

## BUKTI KORESPONDENSI

### ARTIKEL JURNAL NASIONAL TERAKREDITASI

**Judul Artikel : PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS (Citrus aurantifolia) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Prevotella intermedia* PADA PENCEGAHAN PERIIMPLANTITIS (SECARA IN-VITRO)**

**Jurnal : B-Dent (Jurnal Kedokteran gigi Universitas Baiturrahmah)**

**Penulis : Akane Kitayama, Calvin Kurnia, Vinna Kurniawati Sugiaman**

No	Perihal	Tanggal
1.	Register pada Jurnal B-Dent	Juli 2022
2.	Bukti konfirmasi submit artikel dan artikel yang disubmit	27 Juli 2022
3.	Bukti melakukan review yang pertama	26 Oktober 2022
4.	Bukti konfirmasi submit revisi pertama yang telah direvisi	29 November 2022
5.	Bukti melakukan review yang kedua	07 Desember 2022
6.	Bukti konfirmasi submit artikel yang telah revisi kedua	
7.	Bukti konfirmasi artikel diterima	
8.	Bukti Galery Proof Manuscript	Desember 2022
9.	Bukti Publikasi Online Artikel	Desember 2022

**Register pada Jurnal Juli 2022**

**Bukti konfirmasi submit artikel dan artikel yang disubmit (27 Juli 2022)**

p-ISSN 2301 - 5454  
e-ISSN 2654 - 7643

# B-DeNT

JURNAL KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS BAITURRAHMAN

HOME ABOUT USER HOME SEARCH CURRENT ARCHIVES ANNOUNCEMENTS

Home > User > Author > Submissions > #1176 > Summary

## #1176 Summary

SUMMARY REVIEW EDITING

### Submission

Authors	Akane Kitayama, Calvin Kurnia, Vinna Kurniawati Sugiaman
Title	PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP <i>Prevotella intermedia</i> PADA PENCEGAHAN PERIIMPLANTITIS (SECARA IN-VITRO)
Original file	1176-3739-2-5M.DOCX: 2022-07-27
Supp. files	None
Submitter	Vinna Kurniawati Sugiaman
Date submitted	July 27, 2022 - 05:26 PM
Section	Research Articles
Editor	Rifani Rifani
Abstract Views	623

FOCUS & SCOPE

AUTHOR GUIDELINE

ONLINE SUBMISSIONS

PUBLICATION ETHIC

EDITORIAL TEAM

REVIEWERS

AUTHOR FEE

 Journal Template

**PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *Prevotella intermedia* SEBAGAI PENCEGAHAN PERIIMPLANTITIS SECARA IN-VITRO**

**Akane Kitayama<sup>1</sup>, Calvin Kurnia<sup>2</sup>, Vinna Kurniawati Sugiaman<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha

<sup>2</sup>Departemen Periodontology, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha

<sup>3</sup> Departemen Oral Biology, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha

Corresponding Author: vinnakurniawati@yahoo.co.id

### Abstrak

**Latar belakang** Salah satu komplikasi dari penggunaan implan pada pasien adalah Peri-implantitis yang terjadi akibat adanya invasi bakteri *Prevotella intermedia*. Oleh karena itu, diperlukan suatu agen yang dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri ini, di antaranya yaitu perasan air jeruk nipis. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan tanaman herbal yang sering dipakai oleh masyarakat

dalam pengobatan tradisional karena mengandung senyawa antibakteri. **Tujuan** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah air perasan jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* dengan mengukur konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). **Metode** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *post test only control group design*. Metode yang digunakan pada penelitian dengan *microdilution* dengan 10 perlakuan. **Hasil** Hasil uji antibakteri dilakukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri pada media agar, dan data dianalisis dengan uji statistik *One way ANOVA*. **Simpulan** Air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki efek antibakteri dengan menghambat pertumbuhan *Prevotella intermedia* pada konsentrasi 3,125% dan dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* pada konsentrasi 6,25%.

**Kata kunci:** Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), *Prevotella intermedia*

### **Abstract**

**Background** One of the complications of using implants in patients is peri-implantitis which occurs due to the invasion of *Prevotella intermedia* bacteria. Therefore, we need an agent that can play a role in inhibiting the growth of these bacteria, including lime juice. Lime (*Citrus aurantifolia*) is an herbal plant that is often used by the community in traditional medicine because it contains antibacterial compounds. **Purpose** The purpose of this study was to determine whether lime juice has antibacterial activity against the growth of *Prevotella intermedia* bacteria by measuring the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). **Method** This research is a laboratory experimental study with a post-test only control group design approach. The method used in this research is microdilution with 10 treatments. **Results** The results of the antibacterial test were carried out by counting the number of bacterial colonies on the agar media, and the data were analyzed by using the One way ANOVA statistical test. **Conclusion** Lime juice (*Citrus aurantifolia*) has an antibacterial effect by inhibiting the growth of *Prevotella intermedia* at a concentration of 3.125% and can kill the growth of *Prevotella intermedia* at a concentration of 6.25%.

**Keywords:** Lime Juice (*Citrus aurantifolia*), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), Minimum Inhibitory Concentration (MIC), *Prevotella intermedia*

## PENDAHULUAN

Peri-implantitis merupakan penyakit inflamasi yang menyerang jaringan di sekitar daerah implan gigi dan menyebabkan terjadinya kehilangan tulang pendukung yang progresif. Sama seperti penyakit periodontitis, etiologi peri-implantitis terjadi akibat invasi bakteri patogen dalam plak biofilm, salah satu faktor penting penyebab pembentukan plak adalah adanya bakteri. Bakteri yang terdapat pada peri-implantitis didominasi oleh bakteri gram negatif, pada penderita peri-implantitis bakteri gram negatif yang paling banyak ditemukan adalah bakteri *Prevotella intermedia*.<sup>1-3</sup> *Prevotella intermedia* merupakan bakteri gram negatif obligat anaerob berpigmen hitam dan berbentuk batang. Bakteri ini dapat melekat pada biofilm karena memiliki berbagai jenis fimbriae yang juga berguna sebagai jembatan dengan bakteri lain untuk mendekat dan memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm.<sup>4,5</sup> *Prevotella intermedia* dikenal sebagai bakteri *periodontopathic*, yaitu bakteri yang menyebabkan penyakit periodontal yang dimediasi oleh biofilm dan berkembang dengan cepat.<sup>6</sup>

Plak dan bakteri menjadi salah satu pencetus terjadinya peri-implantitis dan biofilm memainkan peran analog dalam perkembangan peri-implantitis maka tindakan menurunkan dan menghilangkan jumlah bakteri dari rongga mulut merupakan salah satu perawatan peri-implantitis, sehingga proses penyembuhan dapat berjalan lebih cepat.<sup>7,8</sup>

Langkah pertama dalam penanganan peri-implantitis, yaitu dengan mengidentifikasi dan mengeliminasi faktor etiologi, karena etiologinya berupa invasi bakteri patogen dalam plak biofilm maka perawatannya dengan mengeliminasi invasi bakteri patogen.<sup>9</sup> Perawatan pada peri-implantitis dapat menggunakan antibiotik untuk mengeliminasi bakteri *Prevotella intermedia*, seperti *tetracycline*, *doxycycline*, dan *floxacin* jika masih dalam bentuk *planktonic* karena belum terbentuk biofilm.<sup>10</sup> Namun jumlah bakteri

yang resisten terhadap obat dapat meningkat apabila penggunaan antibiotik dilakukan secara berulang dan tidak tepat. Oleh karena itu, pemanfaatana tanaman herbal yang memiliki sifat antibakteri dapat dijadikan sebagai terapi alternative sebagai pengganti antibiotic.<sup>11</sup> Seiring dengan semakin mahalnya harga obat dan meningkatnya resistensi dari obat non herbal maka belakangan ini penggunaan obat herbal semakin diminati. Salah satu tanaman herbal yang populer dan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Indonesia adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) karena buah ini mudah di dapatkan, relatif murah, dan banyak khasiatnya seperti sebagai penambah nafsu makan, anti-pireutik, anti-inflamasi, antibakteri.<sup>12</sup> Buah jeruk nipis mempunyai kandungan yang bermanfaat seperti minyak atsiri, asam sitrat, fenol, saponin, tannin, alkaloid, vitamin A, B1, dan C.<sup>13</sup>

Dari beberapa penelitian dikatakan bahwa minyak atsiri pada jeruk nipis dapat berfungsi sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidemidis*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Pophyromonas gingivalis*.<sup>11,14,15</sup> Peneliti berharap perasan air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan koloni bakteri *Prevotella intermedia* pada permukaan implan yang merupakan salah satu pencetus terjadinya peri-implantitis. Penulis tertarik apakah perasan air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat menghambat serta membunuh pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia*.

## METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan merupakan penelitian eksperimental laboratorik murni (*true experimental design*) secara *in vitro* dengan rancangan penelitian

*post test only control group design* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Tanaman buah jeruk nipis yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Instalasi Penelitian dan Pengembangan Teknologi Pertanian (IP2TP) Manoko Lembang yang sebelumnya telah di determinasi terlebih dahulu di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong dan dilakukan uji Fitokimia di Laboratorium Fakultas Farmasi Institut Teknologi Bandung. Bakteri uji *Prevotella intermedia* ATCC 25611 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang sebelumnya telah dilakukan uji PCR bakteri untuk mendeteksi apakah bakteri tersebut benar bakteri *Prevotella intermedia*.

Pada penelitian ini pertama dilakukan uji Fitokimia air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) pengujian ini dilakukan untuk mengonfirmasi ada tidaknya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada air perasan jeruk nipis. Selanjutnya prosedur pengambilan air jeruk nipis dengan kriteria buah yang dipakai, yaitu jeruk nipis lokal, segar, dan berwarna hijau bersih. Selanjutnya jeruk nipis dicuci bersih dengan air mengalir, dipotong menjadi 2 bagian, dan diperas menggunakan tangan secara manual dan dibantu menggunakan alat peras.

Kemudian air perasan disaring menggunakan kertas saring steril untuk memisahkan biji dengan airnya, selanjutnya disaring lagi sebanyak 2 kali menggunakan kertas saring Whatmann 0,2 mm, setelah disaring dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan disimpan di dalam kulkas pada suhu 4°C.

Tahap kedua, yaitu dilakukan kultur bakteri *Prevotella intermedia* ATCC 25611. Koloni bakteri diambil menggunakan jarum ose lalu ditanam ke dalam media *Trypticase soy broth* (TSB) dalam kondisi steril kemudian diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C

secara anaerob, setelah di inkubasi suspensi kemudian diukur untuk memenuhi standar McFarland 0,5 sebanding dengan kisaran  $1,5 \times 10^8$  colony forming units (CFU)/ml.

Kelompok perlakuan berjumlah 10, yang dibagi menjadi delapan konsentrasi perasan air jeruk nipis (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan 0,78%) satu kontrol negatif menggunakan akuades dan satu kontrol positif menggunakan *chlorhexidine* 0,2%. Penentuan besar sampel dilakukan dengan menggunakan rumus Federer dan diperoleh jumlah sampel minimal 3, dengan mempertimbangkan adanya *error* maka sampel minimal dalam satu kelompok ditambahkan 1 sehingga jumlahnya menjadi 4 kali pengulangan. Masing-masing kelompok ditanam di dalam media cair *Trypticase soy broth* dengan metode *microdilution* untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM).

### Uji Daya Efektivitas Antibakteri

1. Menyiapkan 10 tabung reaksi steril asing-masing kelompok intervensi dan kelompok kontrol ditanam didalam media cair *Trypticase soy broth*.
2. Proses pengenceran air perasan jeruk nipis dilakukan dengan pengenceran serial, dengan menyediakan 8 buah tabung reaksi yang diletakkan pada rak tabung reaksi dan diberikan penomoran pada masing-masing tabung reaksi tersebut. Untuk mendapatkan air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 100%, pada tabung reaksi yang pertama dituangkan air perasan jeruk nipis murni sebanyak 10mL. Selanjutnya untuk mendapatkan konsentrasi 50% pada tabung kedua maka diambil 5 ml ekstrak pada tabung yang pertama kemudian dilakukan proses pencampuran antara air perasan jeruk nipis dengan 5 ml medium TSB sehingga didapatkan konsentrasi 50%. Pada tabung yang ketiga, diambil 5 ml ekstrak dari tabung nomer dua dan dicampurkan dengan 5 ml medium

TSB sehingga konsentrasi ekstrak menjadi 25%. Pada tabung keempat sampai dengan tabung kedelapan dilakukan dengan cara yang sama dengan pada tabung ketiga sehingga diperoleh konsentrasi air perasan jeruk nipis menjadi 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.5625%, dan 0.78125%. 2 tabung selanjutnya yaitu diberikan kontrol negatif berupa akuades dan kontrol positif chlorhexidine 0,2%

3. Inkubasi seluruh tabung reaksi selama 24 jam pada suhu 37°C secara anaerob.
4. Dilakukan pengamatan terhadap perubahan kekeruhan pada setiap konsentrasi air perasan jeruk nipis yang telah digunakan, perubahan yang terjadi ditandai dengan tabung reaksi pada kelompok intervensi mulai tampak jernih bila dibandingkan dengan kontrol negatif.
5. Setelah itu untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum dilakukan dengan metode perhitungan jumlah koloni bakteri yang ditanam pada media agar.
6. Kemudian tanam sebanyak 0,05 ml pada media *Trpticase soy agar*.
7. Melakukan teknik *spreading* pada masing-masing kelompok intervensi dan kelompok kontrol pada media *Trpticase soy agar* dan kemudian di inkubasi selama 2 x 24 jam dalam keadaan anaerob.
8. Bakteri hasil *spreading* pada media *Trpticase soy agar* pertumbuhannya diamati.
9. Koloni bakteri yang dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU) pada media *Muller Hinton agar* dihitung dengan menggunakan alat *colony counter* dan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif untuk memperoleh nilai KHM dan KBM. Setelah itu dilakukan perbandingan penurunan jumlah koloni bakteri yang diberi senyawa antibakteri dari ekstrak uji dengan jumlah koloni

bakteri awal untuk memperoleh hasil interpretasinya, sehingga aktivitas bakteristatik dan bakterisidal ekstrak uji dapat diketahui.

10. Prosedur ini dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali
11. Dilakukan analisis data

## HASIL PENELITIAN

### 1. Hasil determinasi

Dilakukan uji determinasi tanaman buah jeruk nipis dengan tujuan untuk membuktikan kebenaran bahan yang digunakan pada penelitian ini. Uji determinasi tanaman ini dilakukan di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong. Hasil identifikasi tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah benar yaitu jenis *Citrus x aurantifolia* (Chirstm.) Swingle suku Rutaceae

### 2. Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam air perasan jeruk nipis. Hasil penelitian uji fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan hasil bahwa air perasan jeruk nipis positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, steroid / triterpenoid, saponin, flavonoid.

### 3. Hasil Penelitian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Hasil analisis Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) diperoleh dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri yang dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU/ml) pada media *Trypticase soy agar* dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif dengan hasil sebagai berikut

Kontrol	Kontrol	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,125%	1,56%	0,78%
---------	---------	------	-----	-----	-------	-------	--------	-------	-------

	(+)	(-)								
1.	0	146	0	0	0	0	0	12	33	78
2.	0	148	0	0	0	0	0	13	31	84
3.	0	152	0	0	0	0	0	10	29	86
4.	0	156	0	0	0	0	0	10	30	82
<b>Rerata</b>	0	150,5	0	0	0	0	0	8,75	30,75	82,5

Tabel 1 Hasil Perhitungan Koloni Bakteri

Interpretasi aktivitas bakteriostatik dan bakterisidal air perasan jeruk nipis dengan cara membandingkan penurunan koloni bakteri yang terekspos senyawa antibakteri dari air perasan jeruk nipis relatif terhadap jumlah koloni bakteri awal.

#### 4. Hasil Analisa Data

Data hasil penelitian secara statistik dilakukan uji parametrik berupa ANOVA dan t-test dalam menganalisis data. Untuk memenuhi syarat dalam uji ANOVA secara parametrik, pertama dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena data berjumlah 40 dan kurang dari 50. Berdasarkan hasil uji normalitas diketahui memiliki sig lebih dari 0,05 yang artinya rerata jumlah koloni pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* terdistribusi normal, karena hasil datanya berdistribusi normal  $p > 0.05$  dapat dilakukan analisis *one way ANOVA*, pada uji *one way ANOVA* menyatakan bahwa nilai sig atau p-value  $< 0.05$  yang menunjukkan adanya pengujian yang signifikan, yang berarti terdapat perubahan yang signifikan terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Prevotella intermedia* terhadap beberapa konsentrasi perasan air jeruk nipis. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan *Post-hoc* dengan uji *t-test independent* untuk membandingkan antar kelompok.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *Prevotella intermedia*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah koloni bakteri yang paling kecil terdapat pada konsentrasi 3,125%. Jumlah *Colony Forming Units* (CFU) pada setiap perlakuan yang telah diberikan air perasan jeruk nipis memiliki perbedaan yang bermakna yang artinya setiap perlakuan air perasan jeruk nipis menghasilkan penurunan jumlah koloni dari bakteri *Prevotella intermedia*.

Bakteri jelas merupakan faktor risiko untuk terjadinya perkembangan peri-implantitis. Apabila terjadi perubahan komposisi bakteri terutama *Prevotella intermedia*, seperti penurunan jumlahnya akan berkaitan dengan terjadinya penurunan peradangan peri-implan. Perubahan lingkungan disekitar implant ini akan menyebabkan terjadinya perubahan hubungan antara jaringan dengan mikrobiota.<sup>16,17</sup>

Kemampuan air perasan jeruk nipis sebagai antibakteri telah terbukti pada berbagai penelitian. Dari penelitian yang dilakukan oleh Razak,dkk (2013) menyatakan bahwa air perasan jeruk nipis memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, Penelitian menurut Ramadhinta,dkk (2016) menyatakan bahwa perasan air jeruk nipis memiliki zona hambat terhadap bakteri *Enterococcus faecialis*.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

memiliki sifat antibakteri karena terjadi penurunan jumlah koloni bakteri. Penurunan jumlah koloni ini dapat terjadi karena adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada perasan air jeruk nipis, hasil uji fitokimia air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri seperti alkaloid, steroid, triterpenoid, saponin dan flavonoid. Hasil yang didapat sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Annisa,dkk. (2017) dan La Sakka,dkk. (2018) dimana air perasan jeruk nipis mengandung senyawa metabolit sekunder tersebut.

Flavonoid adalah senyawa polifenol terbesar yang memiliki sifat antioksidan dan antibakteri dan flavonoid pada jeruk nipis memiliki spektrum luas dalam menghambat dan membunuh aktivitas bakteri.<sup>18</sup> Flavonoid memiliki mekanisme kerja menghambat fungsi membran sel yang menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler karena kerusakan membran sel bakteri. Hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks antara flavonoid dengan protein ekstraseluler. Pada akhirnya terjadi kerusakan mikrosom, lisosom, dan permeabilitas dinding sel bakteri.<sup>19</sup> sebagai antibakteri, steroid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada jeruk nipis dan diketahui mempunyai aktivitas antibakteri, mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran pada liposom dan menyebabkan kerusakan sel bakteri.<sup>19,20</sup>

Saponin merupakan zat aktif glikosida triterpenoid, mekanisme kerjanya sebagai antibakteri yaitu dengan menyebabkan bakteri menjadi lisis. Kondisi ini dapat terjadi karena adanya kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri.<sup>21,22</sup>

Sehingga pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa konsentrasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat menghambat dan membunuh bakteri *Prevotella intermedia*. Konsentrasi 3,125% merupakan konsentrasi yang menghasilkan jumlah koloni bakteri

Flavonoid memiliki sifat bakteriostatik yang tergantung pada konsentrasinya. Flavonoid akan berinteraksi langsung dengan Deoxyribonucleic Acid (DNA) yang menyebabkan kerusakan pada DNA bakteri, sehingga bakteri tersebut mengalami lisis atau mati.<sup>12</sup>

Alkaloid memiliki kemampuan dalam penghambatan replikasi DNA. Kemampuan ini terjadi karena adanya penghambatan aktivasi enzim yang berperan pada proses pengarahannya nukleotida pada pita DNA.<sup>11</sup> Alkaloid sebagai antibakteri akan menyebabkan sel menjadi lisis karena tidak terbentuknya lapisan dinding sel secara utuh, akibat rusaknya komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri. Mekanisme lain yaitu dengan cara menghambat enzim topoisomerase sel bakteri dan juga sebagai interkalator DNA, karena mekanisme kerja alkaloid ini mengganggu lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga menyebabkan sel tersebut menjadi lisis atau mengalami kematian sel mikroba.<sup>19</sup>

Steroid adalah salah satu kandungan lain yang terdapat dalam jeruk nipis yang berperan

terendah, hal ini berarti bahwa konsentrasi perasan air jeruk nipis di atas konsentrasi 3,125% bersifat membunuh bakteri patogen periodontal *Prevotella intermedia* sedangkan di bawah konsentrasi 3,125% tidak menghambat pertumbuhan bakteri patogen periodontal *Prevotella intermedia*.

Dengan demikian pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% efektif dalam membunuh bakteri *Prevotella intermedia*. Jika konsentrasi air perasan jeruk nipis diturunkan maka akan menurunkan juga daya antibakterinya, hal ini dikarenakan semakin besar konsentrasi air perasan jeruk nipis akan mempengaruhi banyaknya kandungan metabolit sekunder dan zat aktif yang memiliki peranan sebagai antibakteri, sehingga semakin

besar kemampuannya dalam membunuh pertumbuhan bakteri.

Jumlah koloni pada kontrol positif dengan chlorhexidine 0,2% memiliki hasil yang sama dengan perasan air jeruk nipis sampai konsentrasi 6,25%. Akan tetapi penggunaan obat kumur chlorhexidine dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas tipe I pada beberapa pasien, dan juga obat kumur yang mengandung chlorhexidine memiliki efek samping meliputi *burning mouth syndrome* atau sensasi mulut terbakar, perubahan warna yang dapat terjadi pada restorasi, gigi dan atau permukaan ventral lidah dan juga dapat meningkatkan pembentukan kalkulus.<sup>23</sup> Dalam penelitian ini diharapkan dapat menggantikan obat kumur yang mengandung chlorhexidine terutama untuk pasien dengan mucositis peri-implan dan pasien dengan alergi chlorhexidine. Sehingga penggunaan air perasan jeruk nipis dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif pengganti chlorhexidine 0,2%.

## SIMPULAN

Air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* pada konsentrasi 3,125% dan dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* pada konsentrasi 6,25%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Newman MG, Takei HH, Caranza FA. Clinical periodontology. 11th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 2011; 164-9.
2. Utomo DI, Lelyati S, Masulili C. Early detection and management of peri-implant diseases deteksi dini dan penatalaksanaan penyakit peri-implan. The 3rd Periodontic Seminar. 2017; 1(1): 70-9.
3. Klinge B, Hultin M, Berglundh, T. Peri-implantitis. Dent Clinics. 2005; 49(3): 661-76.
4. Utomo DI, Lelyati S, Masulili C. Early detection and management of peri-implant diseases deteksi dini dan penatalaksanaan penyakit peri-implan. The 3rd Periodontic Seminar. 2017; 1(1): 70-9.
5. Carroll KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S. Medical microbiology. California: Lange medical publication. 2016; 149-80.
6. Ishiguro K, Washio J, Sasaki K, Takahashi N. Real-time monitoring of the metabolic activity of periodontopathic bacteria. J Microbiol Methods. 2015; 11(5): 22-6
7. Smeets R, Henningsen A, Jung O, Heiland M, Hammächer C, Stein JM. Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis: a review. Head & Face Med. 2014; 10(1): 1-3.
8. Farhan, LS. The microbial etiology and pathogenesis of peri-implantitis. Oral Health and Dent Management. 2018; 1-11.
9. Martin B, Tadjoedin F. Mikrobiologi periodontitis kronis: kolonisasi bakteri, patogen utama, dan virus. The Third National Scientific Seminar in Periodontics. Jakarta, Indonesia. Jakarta: IPERI. 2014; 3(1): 6-7
10. Takahashi N, Ishihara K, Kimizuka R, Okuda K, Kato T. The effects of tetracycline, minocycline, doxycycline and ofloxacin on *Prevotella intermedia* biofilm. Oral Microbiol and Immunology. 2016; 21(6): 366-71.
11. Chismirina S, Magistra RY. Konsentrasi hambat dan bunuh minimum ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara in vitro. Cakradonya Dent J. 2016; 8(1): 68-76.
12. Lestari RK, Amalia E, Yuwono Y. Efektivitas jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* swingle) sebagai zat antiseptik pada cuci tangan. J Kedokteran dan Kesehatan. 2018; 5(2): 55-65.
13. Hakim RF, Editia A. Pengaruh air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. J Syiah Kuala Dentistry Society. 2018; 1(3): 1-5.
14. Prastiwi SS, Ferdiansyah F. Kandungan dan aktivitas farmakologi jeruk nipis

- (*Citrus aurantifolia* swing). *Farmaka*. 2017; 15(2): 1-8.
15. Lauma, SW. Uji efektifitas perasan air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Pharmacon*. 2014; 4(4): 1-15.
  16. Hashimoto Y, Okada S, Yasuda K, Kawagoe M, Kajiya M & Tsuga K. Microbial differences between active and remission peri-implantitis. *Scientific Reports*. 2022;12:5284
  17. Ito T, Mori G, Oda Y, Hirano T, Sasaki H, Honma S, et al. Clinical evaluation of periodontal pathogen levels by real-time polymerase chain reaction in peri-implantitis patients. *Int J Implant Dent*. 2021; 7:105.
  18. Chusniah I, Muhtadi A. Aktivitas Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai Antibakteri, Antivirus, Antifungal, Larvasida, dan Anthelmintik. *Farmaka*. 2017; 15(2): 9-22.
  19. Rijayanti RP. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera Foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*. 2014; 1(1): 11-23.
  20. Hidayah WW, Kusri D, Fachriyah E. Isolasi, identifikasi senyawa steroid dari daun getih-getihan (*Rivina humilis* L.) dan uji aktivitas sebagai antibakteri. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 2016; 19(1): 7-32.
  21. Sapara TU. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon* 2016; 5(4): 10-17.
  22. Sakka L. Identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin pada jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) di kabupaten Bone Kecamatan Lamuru menggunakan metode infusa. *Jurnal ilmiah kesehatan diagnosis*. 2018; 12(6): 4-670
  23. Alzoman H, Alojaim TG, Chalikkandy SN, Mehmood A, Rashed F, Divakar DD. Comparison of an Herbal-and a 0.12% Chlorhexidine-based Oral Rinse as Adjuncts to Nonsurgical Mechanical Debridement in the Management of Peri-implant Mucositis: A Randomised Controlled Trial. *Oral Health Prev Dent*. 2020; 18(1): 52-645.

Bukti melakukan review yang pertama (26 Oktober 2022)

The screenshot shows the B-DeNT journal website interface. At the top, the journal title "B-DeNT" is displayed in large green letters, with the subtitle "JURNAL KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS BATURABRAHMAN" below it. The ISSN numbers are listed as p-ISSN 2301 - 5454 and e-ISSN 2654 - 7643. A navigation menu includes HOME, ABOUT, USER HOME, SEARCH, CURRENT, ARCHIVES, and ANNOUNCEMENTS. The main content area shows the breadcrumb "Home > User > Author > Submissions > #1176 > Review" and the title "#1176 Review". There are three tabs: SUMMARY, REVIEW (active), and EDITING. The "Submission" section lists the authors as Akane Kitayama, Calvin Kurnia, and Vinna Kurniawati Sugiama, the title as "PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS (Citrus aurantifolia) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Prevotella intermedia* PADA PENCEGAHAN PERIIMPLANTITIS (SECARA IN-VITRO)", the section as "Research Articles", and the editor as Rifani Rifani. The "Peer Review" section shows "Round 1" with a table of review versions:

Review Version	1176-3740-2-RV.DOCK	2022-10-26
Initiated	2022-10-26	
Last modified	2022-11-29	
Uploaded file	None	
Editor Version	1176-3900-1-ED.DOCK	2022-10-26
Author Version	1176-4805-1-ED.DOCK	2022-12-07

On the right side, there is a sidebar with a "Journal Template" icon and a "USER" section indicating the user is logged in as "vinna" with links for "My Journals", "My Profile", and "Log Out".

Bukti konfirmasi submit revisi pertama yang telah direvisi (29 November 2022)

**PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Prevotella intermedia* PADA PENCEGAHAN PERIIMPLANTITIS (SECARA IN-VITRO)**

**Abstrak**

**Pendahuluan:** Salah satu komplikasi dari penggunaan implan pada pasien adalah peri-implantitis yang terjadi akibat adanya invasi bakteri *Prevotella intermedia*. Untuk mengatasi hal itu diperlukan suatu

agen yang dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri ini, salah satunya adalah perasan air jeruk nipis. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan tanaman herbal yang sering digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan tradisional karena mengandung senyawa antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah air perasan jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Prevotella intermedia* dengan mengukur konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *post-test only control group design*. Metode yang digunakan pada penelitian adalah *microdilution* dengan 10 perlakuan. **Hasil:** Uji antibakteri dilakukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri pada media agar dan data dianalisis dengan uji statistik *One-way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah koloni bakteri yang paling kecil terdapat pada konsentrasi 3,125% yaitu 8,75. **Simpulan:** Air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki efek antibakteri dengan menghambat pertumbuhan *Prevotella intermedia* pada konsentrasi 3,125% dan dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* pada konsentrasi 6,25%.

**Kata kunci:** Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), Periimplantitis, *Prevotella intermedia*

## **Abstract**

**Background** One of the complications of using implants in patients is peri-implantitis which occurs due to the invasion of *Prevotella intermedia* bacteria. Therefore, we need an agent that can play a role in inhibiting the growth of these bacteria, including lime juice. Lime (*Citrus aurantifolia*) is an herbal plant that is often used by the community in traditional medicine because it contains antibacterial compounds. **Purpose** The purpose of this study was to determine whether lime juice has antibacterial activity against the growth of *Prevotella intermedia* bacteria by measuring the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). **Method** This research is a laboratory experimental study with a post-test only control group design approach. The method used in this research is microdilution with 10 treatments. **Results** The results of the antibacterial test were carried out by counting the number of bacterial colonies on the agar media, and the data were analyzed by using the One way ANOVA statistical test. The results showed that the least number of bacterial colonies was found at a concentration of 3.125%, namely 8.75. **Conclusion** Lime juice (*Citrus aurantifolia*) has an antibacterial effect by inhibiting the growth of *Prevotella intermedia* at a concentration of 3.125% and can kill the growth of *Prevotella intermedia* at a concentration of 6.25%.

**Keywords:** Lime Juice (*Citrus aurantifolia*), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Periimplantitis, *Prevotella intermedia*



## PENDAHULUAN

Peri-implantitis merupakan penyakit inflamasi yang menyerang jaringan di sekitar daerah implan gigi dan menyebabkan terjadinya kehilangan tulang pendukung yang progresif. Sama seperti penyakit periodontitis, etiologi peri-implantitis terjadi akibat invasi bakteri patogen dalam plak biofilm. Salah satu faktor penting penyebab pembentukan plak adalah adanya bakteri. Bakteri yang terdapat pada peri-implantitis didominasi oleh bakteri Gram negatif. Pada penderita peri-implantitis, bakteri Gram negatif yang paling banyak ditemukan adalah bakteri *Prevotella intermedia*.<sup>1-3</sup> *Prevotella intermedia* merupakan bakteri Gram negatif obligat anaerob berpigmen hitam dan berbentuk batang. Bakteri ini dapat melekat pada biofilm karena memiliki berbagai jenis fimbriae yang juga berguna sebagai jembatan dengan bakteri lain untuk mendekat dan memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm.<sup>4,5</sup> *Prevotella intermedia* dikenal sebagai bakteri *periodontopathic*, yaitu bakteri yang menyebabkan penyakit periodontal yang dimediasi oleh biofilm dan berkembang dengan cepat.<sup>6</sup>

Plak dan bakteri menjadi salah satu pencetus terjadinya peri-implantitis dan biofilm memainkan peran analog dalam perkembangan peri-implantitis maka tindakan menurunkan dan menghilangkan jumlah bakteri dari rongga mulut merupakan salah satu perawatan peri-implantitis, sehingga proses penyembuhan dapat berjalan lebih cepat.<sup>7,8</sup> Langkah pertama dalam penanganan peri-implantitis, yaitu dengan mengidentifikasi dan mengeliminasi faktor etiologi, karena etiologinya berupa invasi bakteri patogen dalam plak biofilm maka perawatannya dengan mengeliminasi invasi bakteri patogen.<sup>9</sup>

Perawatan pada peri-implantitis dapat menggunakan antibiotik untuk mengeliminasi bakteri *Prevotella intermedia*, seperti *tetracycline*, *doxycycline*, dan *floxacin* jika masih dalam bentuk *planktonic* karena belum terbentuk biofilm.<sup>10</sup> Namun jumlah bakteri yang resisten terhadap obat dapat meningkat apabila penggunaan antibiotik dilakukan secara

berulang dan tidak tepat. Oleh karena itu, pemanfaatan tanaman herbal yang memiliki sifat antibakteri dapat dijadikan sebagai terapi alternatif sebagai pengganti antibiotik.<sup>11</sup> Seiring dengan semakin mahalnya harga obat dan meningkatnya resistensi dari obat non herbal maka belakangan ini penggunaan obat herbal semakin diminati. Salah satu tanaman herbal yang populer dan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Indonesia adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) karena buah ini mudah di dapatkan, relatif murah, dan banyak khasiatnya seperti sebagai penambah nafsu makan, anti-pireutik, anti-inflamasi, antibakteri.<sup>12</sup> Buah jeruk nipis mempunyai kandungan yang bermanfaat seperti minyak atsiri, asam sitrat, fenol, saponin, tannin, alkaloid, vitamin A, B1, dan C.<sup>13</sup>

Dari beberapa penelitian dikatakan bahwa minyak atsiri pada jeruk nipis dapat berfungsi sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Porphyromonas gingivalis*.<sup>11,14,15</sup> Perasan air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berpotensi dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan koloni bakteri *Prevotella intermedia* pada permukaan implan yang merupakan salah satu pencetus terjadinya peri-implantitis.

## METODE

Desain penelitian yang digunakan merupakan penelitian eksperimental laboratorik murni secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Penelitian ini menggunakan tanaman buah jeruk nipis yang diperoleh dari Instalasi Penelitian dan Pengembangan Teknologi Pertanian (IP2TP) Manoko Lembang yang sebelumnya telah di determinasi terlebih dahulu di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong dan dilakukan uji Fitokimia di Laboratorium Fakultas Farmasi Institut Teknologi Bandung.

Bakteri uji *Prevotella intermedia* ATCC 25611 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang sebelumnya telah dilakukan uji PCR bakteri untuk mendeteksi apakah bakteri tersebut benar bakteri *Prevotella intermedia*.

Pengujian fitokimia air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dilakukan untuk mengonfirmasi ada tidaknya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada air perasan jeruk nipis. Prosedur pengambilan air jeruk nipis dengan kriteria buah yang dipakai, yaitu jeruk nipis lokal, segar, dan berwarna hijau bersih. Selanjutnya jeruk nipis dicuci bersih dengan air mengalir, dipotong menjadi dua bagian, dan diperas menggunakan tangan secara manual dan dibantu menggunakan alat peras. Air perasan disaring menggunakan kertas saring steril untuk memisahkan biji dengan airnya dan selanjutnya disaring lagi sebanyak dua kali menggunakan kertas saring Whatmann 0,2mm. Setelah disaring, perasan jeruk nipis dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan disimpan dalam kulkas pada suhu 4°C.

Tahap berikutnya dilakukan kultur bakteri *Prevotella intermedia* ATCC 25611. Koloni bakteri diambil menggunakan jarum ose lalu ditanam ke dalam media *Trypticase soy broth* (TSB) dalam kondisi steril dan diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C secara anaerob, setelah dilakukan inkubasi, suspensi diukur untuk memenuhi standar McFarland 0,5 sebanding dengan kisaran  $1,5 \times 10^8$  colony forming units (CFU)/ml.

Kelompok perlakuan berjumlah 10, yang dibagi menjadi delapan konsentrasi perasan air jeruk nipis (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan 0,78%) satu kontrol negatif menggunakan akuades dan satu kontrol positif menggunakan *chlorhexidine* 0,2%. Penentuan besar sampel dilakukan dengan menggunakan rumus Federer dan diperoleh jumlah sampel minimal 3, dengan mempertimbangkan adanya *error* maka sampel minimal dalam satu

kelompok ditambahkan satu sehingga jumlahnya menjadi 4 kali pengulangan. Masing-masing kelompok ditanam di dalam media cair *Trypticase soy broth* dengan metode *microdilution* untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Analisis KHM dan KBM diperoleh dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri yang dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU/ml) pada media *Trypticase soy agar* dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif.

### Uji Daya Efektivitas Antibakteri

Siapkan 10 tabung reaksi steril masing-masing kelompok intervensi dan kelompok kontrol ditanam didalam media cair *Trypticase soy broth*. Proses pengenceran air perasan jeruk nipis dilakukan dengan pengenceran serial, dengan menyediakan delapan tabung reaksi dan diberikan nomor. Untuk mendapatkan air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 100%, pada tabung reaksi yang pertama dituangkan air perasan jeruk nipis murni sebanyak 10mL.

Selanjutnya dibuat serial konsentrasi air perasan jeruk nipis menjadi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625%, dan 0,78125%. 2 tabung selanjutnya yaitu diberikan kontrol negatif berupa akuades dan kontrol positif *chlorhexidine* 0,2%

Inkubasi seluruh tabung reaksi selama 24 jam pada suhu 37°C secara anaerob. Lakukan pengamatan terhadap perubahan kekeruhan pada setiap konsentrasi air perasan jeruk nipis. Setelah itu untuk menentukan KHM dan KBM dengan metode perhitungan jumlah koloni bakteri yang ditanam pada media agar.

Tanam sebanyak 0,05 ml pada media *Trypticase soy agar*. Lakukan teknik *spreading* pada masing-masing kelompok intervensi dan kelompok kontrol pada media *Trypticase soy agar* dan kemudian di inkubasi selama 2 x 24 jam dalam keadaan anaerob. Bakteri hasil

*spreading* pada media *Trpticase soy agar* pertumbuhannya diamati. Koloni bakteri yang dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU) pada media *Muller Hinton agar* dihitung dengan menggunakan alat *colony counter* dan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif untuk memperoleh nilai KHM dan KBM. Setelah itu dilakukan perbandingan penurunan jumlah koloni bakteri yang diberi senyawa antibakteri dari ekstrak uji dengan jumlah koloni bakteri awal untuk memperoleh hasil interpretasinya, sehingga aktivitas bakteristatik dan bakterisidal ekstrak uji dapat diketahui. Prosedur ini dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Selanjutnya dilakukan analisis data.

senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, steroid / triterpenoid, saponin, flavonoid.

Metabolit sekunder	Hasil Uji	Keterangan
Alkoloid	+	Terbentuk endapan jingga
Steroid/ triterpenoid	+	Terbentuk warna merah ada endapan coklat
Saponin	+	Terbentuk busa lebih dari 10 detik
Flavonoid	+	Terbentuk warna hijau bening diatas lapisan amilalkohol

Tabel 1. Hasil Perhitungan Koloni Bakteri

	Kontrol (+)	Kontrol (-)	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,125%	1,56%	0,78%
1.	0	146	0	0	0	0	0	12	33	78
2.	0	148	0	0	0	0	0	13	31	84
3.	0	152	0	0	0	0	0	10	29	86
4.	0	156	0	0	0	0	0	10	30	82
<b>Rerata</b>	0	150,5	0	0	0	0	0	8,75	30,75	82,5

## HASIL PENELITIAN

### Determinasi tanaman

Uji determinasi tanaman buah jeruk nipis dilakukan di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong. Hasil identifikasi tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah benar yaitu jenis *Citrus x aurantifolia* (Chirstm.) Swingle suku Rutaceae

### Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia menunjukkan hasil air perasan jeruk nipis positif mengandung

Kuinon	-	Tidak terjadi perubahan warna pada saat ditambah NaOH 1 N
Tanin	-	Tidak terjadi perubahan warna pada saat ditambah FeCL <sub>3</sub> dan H gelatin

### Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Hasil analisis perbandingan KHM dan KBM kontrol negatif dan kontrol positif adalah sebagai berikut:

Interpretasi aktivitas antibakteri air perasan jeruk nipis dilakukan dengan cara membandingkan penurunan jumlah koloni bakteri yang diberi perlakuan senyawa antibakteri dari air perasan jeruk nipis terhadap jumlah koloni bakteri awal.



Grafik 1 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri

Uji normalitas bertujuan untuk menilai sebagian data variable penelitian pada masing-masing kelompok apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *Shapiro-Wilk test* karena data berjumlah 40 dan kurang dari 50, sehingga dilakukan dengan *Shapiro-Wilk*. Berdasarkan uji normalitas yang telah dilakukan menggunakan metode *Shapiro-Wilk*.

Analisis terhadap normalitas distribusi data terhadap kelompok koloni kontrol negatif, konsentrasi 3,125%, 1,5625% dan 0,78125%.

Pada kontrol negatif dinyatakan berdistribusi normal yang dicerminkan dengan nilai sig pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sig=0,7982 di mana nilai sig lebih besar dari 0,05 sehingga data dikatakan berdistribusi normal. Pada uji dengan menggunakan program SPSS bernilai sama yaitu sig=0,214 dan masih lebih besar dibandingkan dengan 0,05

Pada konsentrasi 3,125% dinyatakan berdistribusi normal yang dicerminkan dengan nilai sig pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sig=0,224 di mana nilai sig lebih besar dari 0,05 sehingga data dikatakan berdistribusi normal. Pada uji dengan menggunakan program SPSS bernilai sama yaitu sig=0,298 dan masih lebih besar dibandingkan dengan 0,05

Pada konsentrasi 1,5625% dinyatakan berdistribusi normal yang dicerminkan dengan nilai sig pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sig=0,850 di mana nilai sig lebih besar dari 0,05 sehingga data dikatakan berdistribusi normal. Pada uji dengan menggunakan program SPSS bernilai sama yaitu sig=0,192 dan masih lebih besar dibandingkan dengan 0,05

Pada konsentrasi 0,78125% dinyatakan berdistribusi normal yang dicerminkan dengan nilai sig pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sig=0,850 di mana nilai sig lebih besar dari 0,05 sehingga data dikatakan berdistribusi normal. Pada uji dengan menggunakan program SPSS bernilai sama yaitu sig=0,192 dan masih lebih besar dibandingkan dengan 0,05

Berdasarkan hasil uji normalitas diketahui memiliki sig lebih dari 0,05 yang artinya rerata jumlah koloni pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* terdistribusi normal. Karena nilai sig lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa varian populasi homogen sehingga dapat dilakukan uji *one way ANOVA* karena memenuhi ketentuan dari syarat uji *one way ANOVA*, sehingga dilakukan analisis *varians one way ANOVA*.

Selanjutnya dilakukan analisis *varians one way (ANOVA)* dan diperoleh nilai sig atau p-value <0.05 yang menunjukkan adanya pengujian yang signifikan, yang berarti terdapat perubahan yang signifikan terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Prevotella intermedia* terhadap beberapa konsentrasi perasan air jeruk nipis.

Oleh karena itu untuk melihat kelompok mana yang memiliki pengaruh yang signifikan dilakukan uji lanjutan menggunakan *post hoc* dengan statistic uji *t-test independent* untuk membandingkan 2 kelompok independen. Dari hasil uji lanjutan terlihat nilai pada tiap sel menunjukkan besarnya p-value hasil uji secara berpasangan, terdapat hasil uji yang signifikan dengan hasil p-value < 0.05 yang menyatakan adanya perbedaan diantara dua treatment perlakuan yang dibandingkan artinya terdapat perbedaan signifikan yaitu terjadi penurunan jumlah koloni bakteri *Prevotella intermedia* terhadap konsentrasi air perasan jeruk nipis.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa jumlah koloni bakteri yang paling kecil terdapat pada konsentrasi 3,125%. Jumlah *Colony Forming Units* (CFU) pada setiap perlakuan yang telah diberikan air perasan jeruk nipis memiliki perbedaan yang bermakna yang artinya setiap perlakuan air perasan jeruk nipis menghasilkan penurunan jumlah koloni dari bakteri *Prevotella intermedia*.

Bakteri merupakan faktor risiko untuk terjadinya perkembangan peri-implantitis. Apabila terjadi perubahan komposisi bakteri terutama *Prevotella intermedia*, seperti penurunan jumlahnya akan berkaitan dengan terjadinya penurunan peradangan peri-implan. Perubahan lingkungan disekitar implant ini akan menyebabkan terjadinya perubahan hubungan antara jaringan dengan mikrobiota.<sup>16,17</sup>

Sifat antibakteri pada penelitian ini ditunjukkan dengan terjadinya penurunan jumlah koloni bakteri setelah diberi air perasan jeruk nipis. Penurunan jumlah koloni ini dapat terjadi karena adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada perasan air jeruk nipis, hasil uji fitokimia air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri seperti alkaloid, steroid, triterpenoid, saponin dan flavonoid. Hasil yang sebagai antibakteri, steroid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder

didapat sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Annisa,dkk. (2017) dan La Sakka,dkk. (2018) dimana air perasan jeruk nipis mengandung senyawa metabolit sekunder tersebut.

Flavonoid adalah senyawa polifenol terbesar yang memiliki sifat antioksidan dan antibakteri dan flavonoid pada jeruk nipis memiliki spektrum luas dalam menghambat dan membunuh aktivitas bakteri.<sup>18</sup> Flavonoid memiliki mekanisme kerja menghambat fungsi membran sel yang menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler karena kerusakan membran sel bakteri. Hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks antara flavonoid dengan protein ekstraseluler. Pada akhirnya terjadi kerusakan mikrosom, lisosom, dan permeabilitas dinding sel bakteri.<sup>19</sup> Flavonoid memiliki sifat bakteriostatik yang tergantung pada konsentrasinya. Flavonoid akan berinteraksi langsung dengan Deoxyribonucleic Acid (DNA) yang menyebabkan kerusakan pada DNA bakteri, sehingga bakteri tersebut mengalami lisis atau mati.<sup>12</sup>

Alkaloid memiliki kemampuan dalam penghambatan replikasi DNA. Kemampuan ini terjadi karena adanya penghambatan aktivasi enzim yang berperan pada proses pengarahannya nukleotida pada pita DNA.<sup>11</sup> Alkaloid sebagai antibakteri akan menyebabkan sel menjadi lisis karena tidak terbentuknya lapisan dinding sel secara utuh, akibat rusaknya komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri. Mekanisme lain yaitu dengan cara menghambat enzim topoisomerase sel bakteri dan juga sebagai interkalator DNA, karena mekanisme kerja alkaloid ini mengganggu lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga menyebabkan sel tersebut menjadi lisis atau mengalami kematian sel mikroba.<sup>19</sup>

Steroid adalah salah satu kandungan lain yang terdapat dalam jeruk nipis yang berperan yang terdapat pada jeruk nipis dan diketahui mempunyai aktivitas antibakteri, mekanisme

kerja steroid sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran pada liposom dan menyebabkan kerusakan sel bakteri.<sup>19,20</sup>

Saponin merupakan zat aktif glikosida triterpenoid, mekanisme kerjanya sebagai antibakteri yaitu dengan menyebabkan bakteri menjadi lisis. Kondisi ini dapat terjadi karena adanya kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri.<sup>21,22</sup>

Sehingga pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa konsentrasi air perasan jeruk nipis dapat menghambat dan membunuh bakteri *Prevotella intermedia*. Konsentrasi 3,125% merupakan konsentrasi yang menghasilkan jumlah koloni bakteri terendah, hal ini berarti bahwa konsentrasi perasan air jeruk nipis di atas konsentrasi 3,125% bersifat membunuh bakteri patogen periodontal *Prevotella intermedia* sedangkan di bawah konsentrasi 3,125% tidak menghambat pertumbuhan bakteri patogen periodontal *Prevotella intermedia*.

Dengan demikian pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% efektif dalam membunuh bakteri *Prevotella intermedia*. Jika konsentrasi air perasan jeruk nipis diturunkan maka akan menurunkan juga daya antibakterinya, hal ini dikarenakan semakin besar konsentrasi air perasan jeruk nipis akan mempengaruhi banyaknya kandungan metabolit sekunder dan zat aktif yang memiliki perana sebagai antibakteri, sehingga semakin besar kemampuannya dalam membunuh pertumbuhan bakteri.

Jumlah koloni pada kontrol positif dengan chlorhexidine 0,2% memiliki hasil yang sama dengan perasan air jeruk nipis sampai konsentrasi 6,25%. Akan tetapi penggunaan obat kumur chlorhexidine dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas tipe I pada beberapa pasien, dan juga obat kumur yang mengandung chlorhexidine memiliki efek samping meliputi *burning mouth syndrome* atau sensasi mulut terbakar, perubahan warna yang dapat terjadi

pada restorasi, gigi dan atau permukaan ventral lidah dan juga dapat meningkatkan pembentukan kalkulus.<sup>23</sup> Dalam penelitian ini diharapkan dapat menggantikan obat kumur yang mengandung chlorhexidine terutama untuk pasien dengan mucositis peri-implan dan pasien dengan alergi chlorhexidine. Sehingga penggunaan air perasan jeruk nipis dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif pengganti chlorhexidine 0,2%.

## SIMPULAN

Air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* pada konsentrasi 3,125% dan dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia* pada konsentrasi 6,25%.

## REFERENSI

1. Newman MG, Takei HH, Caranza FA. Clinical periodontology. 11th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 2011; 164-9.
2. Utomo DI, Lelyati S, Masulili C. Early detection and management of peri-implant diseases deteksi dini dan penatalaksanaan penyakit peri-implan. The 3rd Periodontic Seminar. 2017; 1(1): 70-9.
3. Klinge B, Hultin M, Berglundh, T. Peri-implantitis. Dent Clinics. 2005; 49(3): 661-76.
4. Utomo DI, Lelyati S, Masulili C. Early detection and management of peri-implant diseases deteksi dini dan penatalaksanaan penyakit peri-implan. The 3rd Periodontic Seminar. 2017; 1(1): 70-9.
5. Carroll KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S. Medical microbiology. California: Lange medical publication. 2016; 149-80.
6. Ishiguro K, Washio J, Sasaki K, Takahashi N. Real-time monitoring of the metabolic activity of periodontopathic bacteria. J Microbiol Methods. 2015; 11(5): 22-6

7. Smeets R, Henningsen A, Jung O, Heiland M, Hammächer C, Stein JM. Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis: a review. *Head & Face Med.* 2014; 10(1): 1-3.
8. Farhan, LS. The microbial etiology and pathogenesis of peri-implantitis. *Oral Health and Dent Management.* 2018; 1-11.
9. Martin B, Tadjoedin F. Mikrobiologi periodontitis kronis: kolonisasi bakteri, patogen utama, dan virus. *The Third National Scientific Seminar in Periodontics.* Jakarta, Indonesia. Jakarta: IPERI. 2014; 3(1): 6-7
10. Takahashi N, Ishihara K, Kimizuka R, Okuda K, Kato T. The effects of tetracycline, minocycline, doxycycline and ofloxacin on *Prevotella intermedia* biofilm. *Oral Microbiol and Immunology.* 2016; 21(6): 366-71.
11. Chismirina S, Magistra RY. Konsentrasi hambat dan bunuh minimum ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara in vitro. *Cakradonya Dent J.* 2016; 8(1): 68-76.
12. Lestari RK, Amalia E, Yuwono Y. Efektivitas jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* swingle) sebagai zat antiseptik pada cuci tangan. *J Kedokteran dan Kesehatan.* 2018; 5(2): 55-65.
13. Hakim RF, Editia A. Pengaruh air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *J Syiah Kuala Dentistry Society.* 2018; 1(3): 1-5.
14. Prastiwi SS, Ferdiansyah F. Kandungan dan aktivitas farmakologi jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* swing). *Farmaka.* 2017; 15(2): 1-8.
15. Lauma, SW. Uji efektifitas perasan air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Pharmacon.* 2014; 4(4): 1-15.
16. Hashimoto Y, Okada S, Yasuda K, Kawagoe M, Kajiya M & Tsuga K. Microbial differences between active and remission peri-implantitis. *Scientific Reports.* 2022;12:5284
17. Ito T, Mori G, Oda Y, Hirano T, Sasaki H, Honma S, et all. Clinical evaluation of periodontal pathogen levels by real-time polymerase chain reaction in peri-implantitis patients. *Int J Implant Dent.* 2021; 7:105.
18. Chusniah I, Muhtadi A. Aktivitas Jeruk Nipis (*citrus aurantifolia*) sebagai Antibakteri, Antivirus, Antifungal, Larvasida, dan Anthelmintik. *Farmaka.* 2017; 15(2): 9-22.
19. Rijayanti RP. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera Foetida L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura.* 2014; 1(1): 11-23.
20. Hidayah WW, Kusriani D, Fachriyah E. Isolasi, identifikasi senyawa steroid dari daun getih-getihan (*rivina humilis l.*) dan uji aktivitas sebagai antibakteri. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi.* 2016; 19(1): 7-32.
21. Sapara TU. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*impatiens balsamina l.*) terhadap pertumbuhan *porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon* 2016; 5(4): 10-17.
22. Sakka L. Identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin pada jeruk nipis (*citrus aurantifolia*) di kabupaten bone kecamatan lamuru menggunakan metode infusa. *Jurnal ilmiah kesehatan diagnosis.* 2018; 12(6): 4-670
23. Alzoman H, Alojaim TG, Chalikkandy SN, Mehmood A, Rashed F, Divakar DD. Comparison of an Herbal-and a 0.12% Chlorhexidine-based Oral Rinse as Adjuncts to Nonsurgical Mechanical Debridement in the Management of Peri-implant Mucositis: A Randomised Controlled Trial. *Oral Health Prev Dent.* 2020; 18(1): 52-645.

## Bukti melakukan review yang kedua (07 Desember 2022)

The screenshot shows the 'Review' page for submission #1176. The page is divided into several sections: 'Submission', 'Peer Review', and 'USER'. The 'Submission' section lists authors (Akane Kitayama, Calvin Kurnia, Vinna Kurniawati Sugiama) and the title 'PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS (Citrus aurantifolia) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP Pseudomonas aeruginosa PADA PENCEGAHAN PERIIMPLANTITIS (SECARA IN-VITRO)'. The 'Peer Review' section shows two rounds of reviews with dates and file names. The 'USER' section indicates the user is logged in as 'vinna' and provides links for 'My Journals', 'My Profile', and 'Log Out'. The page also features a 'Journal Template' icon and an 'Accreditation' logo for SINTA (Science and Technology Index).

HOME ABOUT USER HOME SEARCH CURRENT ARCHIVES ANNOUNCEMENTS

Home > User > Author > Submissions > #1176 > Review

### #1176 Review

SUMMARY REVIEW EDITING

#### Submission

Authors	Akane Kitayama, Calvin Kurnia, Vinna Kurniawati Sugiama
Title	PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS (Citrus aurantifolia) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP Pseudomonas aeruginosa PADA PENCEGAHAN PERIIMPLANTITIS (SECARA IN-VITRO)
Section	Research Articles
Editor	Rifani Rifani

#### Peer Review

##### Round 1

Review Version	1176-3740-2-RV.DOCX	2022-10-26
Initiated		2022-10-26
Last modified		2022-11-29
Uploaded file		None
Editor Version	1176-3900-1-ED.DOCX	2022-10-26
Author Version	1176-4005-1-ED.DOCX	2022-12-07

##### Round 2

Review Version	1176-3740-3-RV.DOCX	2022-12-07
Initiated		2022-12-07
Last modified		2022-12-07
Uploaded file	Reviewer A 1176-4005-1-RV.DOCX	2022-12-07

Journal Template

USER

You are logged in as...  
**vinna**

- My Journals
- My Profile
- Log Out

Accreditation:

## Bukti konfirmasi artikel diterima (07 Desember 2022)

## Peer Review

### Round 1

Review Version	1176-3740-2-RV.DOCX 2022-10-25
Initiated	2022-10-26
Last modified	2022-11-29
Uploaded file	None
Editor Version	1176-3900-1-ED.DOCX 2022-10-26
Author Version	1176-4005-1-ED.DOCX 2022-12-07

### Round 2

Review Version	1176-3740-3-RV.DOCX 2022-12-07
Initiated	2022-12-07
Last modified	2022-12-07
Uploaded file	Reviewer A 1176-4005-1-RV.DOCX 2022-12-07

### Editor Decision

Decision	Accept Submission 2022-12-07
Notify Editor	 Editor/Author Email Record  2022-11-29
Editor Version	1176-3900-2-ED.DOCX 2022-12-07
Author Version	None
Upload Author Version:	<input type="button" value="Choose File"/> No file chosen <input type="button" value="Upload"/>

ISSN: 2654-7643



#### USER

You are logged in as...

**vinna**

- » My Journals
- » My Profile
- » Log Out

#### Accreditation:



#### JOURNAL INDEX



**Bukti Galery Proof Manuscript**

Home > User > Author > Submissions > #1176 > Editing

## #1176 Editing

SUMMARY REVIEW **EDITING**

### Submission

Authors Akane Kitayama, Calvin Kurnia, Vinna Kurniawati Sugiaman

Title PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS (Citrus aurantifolia) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP Prevotella intermedia PADA PENCEGAHAN PERIIMPLANTITIS (SECARA IN-VITRO)

Section Research Articles

Editor Rifani Rifani

### Copyediting

COPYEDIT INSTRUCTIONS

REVIEW METADATA	REQUEST	UNDERWAY	COMPLETE
1. Initial Copyedit File: 1176-4007-1-CE.DOCK 2022-12-07	2022-12-07	—	2022-12-07
2. Author Copyedit File: 1176-4008-1-CE.DOCK 2022-12-07 <input type="button" value="Pilih File"/> Tidak ada file yang dipilih <input type="button" value="Upload"/>	2022-12-07	2022-12-07	2022-12-07
3. Final Copyedit File: 1176-4007-2-CE.DOCK 2022-12-07	2022-12-07	—	2022-12-07

Copyedit Comments No Comments

### Layout

Layout Editor Ivan Sander

Layout Version	REQUEST	UNDERWAY	COMPLETE	VIEWS
1176-4009-1-LE.DOCK 2022-12-07	2022-12-07	2022-12-07	2022-12-07	

Galley Format FILE

1. PDF (Bahasa Indonesia) VIEW PROOF	1176-4010-1-PB.PDF 2022-12-07		254
--------------------------------------	-------------------------------	--	-----

Supplementary Files FILE

None

Layout Comments No Comments

### Proofreading

REVIEW METADATA	REQUEST	UNDERWAY	COMPLETE
1. Author	2022-12-07	2022-12-07	2022-12-07
2. Proofreader	2022-12-07	—	2022-12-07
3. Layout Editor	2022-12-07	—	—

Proofreading Corrections No Comments PROOFING INSTRUCTIONS

ISSN: 2654-7643

#### FOCUS & SCOPE

AUTHOR GUIDELINE

ONLINE SUBMISSIONS

PUBLICATION ETHIC

EDITORIAL TEAM

REVIEWERS

AUTHOR FEE



#### USER

You are logged in as...

**vinna**

- > My Journals
- > My Profile
- > Log Out

#### Accreditation:



#### JOURNAL INDEX



#### TOOLS



#### VISITOR COUNTER

##### Visitors

ID 173,483	MY 339
SG 5,306	RU 207
US 3,706	TR 144
JP 519	KR 126
IN 406	CN 116

Pageviews: 405,927

#### E-ISSN :

e-ISSN : 2654-7643



**Bukti Publikasi Online Artikel (Desember 2022)**

Kapan saja

Sejak 2025

Sejak 2024

Sejak 2021

Relevansi khusus...

Urutkan menurut relevansi

Urutkan menurut tanggal

Semua jenis

Artikel kajian

sertakan paten

mencakup kutipan

**PERANAN AIR PERASAN JERUK NIPIS (Citrus aurantifolia) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Prevotella intermedia* PADA PENCEGAHAN PERIMPLANTITIS**

A Rizkiana, C JUBANA, ... B-Dent: Jurnal Kebersihan ... 2022 - jama.untrah.ac.id

**Introduction:** One of the complications of using implants in patients is peri-implantitis which occurs due to the invasion of *Prevotella intermedia* bacteria. Therefore, we need an agent that can play a role in inhibiting the growth of these bacteria, including lime juice. Lime (*Citrus aurantifolia*) is an herbal plant that is often used by the community in traditional medicine because it contains antibacterial compounds. The purpose of this study was to determine whether lime juice has antibacterial activity against the growth of *Prevotella* ...

📄 Simpan 50 Kutip Ditinjau 1 kali Artikel terkait 2 versi 90

Menampilkan hasil terbaik untuk penelusuran ini. Lihat semua hasil