. Selanjutnya media MHA diaduk dan dipanaskan menggunakan *hot plate*. Selanjutnya media MHA dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C untuk mensterilkan media. Kemudian media dituang kedalam cawan petri steril sebanyak 15 ml dan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF).

### *Inokulasi Bakteri*

Suspensi bakteri yang sudah dibuat dioles pada cawan petri yang berisi media *Muller Hinton Agar* (MHA) menggunakan *cotton swab*, satu kali pengambilan dioleskan merata pada media.

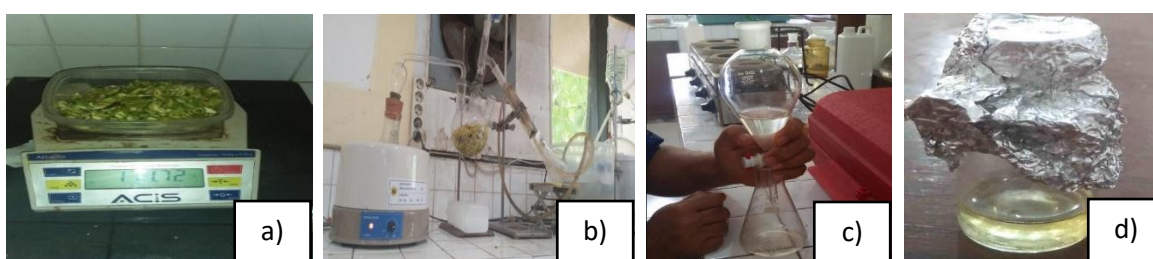
### Uji Daya Hambat

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar, yaitu dengan menyiapkan 32 buah *paper disk* yang masing-masing dibagi 4 kelompok ulangan, 5 perlakuan konsentrasi untuk minyak atsiri jeruk limau, 1 kontrol positif menggunakan amoksisilin dan 2 kontrol negatif menggunakan aquades dan larutan DMSO. Masing-masing cawan petri diletakkan satu buah *paper disk* sesuai perlakuan, kemudian menempatkan *paper disk* diatas medium yang terdapat biakan bakteri *Streptococcus mutans* selanjutnya ditekan dengan pinset agar *paper disk* benar-benar menempel pada media. Selanjutnya cawan petri tersebut diinkubasi dengan temperatur 37°C selama 1×24 jam. Untuk mengetahui daya hambat sampel dilakukan pengukuran zona inhibisi yaitu daerah jernih pada permukaan medium disekitar *paper disk* dengan menggunakan penggaris.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Isolasi Minyak Atsiri

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 283,93 gram kulit jeruk limau menghasilkan minyak atsiri murni berwujud cairan berwarna kuning dan mempunyai aroma yang khas, diperoleh sebanyak 3 ml melalui proses destilasi uap.



**Gambar 1.** a) Kulit jeruk limau; b) Proses destilasi uap; c) Proses pemurnian atau pemisahan; d). Minyak atsiri kulit jeruk limau

Minyak atsiri merupakan kelompok besar minyak nabati yang berwujud cairan dan mudah menguap sehingga memberikan aromatik yang khas dan telah dikenal memiliki aktivitas antibakteri (Gurning, 2015). Antibakteri merupakan daya hambat suatu zat terhadap suatu mikroba dengan toksisitas selektif, dimana zat tersebut hanya melemahkan patogen dan tidak berpengaruh terhadap inangnya (*host*). Minyak atsiri pada umumnya merupakan senyawa berwujud cair yang diperoleh dari berbagai bagian tanaman seperti kulit, biji, batang, akar, daun dan bunga yang dapat diisolasi dengan cara penyulingan (Cahyati *et al.*, 2016).

Menurut Augusta (2000), kulit buah jeruk limau segar mengandung minyak atsiri yang komponen penyusunnya terdiri dari  $\alpha$ -pinena,  $\beta$ -pinena,  $\beta$ - mirsena, linalool, limonen, mirsenol, kamfena hidrat, dan  $\alpha$ -terpineol (Mulyani *et al.*, 2016).

**Tabel 1.** Hasil GC-MS Minyak Atsiri Daun dan Kulit Buah Jeruk Limau (Mulyani *et al.*, 2016)

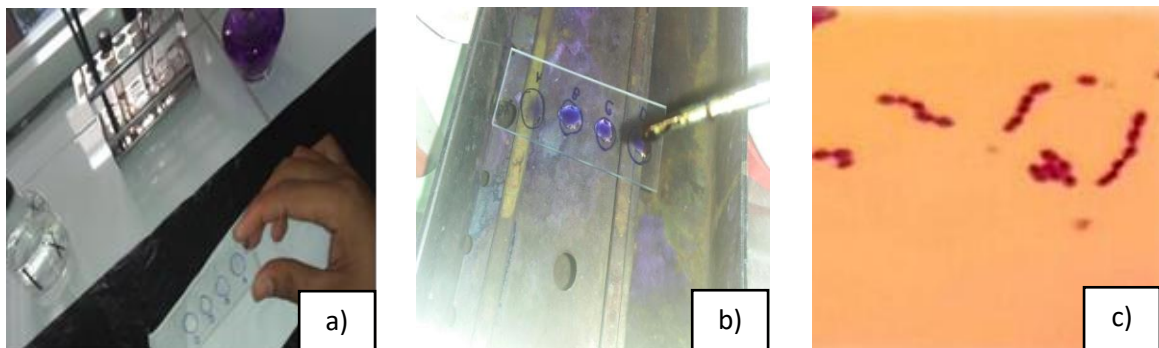
| Puncak | Minyak Daun |                       |         | Minyak Kulit Buah |                       |         |
|--------|-------------|-----------------------|---------|-------------------|-----------------------|---------|
|        | No.         | Waktu Retensi (Menit) | Senyawa | Kadar %           | Waktu Retensi (Menit) | Senyawa |
| 1      | 7,601       | $\beta$ -pinena       | 5,54    | 7,522             | $\beta$ -pinena       | 12,75   |
| 2      | 10,450      | linalool              | 12,62   | 8,733             | simena                | 16,37   |
| 3      | 11,075      | sitronelal            | 44,02   | 8,783             | limonena              | 41,25   |

|   |        |                       |       |        |                       |       |
|---|--------|-----------------------|-------|--------|-----------------------|-------|
| 4 | 12,475 | sitronelal            | 31,57 | 11,58  | sitronelal            | 19,60 |
| 5 | 13,075 | geraniol              | 5,83  | 11,550 | Belum teridentifikasi | 10,03 |
| 6 | 14,833 | Belum teridentifikasi | 0,42  |        |                       |       |

Berdasarkan data yang tertera pada tabel 1, senyawa limonen merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri kulit buah jeruk limau dengan kadar yang dimiliki sejumlah 41,25%. Senyawa lainnya terdiri dari simena 16,37%,  $\beta$ -pinena 12,74%, sitronelal 19,60% dan yang belum teridentifikasi sejumlah 10,03%. Hasil analisis GC-MS yang dilakukan oleh Mulyani *et al.* (2016), diketahui senyawa yang terdapat di dalam minyak atsiri kulit jeruk limau adalah Limonene, Simena,  $\beta$ -pinena, dan Sitronelal (Mulyani *et al.*, 2016).

### Hasil Isolasi Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil isolat bakteri *Streptococcus mutans* yang tersedia di Laboratorium Litbangkes RUSD Provinsi NTB yang telah disolasi dari pasien penderita karies gigi dengan metode swab. Selanjtnya diencerkan dengan pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-5}$  dan ditumbuhkan menggunakan media *Nutrien Agar* (NA) kemudian diinkubasi. Setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dilakukan seleksi awal dengan memilih pengamatan koloni, ukuran, bentuk dan warna. Koloni yang mempunyai karakter yang mirip dengan bakteri gram positif diinokulasi pada medium selektif modifikasi NA dengan tehnik streak. Identifikasi koloni bakteri yang tumbuh pada medium selektif dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  meliputi pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia untuk memperoleh bakteri *Streptococcus mutans* sesuai dengan karakter yang dimiliki.



**Gambar 2.** a) Pengamatan morfologi bakteri; b) Pewarnaan gram; c) Pengamatan hasil pewarnaan bakteri pada miskroskop dengan perbesaran  $10\times 100$ .

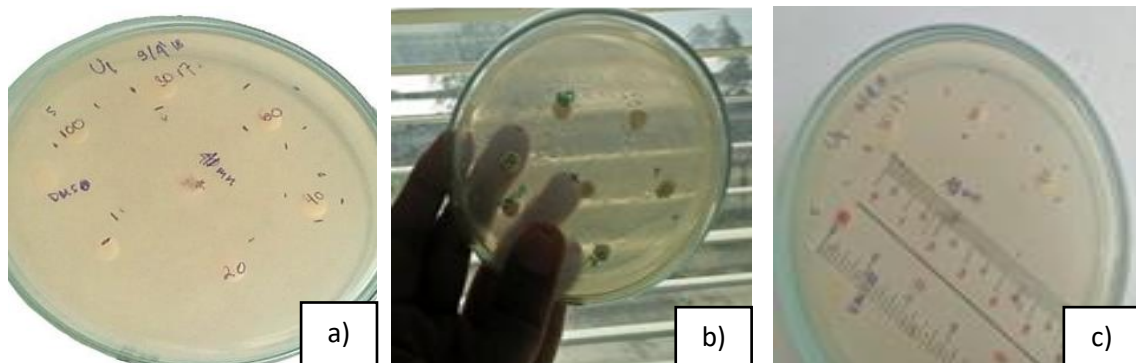
Hasil identifikasi bakteri *Streptococcus mutans* berdasarkan pengamatan morfologi mempunyai koloni berbentuk kokus seperti rantai yang berpasangan, tepi koloni kasar, menumpuk, berwarna putih, bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora. Sedangkan data hasil uji biokimia yang dilakukan memberikan reaksi yang positif pada uji gula, uji manitol, uji *voges proskeur* dan menunjukkan reaksi negatif pada uji oksidase, uji katalase, dan uji urase. Berdasarkan karakter makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia tersebut dicocokkan dengan kunci determinasi bakteri (*Bergey's manual of determinative bacteriology*) memperlihatkan karakter isolat yang memiliki kemiripan dengan bakteri *Streptococcus mutans*.

**Tabel 2.** Hasil Identifikasi dan Karakterisasi Biokimia

| No. | Karakter          | Keterangan |
|-----|-------------------|------------|
| 1.  | Bentuk/Shape      | Kokus      |
| 2.  | Spora             | Non spora  |
| 3.  | Gram              | Postif     |
| 4.  | Motalitas         | Non motil  |
| 5.  | Oksidase          | -          |
| 6.  | Katalase          | -          |
| 7.  | Kapsul            | -          |
| 8.  | Urase             | -          |
| 9.  | Glukosa           | +          |
| 10. | Laktosa           | +          |
| 11. | Maltosa           | +          |
| 12. | Manitol           | +          |
| 13. | Sukrosa           | +          |
| 14. | Voges Proskeur    | +          |
| 15. | Alkalin posfat    | -          |
| 16. | Argininin         | -          |
| 17. | Esculinhydrolysis | +          |
| 18. | Hyaluronidase     | -          |
| 19. | Neuraminidase     | -          |

### Uji Daya Hambat Antibakteri

Pengujian dilakukan secara mikrobiologis, paper disk steril dan medium sudah diberi tanda sesuai dengan masing-masing perlakuan. Setiap paper disk diinjeksikan 20 $\mu$ L konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% serta kontrol negatif menggunakan aquades dan DMSO serta amoksilin lalu diletakan di medium cawan petri yang terisis media MHA menggunakan pinset steril satu persatu pada setiap perlakuan dan ulangan, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 $\times$ 24jam untuk melihat daya hambat minyak atsiri.



**Gambar 3.** a) Hasil diameter zona hambat yang terbentuk; b) Penagamatan zona hambat; c) Pengukuran diameter zona hambat.

**Tabel 3.** Hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri setelah 1×24 jam

| Perlakuan     | Diameter Zona Hambat (mm) |    |      |    | Total | $\bar{x}$ Diameter Zona Hambat (mm) |
|---------------|---------------------------|----|------|----|-------|-------------------------------------|
|               | U1                        | U2 | U3   | U4 |       |                                     |
| P0            | 0                         | 0  | 0    | 0  | 0     | 0                                   |
| P1            | 0                         | 0  | 0    | 0  | 0     | 0                                   |
| P2            | 41                        | 32 | 37   | 20 | 130   | 32,5                                |
| P3            | 0                         | 4  | 4    | 0  | 8     | 2                                   |
| P4            | 14                        | 12 | 16   | 7  | 49    | 12,25                               |
| P5            | 17                        | 13 | 11   | 9  | 50    | 12,5                                |
| P6            | 17                        | 10 | 11   | 10 | 48    | 12                                  |
| P7            | 15                        | 12 | 20,5 | 14 | 61,5  | 15,38                               |
| <b>Jumlah</b> |                           |    |      |    | 346,5 |                                     |

Keterangan: P0: Kontrol (-) Aquades

P1: Kontrol (-) Larutan DMSO

P2: Kontrol (+) Amoksilin

P3: Konsentrasi 20%

P4: Konsentrasi 40%

P5: Konsentrasi 60%

P6: Konsentrasi 80%

P7: Knsentrasi 100%

U1-U4 : Ulangan ke-1 sampai dengan 4

X : Rata-rata

Tabel 3 menunjukkan diameter zona hambat dari aktivitas kandungan yang terdapat pada minyak atsiri paling besar pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter yang terbentuk 15,38mm menunjukkan aktivitas yang kuat kuat atau paling efektif, terendah pada konsentrasi 20% dengan rata-rata diameter zona 2mm menunjukkan aktivitas yang lemah. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi pada perlakuan yang diberikan, maka semakin besar atau semakin kuat zona hambat yang dibentuk. Hal ini sejalan dengan penelitian (Saputra *et al.*, 2017) menguji aktivitas antibakteri minyak atsiri dari kulit buah jeruk bali, pada konsentrasi minimum yang digunakan yaitu 25 ppm menunjukkan aktivitas bakteri yang sedang terhadap *E. coli* dan *Stapylococcus aureus*, pada konsentrasi 50 ppm menunjukkan aktivitas sedang, dan pada konsentrasi 50,70,100 ppm minyak atsiri kulit jeruk Bali menunjukkan aktivitas bakteri sangat kuat. Akan tetapi pada perlakuan P2 kontrol positif menggunakan antibiotik amoksilin merupakan perlakuan yang menunjukkan yang paling efektif terbukti dengan rata-rata diameter zona hambat paling besar yaitu 32,5 mm. Hal tersebut dikarenakan amoksilin merupakan antibiotik yang sering digunakan dan terbukti ampuh dalam menekan pertumbuhan bakteri baik secara *in vitro* maupun *ex vitro*.

**Tabel 4.** Hasil Uji One Way Anova

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F <sub>hitung</sub> | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------------------|------|
| Between Groups | 3235.867       | 7  | 462.267     | 26.514              | .000 |
| Within Groups  | 418.438        | 24 | 17.435      |                     |      |
| Total          | 3654.305       | 31 |             |                     |      |



Hasil Uji Anova menunjukkan nilai  $F_{hitung}=26.514 > F_{tabel}=2,42$  dengan nilai signifikansi=0,000 menunjukkan minyak atsiri kulit jeruk limau diperkirakan memiliki aktivitas dan berpotensi sebagai antibakteri. Hal tersebut terlihat pada diameter zona hambat yang terbentuk, semakin besar konsentrasi minyak atsiri yang diberikan semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk, artinya bahwa minyak atsiri semakin berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Adinda (2022) mengenai pemeriksaan kandungan senyawa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung pada minyak atsiri kulit buah jeruk nipis sebagai antibakteri adalah golongan terpenoid salah satu contohnya adalah limonen. Hasil penelitian tersebut menunjukkan minyak atsiri kulit buah jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne* dengan kadar hambat dan kadar bunuh minimum sebesar 1,25% (Sari & Asri, 2022).

Pada penelitian ini memperlihatkan bahwa, pada konsentrasi minyak atsiri 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona hambat sebesar 15,38 mm. Penghambatan ini diduga karena adanya senyawa kimia minyak atsiri yaitu limonen golongan terpenoid yang bersifat bakterisida, bakteri gram positif tidak tahan (tidak resisten) terhadap senyawa terpenoid ini. Senyawa terpenoid mampu menekan pertumbuhan bakteri gram positif karena kemampuannya dalam penetrasi dalam dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri gram (+) relatif lebih sederhana, hanya terdiri dari komponen peptidoglikan yaitu komponen utama dinding sel berfungsi untuk member bentuk sel dan asam teikoat yang berfungsi mengikat magnesium dari lingkungan, bakteri golongan ini tidak mempunyai lipo-polisakarida yang berfungsi melindungi membran sehingga minyak atsiri akan lebih mudah merusak protein porin, dan menyebabkan sel mengalami lisis. Walaupun pada dasarnya bakteri gram positif mampu menghasilkan spora untuk melindungi dirinya akan tetapi tidak dengan bakteri gram positif penyebab penyakit karies ini, karena *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang tidak berspora (Chusniah & Muhtadi, 2017).

Kandungan senyawa minyak atsiri berupa terpenoid tersebut diduga bekerja dengan cara meracuni sitoplasma yang merupakan tempat sintesis ATP, merusak dan menembus dinding sel, sehingga dalam jumlah molekul yang besar mampu menyebabkan kebocoran sel dan mengaktifkan enzim bakteri (Base, 2018). Kemampuan inaktivasi tersebut sejalan dengan fungsi minyak atsiri yang mampu menginaktivasi enzim glukosil transferase dan fruktosil transferase bakteri *Streptococcus mutans* sehingga tidak mampu menghasilkan glukukan untuk menempel pada permukaan gigi, dan mengganggu semua aktivitas pada membran sel. Terpenoid dapat mendenaturasi protein serta merusak membran sitoplasma dan permeabilitas sel menjadi terganggu dan menyebabkan lolosnya makro molekul dan ion-ion dari dalam sel. Hal tersebut diduga yang menyebabkan bakteri menjadi lisis (Purwantiningsih *et al.*, 2014).

## SIMPULAN

Minyak atsiri kulit jeruk memiliki aktivitas antibakteri dalam mengendalikan bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Konsentrasi yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah konsentrasi 100% yang dapat diamati pada pembentukan diameter zona hambat 15,38 mm dengan kategori daya hambat yang kuat. Hasil analisis statistik  $F_{hitung} 26,514 > F_{Tabel} 2.42$  menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tiap perlakuan yang diberikan.

## DAFTAR PUSTAKA

Alhamda, S. 2011. Status Kebersihan Gigi dan Mulut dengan Status Karies Gigi (Kajian pada Murid Kelompok Umur 12 Tahun di Sekolah Dasar Negeri Kota Bukittinggi). Padang. *Berita Kedokteran Masyarakat*, 27(2), 108–115. <http://scholar.unand.ac.id/33781/>

- Anugrah, R.M., Wening, D.K., Anisya, Y.F. 2018. Engaruh Pendidikan Gizi Melalui Permainan Ular Tangga Terhadap Pengetahuan Gizi Remaja. *Jurnal Gizi dan Kesehatan*, 10(24), 60–68.
- Artha, I.W.W., Hendrayana, M.A., Sukrama, I.D.M. 2022. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Medika Udayana*, 11(5), 14–18. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum>
- Base, N.H. 2018. Identifikasi Kandungan Senyawa Flavonoid Ekstrak Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) Secara Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Yamasi*. [https://www.academia.edu/37190689/ANTI\\_INFLAMASI](https://www.academia.edu/37190689/ANTI_INFLAMASI)
- Cahyati, S., Kurniasih, Y., Khery, Y. 2016. Efisiensi isolasi minyak atsiri dari kulit jeruk dengan metode destilasi air-uap ditinjau dari perbandingan bahan baku dan pelarut yang digunakan. *Hydrogen: Jurnal Kependidikan Kimia*, 4(2), 103. <https://doi.org/10.33394/hjkk.v4i2.97>
- Chusniah, I., Muhtadi, A. 2017. Aktivitas Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai antibakteri, antivirus, antifungal, larvasida dan athelmintik. *Farmaka*, 15(2), 9–22.
- Forssten, S.D., Bjorklund, M., Ouwehand, A.C. 2010. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients*, 2(3), 290–298. <https://doi.org/10.3390/nu2030290>
- Gurning, K. 2015. Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Dan Potensi Daun Bangun-Bangun (*Coleus amboinicus*, Lour.). Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VII, Penguatan Profesi Bidang Kimia dan Pendidikan Kimia, Prosiding, UNS Surakarta.
- Mulyani, S., Susilowati, Hutabarat, M.M. (2016). Analisis GC-MS dan Daya Anti Bakteri Minyak Atsiri *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse. *Majalah Farmasi Indonesia*, 20(3), 127–132.
- NareswariI, N., Kuncoro, A. 2016. Pembuatan Salep Minyak Atsiri Daun Jeruk Limau (*Citrus amblycarpa*) dan Uji Stabilitas Terhadap Tipe Basis yang Digunakan. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 14(2), 63–68. <https://doi.org/10.13057/biofar/f140204>
- Nasution, S.W., Lubis, N., Zendrato, B.C.L., Silaban, S.R. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Cakram. *Biospecies*, 14(1), 18–23.
- Purwantiningsih, T.I., Suranindyah, Y.Y., Widodo. 2014. Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan*, 38(1), 59. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v38i1.4618>
- Saputra, K.A., Puspawati, N.M., Suirta, I.W. 2017. Kandungan Kimia Minyak Atsiri dari Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*, 11(1), 58–62. <https://doi.org/10.24843/jchem.2017.v11.i01.p10>
- Sari, A.N., Asri, M.T. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*. *LenteraBio*, 11(3), 441–448.
- Warna, D., Fatmawati, A., Gigi, B.K., Gigi, F.K., Jember, U. 2011. Hubungan Biofilm *Streptococcus mutans* terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi. *Stomatognatic*, 8(3), 127–130.