

DENTINO
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol I. No 2. September 2016

Laporan Penelitian

**EFEK ANTIBAKTERI SEDIAAN TUNGGAL DAN KOMBINASI AIR PERASAN
JERUK NIPIS DAN MADU TERHADAP *Streptococcus mutans***

**Kajian In Vitro Sediaan Tunggal dan Kombinasi Air Perasan
Jeruk Nipis dan Madu dengan Klorheksidin Glukonat 0,2%**

Alfia Fitriani, Nurdiana Dewi, Lia Yulia Budiarti

Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

ABSTRACT

Background: *Streptococcus mutans* is a species of gram positive bacteria dominantly residing in oral cavity and also acts as the most common pathogen causing caries. Lime juice and honey are herbal medicine which has been proven to possess antibacterial effect. **Purpose:** The aim of this study was to verify that lime juice and honey in combined preparation had more favorable inhibitor potency compared to single preparation against *Streptococcus mutans*. **Methods:** This were an experimental study which using random sampling, with 26 treatment groups : 25%, 50%, 75%, 100% lime juice in single preparations and 6,25%, 12,5%, 25%, 50% honey in single preparations, combined preparations of lime juice and honey, also 0,2 chlorhexidin gluconate and aquadest as negative control group. Antibacterial activity test was performed using diffusion method. **Result:** Data observed showed that there were combined preparations with better inhibitor potency compared to single preparations. **Conclusion:** One Way ANOVA and LSD tests with confidence interval of 95% presented that antibacterial activity of lime juice and honey in combined preparation was better than its single counterpart against *Streptococcus mutans*.

Keywords : antibacterial, lime juice, honey, *Streptococcus mutans*, inhibition zone

ABSTRAK

Latar Belakang: *Streptococcus mutans* merupakan salah satu spesies bakteri gram positif yang dominan dalam mulut dan merupakan bakteri penyebab karies patogen paling banyak menyerang manusia. Air perasan jeruk nipis dan madu merupakan tanaman obat yang terbukti mempunyai efek antibakteri. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu mempunyai daya hambat lebih besar daripada sediaan tunggal dalam menghambat *Streptococcus mutans*. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak kelompok yang terdiri dari 26 perlakuan, yaitu sediaan air perasan jeruk nipis konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, dan madu konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, sediaan kombinasinya, serta klorheksidin glukonat 0,2% dan akuades sebagai kontrol negatif. Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi. **Hasil:** Data yang didapat menunjukkan bahwa terdapat beberapa perlakuan sediaan kombinasi lebih baik dari sediaan tunggal. **Kesimpulan:** Hasil uji One Way ANOVA dan LSD dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu lebih baik dari sediaan tunggalnya dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Kata-kata kunci : antibakteri, air perasan jeruk nipis, madu, *Streptococcus mutans*, zona hambat

Korespondensi: Alfia Fitriani, Program Studi Kedokteran gigi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Jalan Veteran No 128B, Banjarmasin, Kalsel, email: alfiafitriani56@gmail.com

PENDAHULUAN

Karies merupakan masalah utama dalam bidang kedokteran gigi dan menjadi salah satu penyakit infeksi yang paling umum terjadi pada masyarakat. Menurut Laporan Riset Kesehatan Dasar 2007, sebanyak 72,1 % penduduk Indonesia mengalami karies.^{1,2} Karies merupakan suatu penyakit infeksi yang mengenai jaringan keras gigi, sehingga mengakibatkan kerusakan pada jaringan tersebut. Bakteri berperan penting pada proses terjadinya karies. *Streptococcus mutans* adalah salah satu spesies bakteri gram positif yang dominan dalam mulut dan merupakan bakteri penyebab karies. *Streptococcus mutans* dapat memetabolisme karbohidrat dan menghasilkan asam yang dapat melarutkan email dan merusak jaringan organik gigi.^{3,4}

Terdapat beberapa cara menurunkan jumlah bakteri dalam rongga mulut. Salah satunya yaitu penggunaan obat kumur. Salah satu obat kumur yang sangat mudah kita peroleh di pasaran yaitu klorheksidin glukonat. Klorheksidin merupakan agen antibakteri spektrum luas. Klorheksidin memiliki efek antibakteri dan antijamur di dalam rongga mulut. Namun, penggunaan Klorheksidin glukonat dapat menimbulkan efek samping diskolorisasi gigi, burning sensation, dan rasanya yang kurang nyaman.^{6,7}

Tanaman herbal memiliki potensi besar sebagai obat pencegah infeksi gigi dan mulut. Salah satu adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* swingle). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa jeruk nipis memiliki efek antibakteri. Menurut Razak, air perasan jeruk nipis terbukti konsentrasi 100% efektif menghambat pertumbuhan bakteri gram positif.⁵ Selain jeruk nipis, madu juga diketahui memiliki efek antibakteri. Madu adalah cairan kental yang diproduksi oleh lebah madu dari nektar bunga memiliki kadar air yang relatif rendah yakni kurang dari 20% dan kadar gula yang tinggi. Kondisi tersebut sangat tidak mendukung untuk pertumbuhan bakteri karena menimbulkan efek osmosis yang dapat membunuh bakteri. Hasil penelitian oleh Erywiyatno pada konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif.⁸

Selain sediaan tunggal, tanaman herbal juga bisa dalam bentuk kombinasi. Secara farmakologik beberapa obat yang bekerja pada reseptor yang sama atau diberikan bersamaan (kombinasi) dapat memberikan efek respon sinergistik.¹⁵ Air perasan jeruk nipis dan madu mempunyai sifat antibakteri, namun belum diketahui bagaimana efek antibakteri sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu dibandingkan dengan sediaan tunggal. Berdasarkan uraian diatas, maka pada penelitian ini diuji efek antibakteri sediaan tunggal dan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu terhadap

Streptococcus mutans dengan kontrol positif klorheksidin glukonat 0,2% secara in vitro.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni dengan posttest-only with control group design. Perlakuan terdiri dari sediaan tunggal air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%, perlakuan sediaan tunggal madu dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%, perlakuan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu dengan konsentrasi uji yang sama dengan sediaan tunggalnya. Perlakuan kontrol yaitu klorheksidin glukonat 0,2% dan akuades. Pada masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

Alat-alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah ose steril, cawan petri, tabung reaksi, inkubator (Carbolite Shieffield[®]S 30 2 RR England), labu Erlenmeyer (Iwaki[®]), autoklaf (All America[®] model No 1925 X), tabung reaksi (Pyrex[®]), lampu bunsen, kapas lidi steril, meja kerja laminary flow (Holten[®] tipe Maxisafe 1,2), neraca analitik (Ohaus[®]), skalpel, pinset steril, pipet steril, aluminium foil, dan Callifer. Bahan-bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Streptococcus mutans*, air perasan jeruk nipis, madu, klorheksidin glukonat 0,2%, Mueller Hinton Agar (M-H Agar), media Brain Heart Infusion (BHI), larutan standar Mc.Farland, akuades steril, dan paper disk kosong steril.

Pembuatan sediaan tunggal air perasan jeruk nipis, dilakukan dengan memeras jeruk nipis yang memiliki kulit berwarna hijau dan segar, dicuci bersih dan diperas airnya sebanyak 100 ml, dari sediaan ini dibuat beberapa konsentrasi perlakuan yaitu konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% (b/v). Pembuatan sediaan tunggal madu, yaitu dengan dipilih madu asli dan diukur sebanyak 100 ml, dari sediaan ini dibuat beberapa konsentrasi perlakuan yaitu konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50% (b/v).

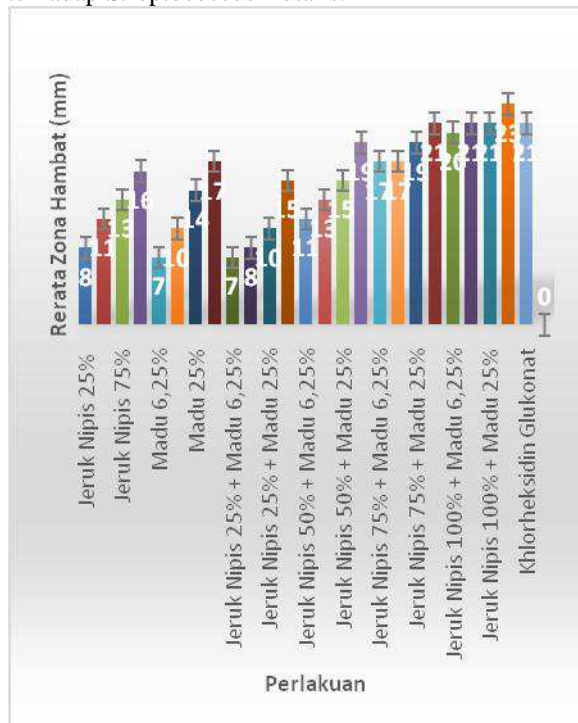
Selanjutnya untuk sediaan kombinasi diambil masing-masing 1 ml sediaan air perasan jeruk nipis dan madu, kemudian dicampurkan. Sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu menggunakan berbagai konsentrasi dari jeruk nipis dan madu. Persiapan sediaan tunggal dan kombinasi dari masing-masing perlakuan adalah dengan menyiapkan masing-masing Paper disk kosong dan dimasukkan ke dalam masing-masing konsentrasi perlakuan tersebut, direndam selama 3 jam, kemudian ditanam pada cawan petri yang berisi media agar dan telah dioleskan *Streptococcus mutans*, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam.

Isolat murni laboratorium *Streptococcus mutans* yang dipakai pada penelitian ini diperoleh

dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Banjarmasin. Dari koloni yang tumbuh Diambil beberapa koloni bakteri dari pertumbuhan 24 jam pada agar, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasikan 5-8 jam pada suhu 37°C. Suspensi tersebut ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai standar konsentrasi Mc Farland I 3.10⁸ CFU per ml. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Lalu diletakkan disk yang berisi bahan yang akan diuji di atasnya, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pembacaan hasil dilakukan dengan mengukur zona hambat bakteri menggunakan Caliper dalam satuan mm.

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat dilihat pada Gambar 1. Diagram di bawah menunjukkan variasi zona hambat yang terbentuk pada perlakuan yang ada. Hasil percobaan menunjukkan bahwa sediaan tunggal air perasan jeruk nipis, madu, kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu dan klorheksidin glukonat 0,2% memiliki efek antibakteri terhadap Streptococcus mutans. Hal ini terlihat dari masing-masing perlakuan yang memiliki zona hambat terhadap Streptococcus mutans.



Gambar 1. Diagram hasil zona hambat Streptococcus mutans setelah diberi perlakuan sediaan tunggal air perasan jeruk nipis, madu, kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu dan klorheksidin glukonat 0,2%.

Untuk mengetahui apakah sebaran data terdistribusi normal dan homogen selanjutnya dilakukan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji Levene. Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov diperoleh nilai p=0,200 menunjukkan bahwa data penelitian ini terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas Levene didapatkan nilai p = 0,531 yang berarti data penelitian ini memiliki sebaran data yang homogen atau dapat dikatakan bahwa tidak ada perbedaan varians pada data penelitian ini.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pengaruh dari masing-masing perlakuan selanjutnya pada data penelitian dilakukan analisis parametrik One-Way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji One-way ANOVA menunjukkan nilai p = 0,000 (p < 0,05) yang berarti terdapat perbedaan bermakna. Selanjutnya dilakukan uji post hoc LSD yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna (p<0,050) pada masing-masing konsentrasi sediaan tunggal dan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu.

Tunggal	N 25%	N 50%	N 75%	N 100%	M 6,25%	M 12,5%	M 25%	M 50%	K (+)
Kombinasi									
N 25% + M 6,25%	TB				TB				BB (-)
N 25% + M 12,5%	TB					BB (-)			BB (-)
N 25% + M 25%	BB (+)						BB (-)		BB (-)
N 25% + M 50%	BB (+)							BB (-)	BB (-)
N 50% + M 6,25%		TB			BB (+)				BB (-)
N 50% + M 12,5%		BB (+)				BB (+)			BB (-)
N 50% + M 25%		BB (+)					TB		BB (-)
N 50% + M 50%		BB (+)						BB (+)	BB (-)
N 75% + M 6,25%			BB (+)		BB (+)				BB (-)
N 75% + M 12,5%			BB (+)			BB (+)			BB (-)
N 75% + M 25%			BB (+)				BB (+)		BB (-)
N 75% + M 50%			BB (+)					BB (+)	BB (-)
N 100% + M 6,25%				BB (+)	BB (+)				BB (-)
N 100% + M 12,5%				BB (+)		BB (+)			BB (-)
N 100% + M 25%				BB (+)			BB (+)		BB (-)
N 100% + M 50%				BB (+)				BB (+)	BB (-)
K (-)	BB (-)	BB (-)	BB (-)	BB (-)	BB (-)	BB (-)	BB (-)	BB (-)	BB (-)

Ket: N : Air Perasan Jeruk Nipis
M : Madu
BB (+) : Berbeda bermakna dan memiliki efektivitas lebih besar
BB (-) : Berbeda bermakna dan memiliki efektivitas lebih kecil
TB : Tidak Bermakna

Gambar 2. Hasil Perbandingan Zona Hambat dan Uji Statistik Antara Sediaan Tunggal dan Kombinasi Air Perasan Jeruk Nipis dan Madu terhadap Streptococcus mutans.

Hasil perbandingan sediaan tunggal dan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu, berdasarkan uji LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna (p<0,050) antara sediaan tunggal air perasan jeruk nipis 25% dengan sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis 25% dan madu 25% dan 50%, sediaan tunggal air perasan jeruk nipis 50% dengan sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis 50% dan madu 12,5%, 25% dan 50%, sediaan tunggal air perasan jeruk nipis 75% dengan sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis 75% dan madu 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%, dan sediaan

tunggal air perasan jeruk nipis 100% dengan sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis 100% dan madu 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%. Sediaan tunggal madu 6,25% dengan sediaan kombinasi madu 6,25% dan air perasan jeruk nipis 50%, 75% dan 100%, sediaan tunggal madu 12,5%, 25% dan 50% dengan sediaan kombinasi madu 12,5%, 25%, 50% dan air perasan jeruk nipis 25%, 50%, 75% dan 100%. Sedangkan pada sediaan tunggal air perasan jeruk nipis 25% dengan sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis 25% dan madu 6,25% dan 12,5%, air perasan jeruk nipis 50% dengan sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis 50% dan madu 6,25%, dan sediaan tunggal madu 6,25% dengan kombinasi madu 6,25% dan air perasan jeruk nipis 25%, berdasarkan uji LSD menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,050$) antar perlakuan sediaan tunggal dengan kombinasi.

PEMBAHASAN

Air perasan jeruk nipis mempunyai senyawa aktif yaitu flavonoid dan minyak atsiri. Air perasan jeruk nipis mempunyai senyawa aktif yaitu minyak atsiri dan flavonoid yang bersifat sebagai antibakteri. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding serta mengendapkan protein sel bakteri, menginaktifkan enzim esensial di dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Akibat mekanisme flavonoid, terjadi denaturasi dan kerusakan sel bakteri.^{4,7}

Madu mempunyai kandungan senyawa aktif yang sama dengan air perasan jeruk nipis yaitu flavonoid turunan dari senyawa fenol. Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan madu sebagai antibakteri yaitu efek osmotik, 82% madu adalah campuran variasi dari karbohidrat, seperti glukosa, fruktosa, maltose, dan sukrosa yang menghasilkan jumlah air yang sangat rendah kondisi ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hidrogen peroksida (H_2O_2) seringkali ditemukan pada madu terdilusi adalah produk dari oksidasi glukosa oleh enzim glukosa oksidase. Penelitian-penelitian antibakteri madu telah banyak dilakukan yang menghasilkan bahwa madu secara *in vitro* pada konsentrasi 4% telah cukup kuat untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 20% dapat mematikan bakteri ini.⁸

Sinergisme atau antagonisme antar bahan dalam obatan herbal terjadi ketika dua atau lebih bahan saling meningkatkan atau menurunkan efek dalam aktivitas.¹⁰ Efek dari interaksi dapat meningkatkan atau menurunkan hasil yang ada bervariasi tergantung faktor yang ada, hal yang diduga dapat menyebabkan efek antagonisme adalah dosis yang digunakan.¹¹ Hasil penelitian Yuliandini, memperlihatkan efek perlakuan kombinasi infus daun sirih 30% dan daun salam

40% lebih besar dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dibandingkan efek optimum dari perlakuan tunggalnya. Sedangkan pada hasil penelitian Luthfi memperlihatkan bahwa sediaan kombinasi infus daun sirih dan infus kulit jeruk nipis mempunyai daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus in vitro* yang tidak lebih baik daripada sediaan tunggalnya.¹⁵ Hasil yang tidak bermakna dari penelitian ini dapat disebabkan konsentrasi yang digunakan pada penelitian tidak mencapai dosis optimum obat untuk mencapai efek sinergis sebagai antibakteri, juga karena adanya interaksi zat aktif lainnya yang bersifat polar yang terkandung di dalam tanaman obat sehingga mempengaruhi bentuk sediaan kombinasi yang ada dan juga adanya interaksi dari zat-zat aktif lain tersebut yang dapat saling menurunkan efek antibakteri.^{12,14} Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa sediaan kombinasi air perasan jeruk nipis 100% dan madu 50% mempunyai daya hambat yang lebih besar dari klorheksidin glukonat 0,2%. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif lain yang ada pada air perasan jeruk nipis dan madu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Widayati. Mayoritas Orang Indonesia Salah Gosok Gigi. 2010. <http://www.go4healthylife.com/articles/1855/1/Mayoritas-Orang-Indonesia-Salah-Gosok-Gigi/Page1.html>, diakses 5 Januari 2014.
2. PDGI. Bulan Kesehatan Gigi Nasional 2010; (online) diperoleh dari : <http://www.pdgi.or.id/news/detail/bulan-kesehatan-gigi-nasional-2010>, diakses 5 Januari 2014
3. Todar K. Mechanisms of Bacterial Pathogenicity: Bacterial Defense Against Specific Immune Response. 2008. p.1-8.
4. Featherstone JDB. Caries Prevention and Reversal Based on the Caries Balance. *Pediatric Dentistry*. 2008; 28(2).
5. Razak A. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* s.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2013;2(1): 5-8.
6. Mohammadi Z dan Abbott PV. The Properties and Applications of Chlorhexidine in Endodontics. *International Endodontic Journal*. 2009;42(4): 288-302.
7. Shinada K, Ueno M, Konishi C, Takehara S, Yokoyama S, Ohnuki M, Wright FAC, and Kwaguchi Y. Effects of a Mouthwash with Chlorine Dioxide on Oral Malodor and Salivary Bacteria: a Randomized Placebocontrolled 7-day trial. *Trials*. 2010; 11(14): 1-2.

8. Erywiyatno L. Pengaruh Madu terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Analisis Kesehatan Sains*. 2012;1(1): 30-37.
9. Sarwono, B. Khasiat dan manfaat jeruk nipis. Tangerang: PT Agro Media Pustaka, 2002.
10. Chan E, Marisela T, Gianni X, et al. Interactions between traditional Chinese medicines and Western therapeutics. *Current Opinion In Drug Discovery and Development* 2010;13(1):50-65
11. McGrane M and Simon KP. Analysing Complex Interactions in TCM Data. The University of Sydney 2010:659-663.
12. Gunawan SG. Farmakologi dan terapi Edisi 5. Jakarta: FK UI, 2010.
13. Luthfi M. Uji Aktivitas Daya Hambat Sediaan Kombinasi Infus Daun Sirih (*Piper betle* Linn) dan Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* swingle) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* atcc 25923 in vitro. KTI. Banjarbaru: Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat. 2011.
14. Chan E, Marisela T, Gianni X, et al. Interactions between traditional Chinese medicines and Western therapeutics. *Current Opinion In Drug Discovery and Development* 2010;13(1):50-65.
15. Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology Sixth Edition. New Jersey: Prectice-Hall International Inc; 1997. p.698-699