

BUKTI KORESPONDENSI

ARTIKEL JURNAL NASIONAL TERAKREDITASI

Judul Artikel : Antibacterial Effectiveness of Lemon (Citrus limon (L.) Osbeck) Peel Extract against Porphyromonas gingivalis

Jurnal : Jurnal E-Gigi

Penulis : Azkya D. M. Latupeirissa, Calvin Kurnia, Vinna K.Sugiaman

No	Perihal	Tanggal
1.	Register pada Jurnal e-Gigi	12 September 2021
2.	Bukti konfirmasi submit artikel dan artikel yang disubmit	02 April 2022
3.	Bukti melakukan review yang pertama	02 Juni 2022
4.	Bukti konfirmasi submit revisi pertama yang telah direvisi	04 Juni 2022
5.	Bukti melakukan review yang kedua	
6.	Bukti konfirmasi submit artikel yang telah revisi kedua	
7.	Bukti konfirmasi artikel diterima	06 Juni 2022
8.	Bukti Galery Proof Manuscript	
9.	Bukti Publikasi Online Artikel	Juni 2022

Register pada Jurnal eGigi (12 September 2021)



Dr. dr. Sunny Wangko, MSi, SpA(K)
Dari: sunnypatriciawangko@gmail.com
Kepada: Vinna Kurniawati Sugiaman

Min, 12 Sep 2021 jam 10:44

Vinna Kurniawati Sugiaman

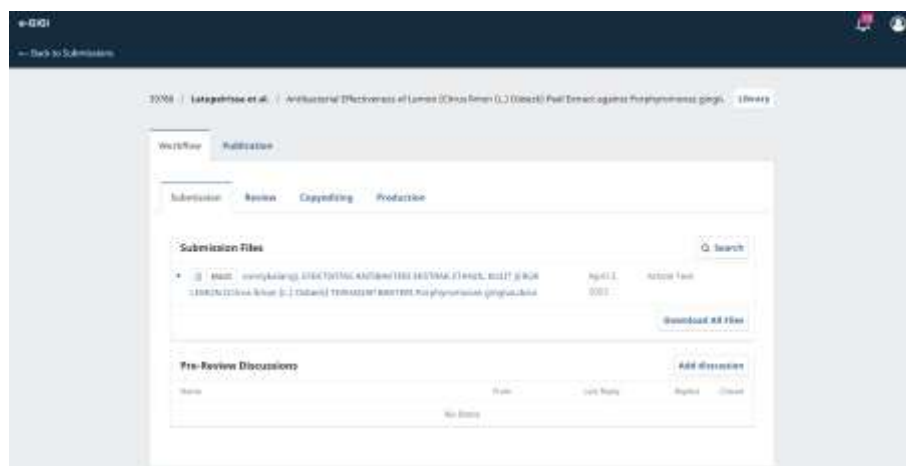
You have now been registered as a user with e-GiGi. We have included your username and password in this email, which are needed for all work with this journal through its website. At any point, you can ask to be removed from the journal's list of users by contacting me.

Username: vinna
Password: ukm12345*

Thank you,
Dr. dr. Sunny Wangko, MSi, SpA(K)

e-GIGI
<http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/egigi>

Bukti konfirmasi submit artikel dan artikel yang disubmit (02 April 2022)



EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK LEMON (*Citrus limon* (L.) Osbeck) TERHADAP BAKTERI *Porphyromonas gingivalis*

Azky D. M. Latupeirissa¹, Calvin Kurnia², Vinna Kuriniawati Sugiaman^{3*}

¹ Mahasiswa, FKG Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

² Bagian Periodonsia, FKG Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

³ Bagian *Oral Biology*, FKG Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

Email Korespondensi: vinnakurniawati@yahoo.co.id

Abstract:

Background: Periodontitis is an inflammatory disease caused by microorganisms that cause progressive damage to the periodontal tissue and one of the main pathogens is *Porphyromonas gingivalis* bacteria. *Porphyromonas gingivalis* is an anaerobic, non-motile rod-shaped gram-negative bacterium that produces black pigmented colonies. Treatment of periodontal disease can be given with antibiotics but has side effects and resistance to bacteria. Herbal plants that can be used as alternative medicine are lemon peel (*Citrus limon* (L.) Osbeck) which has active compounds such as flavonoids, tannins, steroids and triterpenoids which contain antibacterial effects. **Objective:** A study aims to determine the antibacterial effectiveness of the ethanolic extract of lemon peel (*Citrus limon* (L.) Osbeck) against *Porphyromonas gingivalis* consisting of concentrations of 0.625%, 1.25%, 2.5%, 5%, and 10%. **Methods:** The method used in this study was the broth microdilution test to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Kill Concentration (MBC) based on the Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). **Result:** The results of the various concentrations tested showed that MIC was at a concentration of 2.5% with an inhibition result of 75.80% and MBC at a concentration of 10% with an inhibition result of 99.53%. **Conclusion:** Lemon peel extract (*Citrus limon* (L.) Osbeck) had antibacterial effectiveness against *Porphyromonas gingivalis*.

Keywords: Lemon peel extract (*Citrus limon* (L.) Osbeck); Periodontitis; Porphyromonas gingivalis

Abstrak:

Pendahuluan: Periodontitis merupakan penyakit inflamasi yang disebabkan oleh mikroorganisme sehingga terjadinya kerusakan progresif pada jaringan periodontal dan salah satu patogen utamanya adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri gram negatif anaerob, non-motil berbentuk batang yang menghasilkan koloni *Black-pigmented*. Pengobatan penyakit periodontal dapat diberikan dengan obat antibiotik namun memiliki efek samping dan resistensi terhadap bakteri. Tumbuhan herbal yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif adalah kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) memiliki senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, steroid dan triterpenoid yang mengandung efek antibakteri. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang terdiri dari konsentrasi 0,625%, 1,25%, 2,5%, 5%, dan 10%. **Metode:** Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan uji *broth microdilution* untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). **Hasil:** Hasil penelitian dari berbagai konsentrasi yang diujikan bahwa KHM berada pada konsentrasi 2,5% dengan hasil inhibisi 75.80% dan KBM pada konsentrasi 10% dengan hasil inhibisi 99.53%. **Kesimpulan:** Ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

Kata kunci: Ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck); Periodontitis; *Porphyromonas gingivalis*

PENDAHULUAN (INTRODUCTION)

Penyakit periodontal merupakan suatu penyakit inflamasi kronis pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh infeksi bakteri patogen spesifik seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Bacteriodes forsythus* dan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* yang menimbulkan adanya plak gigi sehingga memicu respon inflamasi pada tubuh host.¹ Penyebab penyakit periodontal diklasifikasikan menjadi faktor primer dan faktor sekunder. Faktor primer karena adanya bakteri plak sedangkan faktor sekunder adanya sekunder lokal dan sistemik yang meningkatkan akumulasi plak yang dapat menurunkan respons protektif pejamu.² Prevalensi penyakit periodontal dialami oleh 96,58% penduduk pada seluruh kelompok usia produktif.³

Penyakit periodontal diklasifikasikan menjadi dua, yaitu: gingivitis dan periodontitis.⁴ Gingivitis merupakan proses inflamasi pada jaringan lunak yang mengelilingi gigi tetapi tidak menyebabkan inflamasi yang meluas ke dasar *alveolar ridge*, ligamen periodontal, atau sementum.⁵ Periodontitis merupakan penyakit inflamasi yang disebabkan oleh mikroorganisme dan terjadi kerusakan progresif pada jaringan periodontal.⁶ Mikroorganisme utama yang ditemukan pada periodontitis, yaitu *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, dan *Treponema denticola*.⁷ Pada beberapa periodontopathogen ditemukan bahwa, *Porphyromonas gingivalis* menjadi salah satu bakteri patogen utama yang menyebabkan inisiasi dan progresifitas inflamasi pada periodontitis.⁸

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri gram negatif anaerob, non-motil berbentuk batang yang menghasilkan koloni *Black-pigmented*.⁹ *Porphyromonas gingivalis* menghasilkan koloni *black-pigmented* pada media agar darah dengan agregasi heme pada permukaan sel karena bakteri membutuhkan zat besi sebagai nutrisi.¹⁰ *Porphyromonas gingivalis* bertahan hidup di dalam plak subgingiva secara signifikan mencapai 85,75% pada pasien periodontitis kronis.¹¹ Bakteri ini memiliki faktor virulensi atau potensi toksin yang dapat menginfeksi sekaligus merusak jaringan normal, beberapa faktor potensial dari *Porphyromonas gingivalis*, yaitu kapsul, fimbria, lipopolisakarida (LPS), vesikel membran dan gingipain yang menyebabkan perubahan patologis pada jaringan periodontal.¹²

Perawatan periodontal dilakukan untuk mengeliminasi plak pada subgingiva dan mereduksi kalkulus dengan *scaling* dan *root planing* kemudian menyikat gigi secara teratur dan pemberian obat kumur *chlorhexidine gluconate* 0,1% secara lokal yang sering dilakukan dalam perawatan periodontitis kronis.¹³ *Chlorhexidine gluconate* 0,1% merupakan larutan zat antibakteri yang kandungannya bersifat bakterisida dan efektif untuk bakteri gram negatif.¹⁴ Penggunaan obat kumur *chlorhexidine* dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan resistensi bakteri dan adanya efek samping seperti pewarnaan gigi, mukosa oral, bahan restorasi, sensasi, dan rasa tidak enak.¹⁵ Oleh karena itu, diperlukan suatu perawatan alternatif menggunakan bahan alami untuk mengeliminasi efek samping dari penggunaan obat antibakteri kimia, yaitu dengan tanaman herbal yang memiliki aktivitas antibakteri.

Jeruk lemon merupakan tanaman herbal yang memiliki senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri dan mengandung asam sitrat, flavonoid, tanin, saponin, limonoid, dan terpenoid.¹⁶ Bahan alami pada jeruk lemon dapat digunakan seperti kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) yang mengandung flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid.¹⁷ Flavonoid bekerja sebagai antibakteri karena kemampuannya berinteraksi dengan DNA pada inti sel dan melalui perbedaan lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid terjadi reaksi mengakibatkan kerusakan struktur lipid DNA dan inti sel bakteri akan menjadi lisis sehingga adanya senyawa bioaktif pada kulit jeruk lemon dapat menghambat pertumbuhan bakteri.¹⁸

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya oleh Mega Tri Astuti, menunjukkan bahwa kulit jeruk lemon dengan konsentrasi 10%, 30%, 50% memiliki efek penghambatan dalam pertumbuhan bakteri yang merupakan bakteri gram negatif dengan daya hambat 12,17mm, 15,04mm dan 17,75mm pada penelitian tersebut.¹⁹ Pada penelitian dilakukan pengembangan penelitian sebelumnya dengan mengetahui konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum pada konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625%.

METODE PENELITIAN (METHODS)

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium secara *in vitro* dengan metode *broth microdilution* untuk menentukan KHM dan KBM. Sampel pada penelitian ini adalah *Porphyromonas gingivalis* ATCC (American Type Culture Cell) 33277 yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Padjajaran Bandung, dan kulit jeruk lemon yang berasal dari buah lemon lokal berwarna hijau, dengan usia tanaman 1,5 tahun yang didapatkan dari Perkebunan Padepokan Pandawa Lima Cibodas – Maribaya Kab. Bandung Barat. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi UNPAD Bandung.

Pembuatan Ekstrak Kulit Jeruk Lemon:

(1) Kulit jeruk lemon sebanyak 3kg dicuci sampai bersih kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan; (2) Kulit jeruk lemon kerig kemudian dihaluskan dengan blender sampai menjadi simplisia; (3) Simplisia kulit jeruk lemon dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24jam, kemudian ditutup dengan aluminium foil; (4) Setelah itu maserasi disaring dan pada ampasnya ditambahkan lagi pelarut etanol 96% lagi; (5) Lakukan pengulangan sebanyak empat kali sampai filtrat menjadi jernih, lalu hasil ekstrak cair dipekatkan sampai ekstrak kental dengan *rotary vacuum evaporator* dan diuapkan dengan *waterbath* sampai dihasilkan ekstrak kulit jeruk lemon kental yang siap digunakan.

Pembuatan Media Tumbuh:

Pada penelitian ini media yang digunakan yaitu *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *Mueller Hinton Broth* (MHB), timbang sebanyak 38gram media MHA dan 21gram media MHB, kemudian masing-masing dilarutkan dalam 1000mL ddH₂O dengan bantuan *microwave*, lalu sterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit dengan tekanan 1,5atm.

Persiapan Mikroorganisme Uji:

Persiapan mikroorganisme uji dilakukan dengan cara menginokulasi dan membiakkan *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Padjajaran Bandung pada medium BAP yang kemudian diinkubasi selama 12-24 jam pada suhu 37°C.

Pembuatan Inokulum *Porphyromonas gingivalis*:

Pembuatan inokulum dilakukan dengan menggunakan metode *direct colony suspension* yang didapatkan dengan menginokulasikan koloni *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 yang telah dikultur selama 24 jam pada medium MHA ke dalam MHB. Standar McFarland 0,5 digunakan untuk mendapatkan inokulum dengan jumlah bakteri sekitar $1-5 \times 10^8$ CFU/mL. Pengenceran pada larutan tersebut menggunakan MHB dengan perbandingan 1:50 untuk menghasilkan inokulum dengan jumlah bakteri pada rentang 2×10^6 - 1×10^7 CFU/mL. Kemudian dilakukan pengenceran menggunakan media MHB dengan perbandingan 1:20 untuk menghasilkan inokulum dengan jumlah bakteri pada rentang $1-5 \times 10^5$ CFU/mL.

Analisis Statistik:

Data hasil pengukuran persentase viabilitas dan inhibisi yang didapatkan kemudian diuji secara statistik. Dalam penelitian ini uji statistik yang digunakan adalah Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji Post Hoc Tukey HSD. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan aplikasi IBM Statistics SPSS versi 25.

HASIL PENELITIAN (RESULTS)

Kulit jeruk lemon yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Perkebunan Padepokan Pandawa Lima Cibodas – Maribaya Kab. Bandung Barat, Jawa Barat. Dilakukan uji determinasi untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian. Buah lemon lokal yang digunakan berwarna hijau, kulit yang tipis dengan daging buah tidak terlalu tebal dan dari segi bentuknya lonjong bulat. Hal ini menunjukkan bahwa kulit yang berasal dari buah jeruk lemon benar sesuai dengan ciri-cirinya beserta nama spesiesnya yaitu: *Citrus limon* (L.) Osbeck. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia ekstrak secara kualitatif. Berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif, ekstrak kulit jeruk lemon yang digunakan pada penelitian ini memiliki kandungan senyawa bioaktif, yaitu:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Kulit Jeruk Lemon

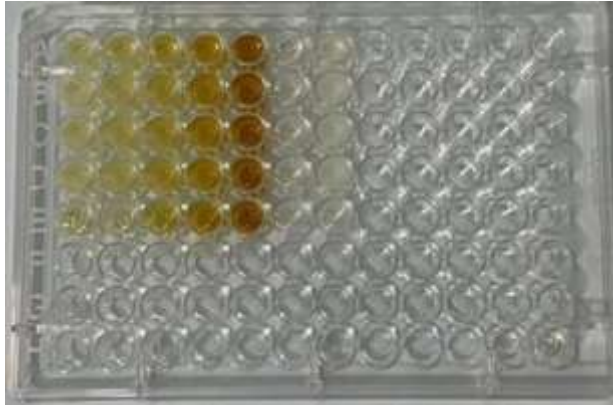
No.	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
1	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	++
2	Flavonoid	a. Pereaksi HCl pekat + Mg b. Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N c. Pereaksi NaOH 10%	- - -
3	Triterpenoid dan Steroid	Pereaksi H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH anhidrat	++ + +

Keterangan:

- + : sedikit
- ++ : sedang
- +++ : banyak
- : tidak ada

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk lemon memiliki kandungan flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya, menunjukkan bahwa kulit jeruk lemon mengandung flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid, namun di dalam penelitian tersebut ditemukan adanya flavonoid negatif dalam kulit jeruk lemon. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa flavonoid tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor seperti lingkungan hidup, usia, dan cuaca.

Penelitian ini menggunakan tujuh perlakuan untuk setiap pengulangan, yaitu DMSO 10% sebagai kontrol negatif, Chlorhexidine 0,1% sebagai kontrol positif dan ekstrak kulit jeruk lemon yang telah diencerkan menjadi lima konsentrasi yaitu 10%, 5%, 2,5%, 1,25% dan 0,625% dengan jumlah pengulangan empat kali sesuai dengan perhitungan jumlah sampel yang menggunakan rumus *Frederer*.



Gambar 1. Sembilan puluh enam *well plate* uji KHM dan KBM *Porphyromonas gingivalis*

Data kuantitatif yang didapatkan dari pengujian KHM dan KBM diukur dengan pengukuran absorbansi medium dalam *96 well plate* menggunakan alat *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 405nm. Hasil pengujian pengukuran disajikan di dalam Tabel 2.

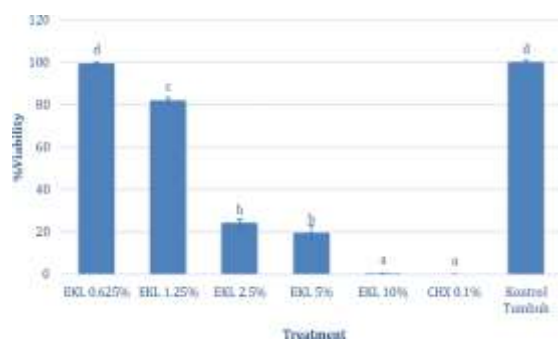
Tabel 2. Hasil Uji Spektrofotometri pada Panjang Gelombang 405 nm

Sampel	Viabilitas (%)	Inhibisi (%)
EKL 0,625%	99.55 ± 0.39	0.45 ± 0.39
EKL 1,25%	82.10 ± 1.09	17.90 ± 1.09
EKL 2,5%	24.20 ± 1.77	75.80 ± 1.77
EKL 5%	19.59 ± 3.57	80.41 ± 3.57
EKL 10%	0.47 ± 0.10	99.53 ± 0.10
CHX 0,1%	0.03 ± 0.01	99.97 ± 0.01
KT	100.00 ± 0,91	0.00 ± 0.91

Keterangan:

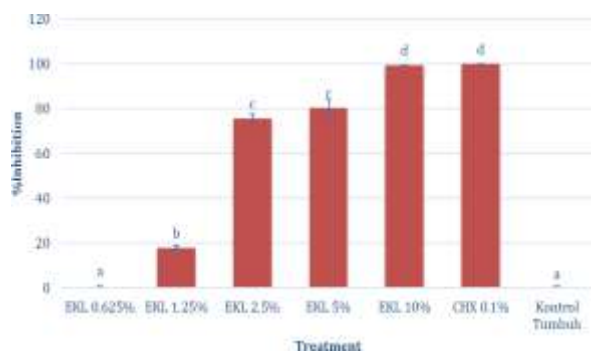
EKL 0,625%	:	Ekstrak Kulit Lemon Konsentrasi 0,625%;
EKL 1,25%	:	Ekstrak Kulit Lemon Konsentrasi 1,25%;
EKL 2,5%	:	Ekstrak Kulit Lemon Konsentrasi 2,5%;
EKL 5%	:	Ekstrak Kulit Lemon Konsentrasi 5%;
EKL 10%	:	Ekstrak Kulit Lemon Konsentrasi 10%;
CHX 0,1%	:	<i>Chlorhexidine gluconate</i> 0,1%;
KT	:	Kontrol Tumbuh <i>Dimethyl Sulfoxide</i> 10%.

Tabel 2 menunjukkan konsentrasi 0,625%, 1,25%, 2,5% memiliki kekeruhan sama dan bersifat menghambat pertumbuhan bakteri karena masih terlihat pertumbuhan koloni bakteri patogen periodontal *Porphyromonas gingivalis*; Sebaliknya pada konsentrasi 5% dan 10% ekstrak kulit jeruk lemon yang sama dengan kontrol positif terdapat daya bunuh karena terlihat jernih dan tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Maka dengan pengamatan ini ditentukan nilai KHM pada konsentrasi 2,5% dan nilai KBM pada konsentrasi 10%.



Grafik 1. Persentase Viabilitas Ekstrak Kulit Jeruk Lemon Terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Berdasarkan Grafik 1, dapat dilihat bahwa persentase nilai viabilitas tertinggi terdapat pada kontrol tumbuh atau kontrol negatif menggunakan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% sebesar 100% sebanding dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk lemon nilai viabilitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 0,625% sebesar 99,55%. Persentase nilai viabilitas terendah terdapat pada kontrol positif menggunakan *chlorhexidine* 0,1% sebesar 0,03% dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk lemon nilai viabilitas terendah terdapat pada konsentrasi 10% sebesar 0,47%.



Grafik 2. Persentase Inhibisi Ekstrak Kulit Jeruk Lemon Terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Berdasarkan Grafik 2, dapat dilihat bahwa persentase nilai inhibisi tertinggi terdapat pada kontrol positif menggunakan *chlorhexidine* 0,1% sebesar 99,97% dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk lemon nilai inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 10% dengan persentase sebesar 99,53%. Persentase nilai inhibisi terendah terdapat pada kontrol tumbuh atau kontrol negatif menggunakan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% sebesar 0% dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk lemon nilai inhibisi terendah terdapat pada konsentrasi 0,625% dengan persentase sebesar 0,45%.

BAHASAN (DISCUSSION)

Pada penelitian yang telah dilakukan, untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak kulit jeruk lemon dengan konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625% terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*, menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk lemon memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil uji spektrofotometer dengan panjang gelombang 405nm diperoleh bahwa jumlah koloni bakteri paling kecil mengalami pertumbuhan sebagai KBM adalah pada konsentrasi 2,5% dengan jumlah koloni bakteri 75,80% dan pada konsentrasi 10% yang ditemukan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri dengan jumlah koloni bakteri 99,53% sebagai KBM.

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk lemon memiliki aktivitas antibakteri disebabkan karena adanya senyawa bioaktif berupa flavonoid, tanin, triterpenoid, dan steroid yang telah diuji fitokimia dan memiliki perbedaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa flavonoid dan tanin dalam kulit jeruk lemon merupakan bagian bersifat polar sehingga ekstrak lemon lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid non polar sehingga hal ini mungkin menyebabkan penghambatan ekstrak terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* lebih luas.²⁰ Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol sebagai antibakteri yang dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri, selain itu flavonoid bersifat lipofilik yang merusak membran bakteri dan dalam inhibisi sintesis DNA-RNA berdasarkan ikatan hidrogen dengan basa asam nukleat yang dapat mengganggu metabolisme energi untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan biosintesis makromolekul yang akan merusak sistem respirasi dan membran sel bakteri.²¹

Tanin merupakan senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol yang memiliki efek antibakteri melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik protein enzim yang terdapat pada bakteri akan terdenaturasi sehingga metabolisme bakteri akan terganggu dan terhambat.²² Mekanisme kerja tanin diduga dapat menghambat enzim *reverse transkriptase*, DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak terbentuk dan aktivitas antibakteri tanin memiliki kemampuan menginaktifkan adhesin sel bakteri dan enzim dengan mengganggu jalan masuk protein ke lapisan dalam sel sehingga akibatnya terganggu permeabilitas sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.²³ Triterpenoid sebagai antibakteri bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimerkuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau lisis.²⁴

Cara kerja steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom.²⁵ Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap

senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis.²⁶

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa pada ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) menghasilkan aktivitas antibakteri yang berpengaruh pada bakteri patogen periodontal, yaitu *Porphyromonas gingivalis*. Dengan demikian dapat disederhanakan bahwa konsentrasi minimum ekstrak kulit jeruk lemon pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* terdapat pada konsentrasi 2,5% dikarenakan masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* sedangkan di atas konsentrasi 2,5% tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* sehingga pada konsentrasi yang bersifat membunuh didapatkan pada konsentrasi 10% akan tetapi di bawah konsentrasi 10% menunjukkan penghambatan bakteri *Porphyromonas gingivalis* karena inhibisi sampai 90% dan viabilitas di bawah 10% sama dengan kontrol positif yang digunakan.

SIMPULAN (CONCLUSION)

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa nilai KHM ekstrak kulit lemon terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada penelitian ini adalah pada konsentrasi 2,5%. Nilai KBM ekstrak kulit lemon terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada penelitian ini adalah sebesar 10%. Tingkat penghambatan yang ditunjukkan ekstrak kulit lemon terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* berbanding lurus dengan tingkat konsentrasinya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi penghambatan yang dihasilkan.

Konflik Kepentingan (Conflict of Interest)

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha yang telah mendukung proses pembuatan artikel ini.

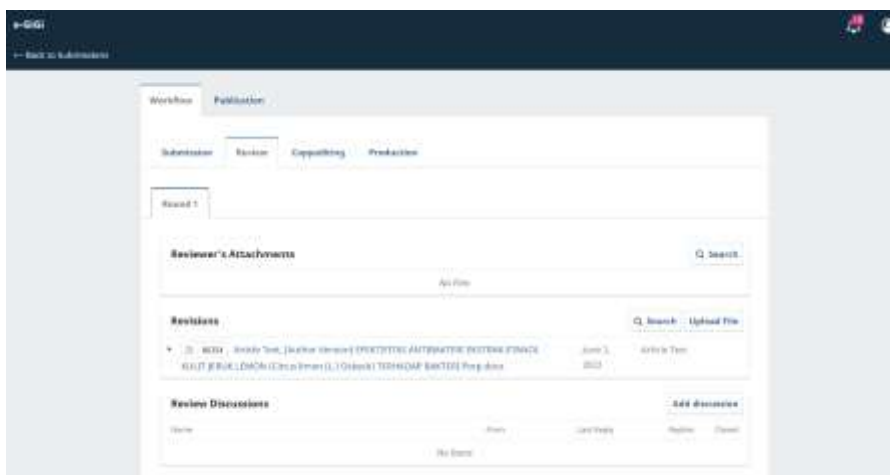
DAFTAR PUSTAKA (REFERENCES)

1. Kurniawati I, Pujiastuti P, Wulan Suci Dharmayanti A. Kadar kalsium (Ca) dalam cairan krevikular gingiva pada penderita periodontitis kronis. *Odonto Dent Journal*. 2015;2(1):8-13.
2. Pujiastuti P. Obesitas dan penyakit periodontal. *Stomatognathic Journal*. 2012;9(2):82-85.
3. Tyas EW, Henry SS, Mateus SA. Gambaran kejadian penyakit periodontal puskesmas sronдол kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2016;4:510-513.
4. Kiswaluyo. Perawatan periodontitis pada puskesmas sumpangsari, puskesmas wuluhan dan RS Bondowoso. *Stomatognathic Journal*. 2013;10(3):115-120.
5. Setyohadi R, Rachmawati R, Hartati S. Perbedaan tingkat kerentanan gingivitis antara wanita menopause dengan wanita pascamenopause. *Prodenta Journal*. 2013;1(1):1-6.

6. Arifiana Vd, Prandita N. Penatalaksanaan periodontitis kronik pada penderita diabetes mellitus (Management of chronic periodontitis in diabetes mellitus patients). *Stomatognathic Journal*. 2019;16(2):59-63.
7. Soullissa, Gani A. Hubungan kehamilan dan penyakit periodontal. *Jurnal PDGI*. 2014;63(3):71-77.
8. Yuanita T, Jannah R, Pasetyo Ea. Perbedaan daya antibakteri ekstrak kulitkoko terhadap *Porphyromonas gingivalis* (the difference between antibacterial activity of cocoa husk extract (*Theobroma cacao*) and NaOCL 2.5% againsts *Porphyromonas gingivalis*). *ConservativeDentistry Journal*. 2018;8(1):49-56.
9. Anas R, Husein H, Hasanuddin NR, Puspitasari Y, Eva AFZ, Danto SAS. Efektivitas ekstrak etanol umbi sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* terhadap daya hambat bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Studi in vitro). *Sinnun Maxillofacial Journal*. 2021;1(1):19-29.
10. Bostanci N, Belibasakis Gn. *Porphyromonas gingivalis*: An invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *Journal Fems Microbiol Lett*. 2012;333(1):1-9.
11. How Ky, Song Kp, Chan Kg. *Porphyromonas gingivalis*: An overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Journal Front Microbiology*. 2016;7:1-14.
12. Putri Cf, Bachtiar Ew. *Porphyromonas gingivalis* dan patogenesis disfungsi kognitif: Analisis peran sitokin neuroinflamasi. *Cakradonya Denta Journal*. 2020;12(1):15-23.
13. Sunnati, Rezeki S, Alibasah Zm, Saputri D, Syifa. Daya hambat minuman probiotik yoghurt susu sapi terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro. *Journal Of Syiah Kuala Dentistry*. 2019;4(2):65-75.
14. Dwipriastuti D, Putranto Rr, Anggarani W. Perbedaan efektivitas *chlorhexidine glukonat* 0,2% dengan teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap jumlah *Porphyromonas gingivalis*. *Odonto Dental Journal*. 2017;4:50-54.
15. Anas R, Husein H, Hasanuddin NR, Puspitasari Y, Eva AFZ, Danto SAS. Efektivitas ekstrak etanol umbi sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* terhadap daya hambat bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Studi in vitro). *Sinnun Maxillofacial Journal*. 2021;1(1):19-29.
16. Bostanci N, Belibasakis Gn. *Porphyromonas gingivalis*: An invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *Journal Fems Microbiol Lett*. 2012;333(1):1-9.
17. How Ky, Song Kp, Chan Kg. *Porphyromonas gingivalis*: An overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Journal Front Microbiology*. 2016;7:1-14.
18. Putri Cf, Bachtiar Ew. *Porphyromonas gingivalis* dan patogenesis disfungsi kognitif: Analisis peran sitokin neuroinflamasi. *Cakradonya Denta Journal*. 2020;12(1):15-23.
19. Afiff F, Amilah S. Efektivitas Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Stigma Journal Of Science*. 2017;10(1):12-16.
20. Muhammadiyah U, Utara S. Pengaruh Pemberian air perasan jeruk lemon (*Citrus limon*) terhadap penurunan berat badan pada tikus jantan galur wistar. *Jurnal Ilmiah Kohesi*. 2021;5(3):51-56.
21. Irwan S, Halimatussakdiah, Ulil A. Skrining fitokimia ekstrak daun jeruklemon (*Citrus limon* L.) dari kota Langsa, Aceh. *Jurnal Kimia Sains dan Terapan*. 2021;3(1):19-23
22. Indrawati. Klasifikasi kematangan jeruk lemon menggunakan metode K- Nearest Neighbourhood. *Jurnal Infomedia*. 2017;2(2):21-26.
23. Simamora TF, Sinaga R. Pengaruh jenis zpt dan jenis media tanam terhadap pertumbuhan bibit jeruk lemon (*Citrus limon*). *Jurnal Tapanuli*. 2021;3(2):286-293.
24. Rr Catur, Rini S. Pengaruh pemberian aromaterapi lemon terhadap *Emesis gravidarum*. *Jurnal MU Poltekkes Mataram*. 2021;3(1):20-29.

25. Neovita E, Sari P, et al. Pengembangan ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L)) sebagai antidiabetes oral. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2020;8(1):1-8.
26. Isnaini M, Eko N, Laras R. Kajian potensi ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pengolahan & Biotek*. 2018;7(1):7-14.

Bukti melakukan review yang pertama (02 Juni 2022)



Bukti konfirmasi submit revisi pertama yang telah direvisi (04 Juni 2022)

Antibacterial Effectiveness of Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) Peel Extract against *Porphyromonas gingivalis*

Efektifitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Azkya D. M. Latupeirissa,¹ Calvin Kurnia,² Vinna K. Sugiama³

¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

²Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

³Bagian *Oral Biology*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

Email Korespondensi: vinnakurniawati@yahoo.co.id

Received: April 2, 2022; Accepted; Published on line

Abstract: Periodontitis is an inflammatory disease caused by microorganisms resulting in progressive damage of periodontal tissue. One of the main pathogens is *Porphyromonas gingivalis*.

Periodontal disease can be treated with antibiotics but they have side effects and bacterial resistance. Herbal plants that can be used as alternative medicine, inter alia, lemon peel (*Citrus limon* (L.) Osbeck). Its active compounds such as flavonoids, tannins, steroids, and triterpenoids have antibacterial effects. This study aimed to determine the antibacterial effectiveness of the ethanolic extract of lemon peel (*Citrus limon* (L.) Osbeck) against *Porphyromonas gingivalis* in several concentrations of 0.625%, 1.25%, 2.5%, 5%, and 10%. The method used in this study was the broth microdilution test to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Kill Concentration (MBC) based on the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The results showed that MIC was at a concentration of 2.5% with an inhibition result of 75.80% and MBC at a concentration of 10% with an inhibition result of 99.53%. In conclusion, lemon peel extract (*Citrus limon* (L.) Osbeck) had antibacterial effectiveness against *Porphyromonas gingivalis*.

Keywords: lemon peel extract (*Citrus limon* (L.) Osbeck); periodontitis; *Porphyromonas gingivalis*

Abstrak: Periodontitis merupakan penyakit inflamasi yang disebabkan oleh mikroorganisme sehingga terjadinya kerusakan progresif pada jaringan periodontal. Salah satu patogen utama ialah *Porphyromonas gingivalis*. Penyakit periodontal dapat diobati dengan antibiotik namun memiliki efek samping dan resistensi bakteri. Tumbuhan herbal yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif ialah kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) yang memiliki senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, steroid dan triterpenoid yang mengandung efek antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) terhadap *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 0,625%, 1,25%, 2,5%, 5%, dan 10%. Metode yang digunakan ialah uji *broth microdilution* untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Hasil penelitian pada berbagai konsentrasi yang diujikan menunjukkan bahwa KHM berada pada konsentrasi 2,5% dengan hasil inhibisi 75.80% dan KBM pada konsentrasi 10% dengan hasil inhibisi 99.53%. Simpulan penelitian ini ialah ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

Kata kunci: ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck); periodontitis; *Porphyromonas gingivalis*

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan suatu inflamasi kronis pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh infeksi bakteri patogen spesifik seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Bacteroides forsythus*, dan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* yang menimbulkan adanya plak gigi sehingga memicu respon inflamasi pada tubuh host.¹ Penyebab penyakit periodontal diklasifikasikan menjadi faktor primer dan faktor sekunder. Faktor primer karena adanya bakteri plak sedangkan faktor sekunder karena adanya infeksi sekunder lokal dan sistemik yang meningkatkan akumulasi plak yang dapat menurunkan respons protektif pejamu.² Prevalensi penyakit periodontal dialami oleh 96,58% penduduk pada seluruh kelompok usia produktif.³

Penyakit periodontal diklasifikasikan menjadi dua, yaitu: gingivitis dan periodon-

titis.⁴ Gingivitis merupakan proses inflamasi pada jaringan lunak yang mengelilingi gigi tetapi tidak menyebabkan inflamasi yang meluas ke dasar *alveolar ridge*, ligamen periodontal, atau sementum.⁵ Periodontitis merupakan penyakit inflamasi yang disebabkan oleh mikroorganisme dan terjadi kerusakan progresif pada jaringan periodontal.⁶ Mikroorganisme utama yang ditemukan pada periodontitis, yaitu *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, dan *Treponema denticola*.⁷ Dari beberapa periodontopatogen ditemukan bahwa *Porphyromonas gingivalis* menjadi salah satu bakteri patogen utama yang menyebabkan inisiasi dan progresifitas inflamasi pada periodontitis.⁸

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri Gram negatif anaerob, non-motil berbentuk batang yang menghasilkan koloni

black-pigmented pada media agar darah dengan agregasi heme pada permukaan sel karena bakteri membutuhkan zat besi sebagai nutrisi.^{9,10} *Porphyromonas gingivalis* bertahan hidup di dalam plak subgingiva secara bermakna mencapai 85,75% pada pasien periodontitis kronis.¹¹ Bakteri ini memiliki faktor virulensi atau potensi toksin yang dapat menginfeksi sekaligus merusak jaringan normal. Beberapa faktor potensial dari *Porphyromonas gingivalis*, yaitu kapsul, fimbria, lipopolisakarida (LPS), vesikel membran dan gingipain yang menyebabkan perubahan patologik pada jaringan periodontal.¹²

Perawatan periodontal dilakukan untuk mengeliminasi plak pada subgingival dan mereduksi kalkulus dengan *scaling* dan *root planing* kemudian menyikat gigi secara teratur dan pemberian obat kumur *chlorhexidine gluconate* 0,1% secara lokal yang sering dilakukan dalam perawatan periodontitis kronis.¹³ *Chlorhexidine gluconate* 0,1% merupakan larutan zat antibakteri yang kandungannya bersifat bakterisida dan efektif untuk bakteri Gram negatif.¹⁴ Penggunaan obat kumur *chlorhexidine* dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan resistensi bakteri dan adanya efek samping seperti pewarnaan gigi, mukosa oral, bahan restorasi, sensasi, dan rasa tidak enak.⁹ Oleh karena itu, diperlukan suatu perawatan alternatif menggunakan bahan alami untuk mengeliminasi efek samping dari penggunaan obat antibakteri kimia, yaitu dengan tanaman herbal yang memiliki aktivitas antibakteri.

Jeruk lemon merupakan tanaman herbal yang memiliki senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri dan mengandung asam sitrat, flavonoid, tanin, saponin, limonoid, dan terpenoid.¹⁰ Bahan alami pada jeruk lemon yang dapat digunakan seperti kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) mengandung flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid.¹¹ Flavonoid bekerja sebagai antibakteri karena kemampuannya berinteraksi dengan DNA pada inti sel dan melalui perbedaan lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid terjadi reaksi yang mengakibatkan kerusakan struktur lipid DNA dan inti sel bakteri akan menjadi lisis. Dengan demikian adanya senyawa bioaktif pada kulit

jeruk lemon dapat menghambat pertumbuhan bakteri.¹²

Hasil penelitian oleh Astuti,¹⁵ menunjukkan bahwa kulit jeruk lemon dengan konsentrasi 10%, 30%, 50% memiliki efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri Gram negatif dengan daya hambat 12,17 mm, 15,04 mm dan 17,75 mm pada penelitian tersebut. Pada penelitian ini dilakukan pengembangan dari penelitian sebelumnya untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum pada konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625% dari ekstrak kulit jeruk lemon.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium secara *in vitro* dengan metode *broth microdilution* untuk menentukan KHM dan KBM. Sampel penelitian ini ialah *Porphyromonas gingivalis* ATCC (*American Type Culture Cell*) 33277 yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Padjadjaran Bandung. Kulit jeruk lemon yang berasal dari buah lemon lokal berwarna hijau, dengan usia tanaman 1,5 tahun yang didapatkan dari Perkebunan Padepokan Pandawa Lima Cibodas–Maribaya Kabupaten Bandung Barat Jawa Barat. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Padjadjaran Bandung (Gambar 1).



Gambar 1. Jeruk lemon (Dokumentasi pribadi)

Pada pembuatan ekstrak kulit jeruk lemon, kulit jeruk lemon sebanyak 3 kg dicuci sampai bersih kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan. Kulit jeruk lemon kerig kemudian dihaluskan dengan blender sampai menjadi simplisia. Simplisia kulit jeruk lemon dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam, kemudian ditutup dengan aluminium

foil. Maserat disaring dan pada ampasnya ditambahkan lagi pelarut etanol 96% lagi. Pengulangan dilakukan sebanyak empat kali sampai filtrat menjadi jernih, lalu hasil ekstrak cair dipekatkan sampai menjadi ekstrak kental dengan *rotary vacuum evaporator* dan diuapkan dengan *waterbath* sampai dihasilkan ekstrak kulit jeruk lemon kental yang siap digunakan.

Pada penelitian ini media tumbuh yang digunakan yaitu *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *Mueller Hinton Broth* (MHB), ditimbang sebanyak 38 gram media MHA dan 21 gram media MHB, kemudian masing-masing dilarutkan dalam 1000 mL ddH₂O dengan bantuan *microwave*, lalu disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit dengan tekanan 1,5 atm.

Persiapan mikroorganisme uji dilakukan dengan cara menginokulasi dan membiakkan *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Padjajaran Bandung pada medium BAP yang kemudian diinkubasi selama 12-24 jam pada suhu 37°C.

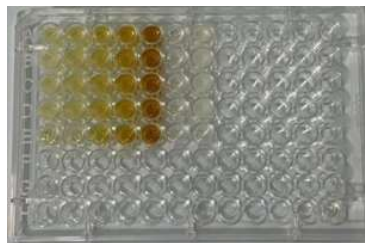
Pembuatan inokulum *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dengan menggunakan metode *direct colony suspension* yang didapatkan dengan menginokulasikan koloni *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 yang telah dikultur selama 24 jam pada medium MHA ke dalam MHB. Standar McFarland 0,5 digunakan untuk mendapatkan inokulum dengan jumlah bakteri sekitar $1-5 \times 10^8$ CFU/mL. Pengenceran pada larutan tersebut menggunakan MHB dengan perbandingan 1:50 untuk menghasilkan inokulum dengan jumlah bakteri pada rentang 2×10^6 - 1×10^7 CFU/mL. Kemudian dilakukan pengenceran menggunakan media MHB dengan perbandingan 1:20 untuk menghasilkan inokulum dengan jumlah bakteri pada rentang $1-5 \times 10^5$ CFU/mL.

Data hasil pengukuran persentase viabilitas dan inhibisi yang didapatkan kemudian diuji secara statistik dengan menggunakan uji normalitas, uji homogenitas, dan uji post hoc Tukey HSD. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan aplikasi IBM Statistics SPSS versi 25.

HASIL PENELITIAN

Uji determinasi dilakukan terhadap jeruk lemon yang digunakan dalam penelitian untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian. Buah lemon lokal yang digunakan berwarna hijau, kulit yang tipis dengan daging buah tidak terlalu tebal, dan dari segi bentuknya lonjong bulat. Hal ini menunjukkan bahwa kulit yang berasal dari buah jeruk lemon benar sesuai dengan ciri-cirinya beserta nama spesiesnya yaitu: *Citrus limon* (L.) Osbeck. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia ekstrak secara kualitatif.

Tabel 1 memperlihatkan kandungan senyawa bioaktif ekstrak kulit jeruk lemon berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk lemon memiliki kandungan flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid. Penelitian yang dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa kulit jeruk lemon mengandung flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid, namun di dalam penelitian tersebut tidak ditemukan adanya flavonoid dalam kulit jeruk lemon. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa flavonoid tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor seperti lingkungan hidup, umur, dan cuaca. Penelitian ini menggunakan tujuh perlakuan untuk setiap pengulangan, yaitu DMSO 10% sebagai kontrol negatif, chlorhexidine 0,1% sebagai kontrol positif dan ekstrak kulit jeruk lemon yang telah diencerkan menjadi lima konsentrasi yaitu 10%, 5%, 2,5%, 1,25% dan 0,625% dengan jumlah pengulangan empat kali sesuai dengan perhitungan jumlah sampel yang menggunakan rumus Freederer.



Gambar 2. Terdapat 96 well plate uji KHM dan KBM *Porphyromonas gingivalis*

Dikomentari [i-1]: Saya sedikit perbaiki susunan kalimatnya ya dok.

Data kuantitatif yang didapatkan dari pengujian KHM dan KBM diukur dengan pengukuran absorbansi medium dalam 96 well plate menggunakan alat *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 405 nm. Tabel 2 menyajikan hasil pengujian peng-

ukuran absorbansi medium. Konsentrasi 0,625%, 1,25%, 2,5% memiliki kekeruhan yang sama dan bersifat menghambat pertumbuhan bakteri karena masih terlihat pertumbuhan koloni bakteri patogen periodontal *Porphyromonas gingivalis*;

Tabel 1. Hasil uji fitokimia kualitatif ekstrak kulit jeruk lemon

No.	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
1	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	++
2	Flavonoid	d. Pereaksi HCl pekat + Mg e. Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N f. Pereaksi NaOH 10%	++
3	Triterpenoid dan Steroid	Pereaksi H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH anhidrat	+

Keterangan: ++ : sedikit; ++ : sedang; +++ : banyak; - : tidak ada

Tabel 2. Hasil uji spektrofotometri pada panjang gelombang 405 nm

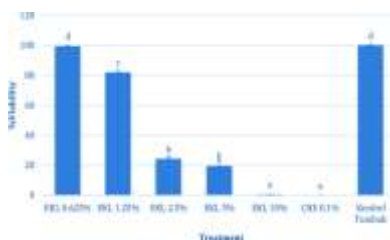
Sampel	Viabilitas (%)	Inhibisi (%)
EKL 0,625%	99.55 ± 0.39	0.45 ± 0.39
EKL 1,25%	82.10 ± 1.09	17.90 ± 1.09
EKL 2,5%	24.20 ± 1.77	75.80 ± 1.77
EKL 5%	19.59 ± 3.57	80.41 ± 3.57
EKL 10%	0.47 ± 0.10	99.53 ± 0.10
CHX 0,1%	0.03 ± 0.01	99.97 ± 0.01
KT	100.00 ± 0,91	0.00 ± 0.91

Keterangan: EKL, ekstrak kulit lemon; CHX, chlorhexidine gluconate; KT, kontrol tumbuh dimethyl sulfoxide 10%

Sebaliknya pada konsentrasi 5% dan 10% ekstrak kulit jeruk lemon yang sama dengan kontrol positif terdapat daya bunuh karena terlihat jernih dan tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Berdasarkan hasil pengamatan ini ditentukan nilai KHM pada konsentrasi 2,5% dan nilai KBM pada konsentrasi 10%.

Gambar 2 memperlihatkan bahwa persentase nilai viabilitas tertinggi terdapat pada kontrol tumbuh atau kontrol negatif menggunakan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% sebesar 100%. Pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk lemon didapatkan nilai viabilitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 0,625% sebesar 99,55%. **Persentase nilai viabilitas terendah terdapat pada kontrol positif menggunakan chlorhexidine 0,1% sebesar 0,03% dan untuk berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk lemon nilai viabilitas terendah terdapat pada konsentrasi**

10% sebesar 0,47%.



Gambar 2. Persentase viabilitas ekstrak kulit jeruk lemon terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Gambar 3 memperlihatkan bahwa persentase nilai inhibisi tertinggi terdapat pada kontrol positif menggunakan *chlorhexidine* 0,1% sebesar 99,97% sedangkan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk lemon nilai inhibisi tertinggi terdapat

Dikomentari [S2]: RECHECK: OK

pada konsentrasi 10% dengan persentase sebesar 99,53%. Persentase nilai inhibisi terendah terdapat pada kontrol tumbuh atau kontrol negatif menggunakan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% sebesar 0% dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk lemon nilai inhibisi terendah terdapat pada konsentrasi 0,625% dengan persentase sebesar 0,45%.



Gambar 3. Persentase inhibisi ekstrak kulit jeruk lemon terhadap *Porphyromonas gingivalis*

BAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui KHM dan KBM ekstrak kulit jeruk lemon dengan konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625% terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk lemon memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil uji menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 405 nm diperoleh bahwa jumlah koloni bakteri yang paling kecil mengalami pertumbuhan sebagai KHM ialah pada konsentrasi 2,5% dengan jumlah koloni bakteri 75,80% dan pada konsentrasi 10% ditemukan tidak adanya pertumbuhan bakteri dengan jumlah koloni bakteri 99,53% sebagai KBM.

Belakangan ini penelitian dengan menggunakan ekstrak kulit jeruk lemon telah banyak dilakukan di berbagai bidang ilmu, terutama bidang kesehatan. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk lemon dengan berbagai konsentrasi dapat dimanfaatkan sebagai anti bakteri. Ekstrak kulit jeruk lemon juga dapat dikombinasikan dengan ekstrak lainnya, seperti kombinasi dengan daun sirih yang dapat dimanfaatkan sebagai pemutih dan sebagai antiseptik pada gigi terhadap *Streptococcus mutans*. Namun, sejauh ini belum

ditemukan adanya produk kesehatan yang mengandung ekstrak kulit jeruk lemon baik dalam bentuk obat kumur ataupun pasta gigi yang dipasarkan.¹⁶

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk lemon memiliki aktivitas antibakteri disebabkan karena adanya senyawa bioaktif berupa flavonoid, tanin, triterpenoid, dan steroid yang telah diuji fitokimia serta memiliki perbedaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa flavonoid dan tanin dalam kulit jeruk lemon merupakan bagian bersifat polar sehingga ekstrak lemon lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid non polar; hal ini mungkin menyebabkan penghambatan ekstrak terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* lebih luas.¹⁷ Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol sebagai antibakteri yang dapat membentuk kompleks dengan protein ekstrasel dan dinding sel bakteri. Selain itu flavonoid bersifat lipofilik yang merusak membran bakteri dan dalam inhibisi sintesis DNA-RNA berdasarkan ikatan hidrogen dengan basa nukleat yang dapat mengganggu metabolisme energi untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan biosintesis makromolekul yang akan merusak sistem respirasi dan membran sel bakteri.¹⁸

Tanin merupakan senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol yang memiliki efek antibakteri melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik protein enzim yang terdapat pada bakteri akan terdenaturasi sehingga metabolisme bakteri akan terganggu dan terhambat.¹⁹ Mekanisme kerja tanin diduga dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak terbentuk. Aktivitas antibakteri tanin memiliki kemampuan menginaktifkan adhesin sel bakteri dan enzim dengan mengganggu jalan masuk protein ke lapisan dalam sel. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.²⁰

Triterpenoid sebagai antibakteri bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri dan mem-

Dikomentari [S3]: RECHECK: OK

bentuk ikatan polimer kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa. Keadaan ini akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, dan pertumbuhan bakteri terhambat atau mengalami lisis.²¹

Cara kerja steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom.²² Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis.²³

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen periodontal, yaitu *Porphyromonas gingivalis*. Dengan demikian dapat disederhanakan bahwa KHM ekstrak kulit jeruk lemon terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* terdapat pada konsentrasi 2,5% dikarenakan masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* sedangkan di atas konsentrasi 2,5% tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Konsentrasi yang bersifat membunuh didapatkan pada konsentrasi 10% namun di bawah konsentrasi 10% masih menunjukkan penghambatan bakteri *Porphyromonas gingivalis* karena inhibisi sampai 90% dan viabilitas di bawah 10% sama dengan kontrol positif yang digunakan.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diharapkan ekstrak kulit jeruk lemon yang pada umumnya tidak dimanfaatkan dan dibuang sebagai limbah, kini dapat dimanfaatkan sebagai bahan antibakteri yang efektif dan ekonomis. Kulit jeruk lemon dengan kandungan biologi aktif yang memiliki daya antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* dapat dimanfaatkan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya dibidang kesehatan, terutama dalam pembuatan produk seperti obat kumur ataupun pasta gigi yang dapat digunakan oleh masyarakat untuk mencegah penyakit yang terjadi di rongga

mulut seperti gingivitis dan periodontitis. Penelitian lebih lanjut juga perlu dilakukan untuk menetapkan bioavailabilitas dan manfaat nyata dari ekstrak kulit jeruk lemon ini.

SIMPULAN

Pada penelitian ini, nilai KHM ekstrak kulit lemon terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* ialah pada konsentrasi 2,5% dan nilai KBM pada konsentrasi 10%.

Tingkat penghambatan yang ditunjukkan ekstrak kulit lemon terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* berbanding lurus dengan tingkat konsentrasinya; semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi penghambatan yang dihasilkan.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha yang telah mendukung proses pembuatan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

27. Kurniawati I, Pujiastuti P, Dharmayanti WSA. Kadar kalsium (Ca) dalam cairan krevi-kular gingiva pada penderita periodontitis kronis. *Odonto Dent Journal*. 2015;2(1):8-13.
28. Pujiastuti P. Obesitas dan penyakit periodontal. *Stomatonatic Journal*. 2012;9(2):82-5.
29. Tyas EW, Henry SS, Mateus SA. Gambaran kejadian penyakit periodontal puskes-mas Srandol kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2016;4:510-3.
30. Kiswaluyo. Perawatan periodontitis pada pus-kesmas Sumbersari, puskesmas Wu-luhan dan RS Bondowoso. *Stomato-gnatic Journal*. 2013;10(3):115-20.
31. Setyohadi R, Rachmawati R, Hartati S. Perbe-daan tingkat kerentanan gingvitis antara wanita menopause dengan wanita

Dikomentari [S5]: RECHECK: OK

Dikomentari [S6]: Terdapat beberapa pustaka yang berulang (highlight yang sama. Untuk nomor 19 mungkin pada akhir tulisan/daftar pustaka.

Dikomentari [S4]: RECHECK: OK

- pascamenopause. *Prodenta Journal*. 2013;1(1):1-6.
32. Arifiana VD, Prandita N. Penatalaksanaan periodontitis kronik pada penderita dia-betes mellitus (Management of chronic periodontitis in diabetes mellitus patients). *Stomatognatic Journal*. 2019; 16(2):59-63.
 33. Soulissa AG. Hubungan kehamilan dan penya-kit periodontal. *Jurnal PDGI*. 2014; 63(3):71-7.
 34. Yuanita T, Jannah R, Pasetyo Ea. Perbedaan daya antibakteri ekstrak kulit kokoa terhadap *Porphyromonas gingivalis* (The difference between antibacterial activity of cocoa husk extract (*Theobroma cacao*) and NaOCL 2.5% againts *Porphyromonas gingivalis*). *Conserva-tive Dentistry Journal*. 2018; 8(1):49-56.
 35. Anas R, Husein H, Hasanuddin NR, Puspita-sari Y, Eva AFZ, Danto SAS. Efektivitas ekstrak etanol umbi sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* terhadap daya hambat bakteri *Porphyromonas gingi-valis* (Studi in vitro). *Sinnun Maxillo-facial Journal*. 2021;1(1):19-29.
 36. Bostanci N, Belibasakis Gn. *Porphyromonas gingivalis*: An invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *Fems Microbiol Lett*. 2012;333(1):1-9.
 37. How KY, Song KP, Chan KG. *Porphyro-monas gingivalis*: An overview of peri-odontopathic pathogen below the gum line. *Front Microbiol*. 2016;7:1-14.
 38. Putri CF, Bachtiar EW. *Porphyromonas gingivalis* dan patogenesis disfungsi kognitif: Analisis peran sitokin neuro-inflamasi. *Cakradonya Denta Journal*. 2020;12(1):15-23.
 39. Sunnati, Rezeki S, Alibasyah Zm, Saputri D, Syifa. Daya hambat minuman probiotik yoghurt susu sapi terhadap *Porphyro-monas gingivalis* secara in vitro. *Journal of Syiah Kuala Dentistry*. 2019; 4(2):65-75.
 40. Dwipriastuti D, Putranto Rr, Anggarani W. Perbedaan efektivitas *chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap jumlah *Porphyromonas gingivalis*. *Odonto Dental Journal*. 2017;4:50-54.
 41. Astuti A, Retnaningsih A, Marcellia S. Aktivitas ekstrak etanol kulit jeruk lemon (citrus limon L.) terhadap balteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia (JMPI)*. 2021;7(2):143-54.
 42. Nurdianti L, Annisya WF, Pamela YM, Novi-anti E, Audina M, et al. Formulasi sediaan pasta gigi herbal kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan kulit buah jeruk lemon (*Citrus limon burm f.*) sebagai pemutih dan antiseptik pada gigi. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 2016;16(1):177-87.
 43. Muhammadiyah U, Utara S. Pengaruh pem-berian air perasan jeruk lemon (*Citrus limon*) terhadap penurunan berat badan pada tikus jantan galur wistar. *Jurnal Ilmiah Kohesi*. 2021;5(3):51-6.
 44. Irwan S, Halimatussakdiah, Ulil A. Skrining fitokimia ekstrak daun jeruk lemon (*Citrus limon L.*) dari kota Langsa, Aceh. *Jurnal Kimia Sains dan Terapan*. 2021;3(1):19-23
 45. Indrawati. Klasifikasi kematangan jeruk lemon menggunakan metode K-Nearest Neighbor. *Jurnal Infomedia*. 2017;2(2): 21-6.
 46. Simamora TF, Sinaga R. Pengaruh jenis zpt dan jenis media tanam terhadap per-tumbuhan bibit jeruk lemon (*Citrus limon*). *Jurnal Tapanuli*. 2021;3(2):286-93.
 47. Catur RR, Rini S. Pengaruh pemberian aro-materapi lemon terhadap *Emesis gravidarum*. *Jurnal MU Poltekkes Mataram*. 2021;3(1):20-9.
 48. Neovita E, Solihah PSD,

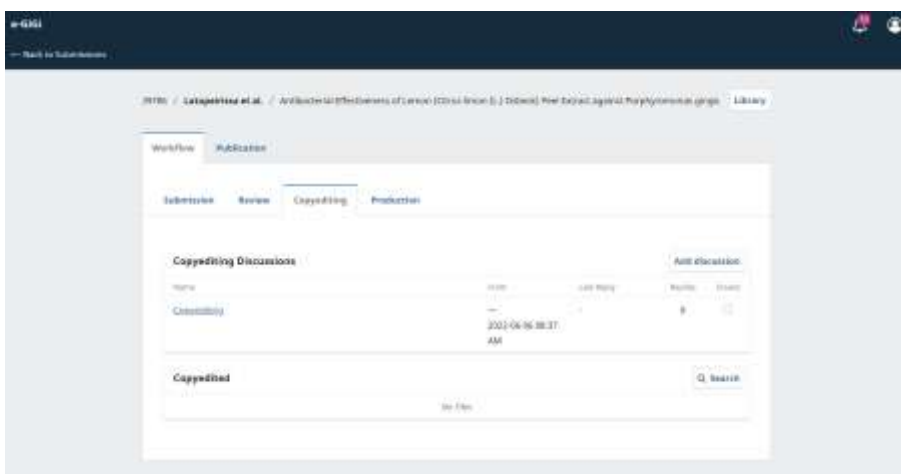
Wahyuningsih S, Aeni HH, Azhari F. Pengembangan ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L)) sebagai antidiabetes oral. Jurnal Ilmiah Farmasi Kartika. 2020; 8(1):1-8.

49. Isnaini M, Eko N, Laras R. Kajian potensi ekstrak anggur laut (*Caulerpa race-mosa*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Pengolahan & Biotek. 2018;7(1):7-14.

Bukti melakukan review yang kedua

Bukti konfirmasi submit artikel yang telah revisi kedua

Bukti konfirmasi artikel diterima (06 Juni 2022)



Bukti Galery Proof Manuscript

Bukti Publikasi Online Artikel (Juni 2022)

