

DENTIN
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol VI. No 3. Desember 2022

**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT LIMAU KUIT (*Citrus hystrix*)
 TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis***

Veren Yosi Erinda¹⁾, Beta Widya Oktiani²⁾, Juli Harnida Purwaningayu³⁾

¹⁾ Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

²⁾ Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

³⁾ Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

ABSTRACT

Background: Periodontitis is an inflammatory disease of the supporting tissues of the teeth caused by specific microorganisms with the characteristics of loss of attachment, gingival recession, destruction of the periodontal ligament and alveolar bone, and increased pocket depth. The dominant bacteria causing chronic periodontitis is *Porphyromonas gingivalis*. Limau kuit is one of the herbal plants originating from South Kalimantan which has antibacterial properties, where in the skin of limau kuit contains triterpenoid compounds, saponins, tannins, flavonoids, alkaloids, steroids. **Purpose:** Determine the effectiveness of extracts of limau kuit (*Citrus hystrix*) against the growth of *Porphyromonas gingivalis* bacteria. **Methods:** True experimental with post test only control group design and consisting of 9 treatment groups, including: limau kuit extract with concentrations of 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, positive control and negative control, which were then repeated 4 times, effectiveness Antibacterial was assessed from MIC and MBC on BHIB and NA media by dilution method. **Results:** The MIC on lime peel extract at a concentration of 5% showed the smallest result of -0.70 and the MBC value at a concentration of 80% did not show the growth of bacterial colonies. **Conclusion:** Extract limau kuit (*Citrus hystrix*) is able to inhibit and kill *Porphyromonas gingivalis* bacteria.

Keywords: Chronic Periodontitis, Limau kuit extract, MBC, MIC, *Porphyromonas gingivalis*

ABSTRAK

Latar Belakang: Periodontitis merupakan penyakit inflamasi jaringan pendukung gigi yang diakibatkan oleh mikroorganisme spesifik dengan ciri-ciri yaitu hilangnya perlekatan resesi gingiva, kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar, serta peningkatan kedalaman poket. Bakteri penyebab periodontitis kronis yang dominan yaitu *Porphyromonas gingivalis*. Limau kuit merupakan salah satu tanaman herbal berasal dari Kalimantan Selatan yang memiliki sifat antibakteri, dimana pada kulit limau kuit mengandung senyawa triterpenoid, saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, steroid. **Tujuan:** Mengetahui efektivitas ekstrak kulit limau kuit (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. **Metode:** True experimental dengan rancangan percobaan menggunakan post test only control group design dan terdiri dari 9 kelompok perlakuan, antara lain: ekstrak kulit limau kuit konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol positif dan kontrol negatif, yang kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali, efektivitas antibakteri dinilai dari KHM dan KBM pada media BHIB dan media NA dengan metode dilusi. **Hasil:** KHM pada ekstrak kulit limau kuit pada konsentrasi 5% menunjukkan hasil terkecil sebesar -0,70 dan nilai KBM pada konsentrasi 80% tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri. **Kesimpulan:** Ekstrak kulit limau kuit (*Citrus hystrix*) mampu menghambat dan membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Kata kunci: Ekstrak Kulit Limau Kuit, KBM, KHM, Periodontitis Kronis, *Porphyromonas gingivalis*

Korespondensi: Veren Yosi Erinda, Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Veteran 128 B Banjarmasin, Kalimantan Selatan, email: yosi.veren15@gmail.com

PENDAHULUAN

Periodontitis yaitu penyakit inflamasi jaringan pendukung gigi yang diakibatkan mikroorganisme spesifik dengan ciri-ciri yaitu hilangnya perlekatan resesi gingiva, kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar, serta peningkatan kedalaman poket.¹

Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 menyebutkan persentase kasus periodontitis di Indonesia mencapai 74,1% dengan kasus tingkat kejadian yang cukup sering yaitu periodontitis kronis.^{2,3} Penelitian Habasneh, dkk (2014) menunjukkan 96,2%

bakteri penyebab periodontitis kronis yaitu *Porphyromonas gingivalis*.⁴

Perawatan pada periodontitis kronis dengan cara terapi mekanik dan suportif. Tujuan perawatan untuk menghilangkan patogen penyebab penyakitnya, dengan cara mekanik yaitu *Scaling Root Planing* (SRP) ataupun dengan cara kimia dengan obat-obatan. *Scaling Root Planing* (SRP) dengan cara membuang deposit keras ataupun yang lunak dan bakteri yang berada di permukaan gigi dan subgingiva. Terapi penunjang menggunakan obat kumur agar mengurangi pertumbuhan bakteri periodontal dan meningkatkan keberhasilan dari terapi mekanik.^{5,6}

Klorheksidin 0,2% suatu antibakteri dengan daya berspektrum luas dan memiliki efek antibakteri dalam rongga mulut.⁷ Klorheksidin 0,2% berpengaruh pada membran sel agar ada kenaikan permeabilitas dan memfasilitasi lepasnya bahan *intracytoplasmic* dan dapat mengkoagulasi nukleoprotein dan mengubah dinding sel ragi, akibatnya membuat keluar komponen sitoplasma ke plasma.⁸ Klorheksidin glukonat 0,2%, sebagai obat gold standard untuk obat kumur pada saat ini.⁹ Akan tetapi, dibalik segala kelebihan klorheksidin, penggunaan obat kumur berbahan dasar kimia seperti klorheksidin, apabila dalam pemakaiannya dengan waktu yang cukup lama dapat memberikan efek samping, seperti pigmentasi gigi, perubahan sensasi pengecap, dan pembentukan kalkulus supragingival, sehingga diperlukan bahan herbal alternatif sebagai obat kumur alami.^{9,10}

Salah satu bahan alami yaitu limau kuit tanaman yang dari Kalimantan Selatan dan diproduksi di Desa Sungai Tuan, Kecamatan Astambul, Kabupaten Banjar.¹¹ Berdasarkan penelitian Ariany (2021), ekstrak etanol kulit limau kuit konsentrasi 100% yang diperoleh dari maserasi 2 kg kulit limau kuit memiliki kadar senyawa triterpenoid sebesar 899,13 mg/ml, alkaloid sebesar 270,65 mg/ml, saponin sebesar 256,59 mg/ml, flavonoid sebesar 97,58 mg/ml, steroid sebesar 21,81 mg/ml, dan tanin sebesar 0,13 mg/ml. Senyawa dengan kadar tertinggi adalah triterpenoid 899,13 mg/ml.¹² Triterpenoid sebagai antibakteri, yaitu bereaksi dengan porin (protein trans membran) di membran luar dinding sel bakteri, lalu membuat ikatan polimer yang kuat akibatnya terjadi kerusakan di porin.¹³

Penelitian Herda dkk (2018) pada ekstrak kulit limau kuit pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% bisa menghambat bakteri dan optimum pada konsentrasi 100% pada bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat sebesar 10,67 mm dan 14 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*.¹⁴ Peneliti akan melakukan uji efektivitas antibakteri dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% karena pada penelitian sebelumnya hanya melakukan uji antibakteri menggunakan difusi cakram, sedangkan pada penelitian kali ini akan menggunakan uji dilusi cair dan padat agar mengetahui daya hambat dan daya bunuh bakteri. Berdasarkan permasalahan yang diuraikan diatas,

peneliti tertarik untuk meneliti efektivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan setelah mendapatkan izin kelaikan etik oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi ULM pada No.010/KEPKG-FKGULM/EC/III/2022. Metode pada penelitian ini yaitu *True Experimental* dengan rancangan percobaan menggunakan *post test only control group design*, menggunakan 9 kelompok dan 4 kali pengulangan. Kelompok perlakuan tersebut yaitu ekstrak kulit limau kuit konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol positif yaitu klorheksidin glukonat 0,2 % dan kontrol negatif yaitu akuades. Metode dilusi cair pada pengukuran KHM menggunakan *spektrofotometer uv-vis* untuk mengetahui selisih nilai absorbansi. Metode dilusi padat pada pengukuran KBM menggunakan *colony counter* untuk mengetahui jumlah koloni bakteri di media agar.

Alat dan Bahan

Alat untuk membuat ekstrak kulit limau kuit yaitu neraca analitik, erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, ose steril, *spektrofotometer*, pipet, mikropipet, *Colony Counter*, lampu spiritus, *rotary evaporator*, masker, *handsocon*, kapas steril, rak tabung, inkubator, *hot plate*, blender, *vortex mixer* dan *autoclave*.

Bahan penelitian yang diperlukan yaitu kulit limau kuit, biakan bakteri *Porphyromonas gingivalis*, Klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif, media dilusi cair *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) dan untuk dilusi padat dengan *Nutrient Agar* (NA), selain itu juga menggunakan akuades steril, dan etanol 96%.

Determinasi Jeruk Limau Kuit

Jeruk limau kuit didapatkan dari Kecamatan Astambul, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. Uji determinasi limau kuit dilakukan di Laboratorium Dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Ekstrak Kulit Limau Kuit

Kulit limau kuit diekstraksi menggunakan metode maserasi. Limau kuit ditimbang sebanyak 5 kg lalu dicuci dengan air mengalir, lalu dilakukan pengupasan untuk memisahkan kulit dengan daging buahnya. Kulit limau kuit diangin-anginkan agar kering dan tidak terkena sinar matahari secara langsung. Pengeringan dilakukan kembali dengan oven pada suhu <50°C selama 12 jam, sesudah itu haluskan menggunakan blender sampai berbentuk simplisia. Serbuk kulit limau kuit direndam menggunakan etanol 96% di dalam wadah tertutup. Proses perendaman dilakukan selama 5x24 jam terlindung dari cahaya dan diaduk beberapa kali selama perendaman, serta dilakukan penggantian pelarut setiap hari. Penyaringan dilakukan menggunakan kertas saring, residu dicuci dengan etanol 96% dan disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya selama 2 hari. Hasil ekstraksi lalu duiapkan

menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dan menggunakan *waterbath* diuapkan lagi sampai diperoleh ekstrak etanol kulit limau kuit 20,84 gram dengan konsentrasi 100% yang kental. Ekstrak kental lalu diencerkan dengan akuades menggunakan rumus $M1.V2=M2.V1$ sehingga didapat konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol positif dibuat dari 1 ml kloheksidin glukonat 0,2% dicampurkan dengan air sebanyak 5 ml, lalu diambil sebanyak 1 ml kemudian diletakkan ke tabung vakum kontrol positif. Cara pembuangan larutan kontrol negatif yaitu 1 ml akuades dimasukkan ke dalam tabung vakum kontrol negatif.

Pembuatan Sampel

Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ml lalu campurkan ke setiap tabung vakum. Tutup tabung vakum menggunakan kapas steril lalu dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*. Inkubasi selama 24 jam di suhu 37°C pada tabung yang berisi bakteri, kontrol (+) dan kontrol (-), kemudian 24 jam setelah itu gunakan *Spektrofotometer Uv-Vis 540AP* untuk mengukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum yang telah disesuaikan agar mengetahui nilai KHM. Nilai KBM ditentukan menggunakan metode dilusi padat di media agar NA dengan alat *colony counter*.

Uji Antibakteri

Nilai KHM didapatkan menurut selisih nilai absorbansi yang mengalami penurunan atau lebih rendah dengan selisih nilai absorbansi kelompok kontrol negatif apabila dibandingkan. Pengukuran KBM dengan cara diambil 200 µL dari konsentrasi KHM, kemudian dicampurkan ke dalam cawan petri yang berisi media NA steril lalu diinkubasi selama 24 jam di suhu 37°C. Nilai KBM didapatkan dari hasil menghitung jumlah koloni bakteri menggunakan alat *colony counter* yaitu 0 CFU/µL (tidak ada pertumbuhan koloni bakteri).

HASIL

Hasil penelitian didapatkan rata-rata (*mean*) dan standar deviasi pada selisih nilai absorbansi serta jumlah koloni bakteri pada tabel berikut:

Tabel 1. *Mean ± Standar Deviasi*

Perlakuan	N	Selisih Nilai Absorbansi		Jumlah Koloni		
		Mean	± Standar Deviasi	Mean	± Standar Deviasi	Standar Deviasi
5%	4	-70	± 51.267	1330	± 182,589	
10%	4	-1.062	± 12.152	1208	± 180,665	
20%	4	-1.840	± 25.126	1172	± 56,606	
40%	4	-2.291	± 18.191	1116	± 90,155	
60%	4	-3.051	± 22.247	874	± 162,037	
80%	4	-3.491	± 16.820	0	± 0	
100%	4	-3.723	± 11.117	0	± 0	
K (+)	4	4.097,6	± 5.742	0	± 0	
K (-)	4	1.212	± 27.749	1348	± 102,969	

Berdasarkan Tabel 1 didapatkan konsentrasi yang menunjukkan penurunan selisih nilai absorbansi di dapat pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Kelompok kontrol positif berupa akuades tidak terjadi penurunan nilai absorbansi. Nilai absorbansi yang menunjukkan KHM di dapat pada konsentrasi 5% karena pada konsentrasi tersebut nilai absorbansinya lebih rendah dibandingkan kontrol negatif

Tabel 1 didapatkan nilai rata-rata jumlah koloni pada seluruh kelompok perlakuan. Total koloni bakteri dengan nilai lebih dari 0 CFU/µL dapat di artikan masih ada pertumbuhan bakteri. Perlakuan yang menunjukkan daya bunuh di dapat pada konsentrasi 80%, 100% dan kelompok kontrol positif karena tidak ada bakteri yang tumbuh pada media atau 0 CFU/µL. Konsentrasi yang menunjukkan KBM terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* di dapat pada konsentrasi 80%. Analisis data menggunakan aplikasi SPSS. Data dari penelitian ini di uji normalitas memakai uji *Saphiro wilk*.

Tabel 2. uji *Post Hoc Games Howel* Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Citrus hystrix*), terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Perlakuan	Konsentrasi Ekstrak Kulit Limau Kuit (<i>Citrus hystrix</i>)							Kontrol	
	5%	10%	20%	40%	60%	80%	100%	(+)	(-)
5%		0,008*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,003*
10%	0,008*		0,001*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
20%	0,000*	0,001*		0,006*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
40%	0,000*	0,000*	0,006*		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
60%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*		0,004*	0,001*	0,000*	0,000*
80%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,004*		0,020*	0,000*	0,000*
100%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,020*		0,000*	0,000*
Kontrol (+)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*		0,000*
Kontrol (-)	0,003*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	

Keterangan:

* : Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Tabel 3. Uji *Post Mann Whitney* Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Citrus hystrix*), terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Perlakuan	Konsentrasi Ekstrak Kulit Limau Kuit (<i>Citrus hystrix</i>)						Kontrol		
	5%	10%	20%	40%	60%	80%	100%	(+)	(-)
5%		0,832	0,568	0,200	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	1,000
10%	0,832		1,000	0,959	0,007*	0,000*	0,000*	0,000*	0,708
20%	0,568	1,000		0,998	0,021*	0,000*	0,000*	0,000*	0,429
40%	0,200	0,959	0,998		0,101	0,000*	0,000*	0,000*	0,131
60%	0,000*	0,007*	0,021*	0,101		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
80%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*		1,000	1,000	0,000*
100%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	1,000		1,000	0,000*
Kontrol (+)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	1,000	1,000		0,000*
Kontrol (-)	1,000	0,708	0,429	0,131	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	

Keterangan:

* : Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi 5% sudah efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan nilai absorbansi sebesar -70 dan menunjukkan nilai absorbansi yang lebih rendah dibandingkan kontrol negatif, sehingga ekstrak kulit limau kuit konsentrasi 5% dianggap sebagai konsentrasi Kadar Hambat Minimum (KHM). Konsentrasi 5% terdapat senyawa antibakteri yang terkandung, tapi pada konsentrasi yang rendah, kandungan senyawa antibakterinya juga kurang optimal untuk menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga diperlukan peningkatan konsentrasi ekstrak kulit limau kuit untuk mendapatkan kandungan senyawa yang lebih banyak untuk menghasilkan daya hambat yang lebih kuat agar setara dengan klorheksidin 0,2% dan kenaikan nilai selisih absorbansi sejalan dengan naiknya tingkatan konsentrasi, karena semakin tinggi juga zat aktif yang ada di dalamnya, sehingga jumlah mikroorganisme mengalami penurunan, maka semakin berpengaruh pada daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri.¹⁴ Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Herda (2018) uji efektivitas antimikroba ekstrak kulit limau kuit dengan variasi konsentrasi pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menggunakan difusi cakram, menghasilkan ekstrak limau kuit pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%, yang menunjukkan konsentrasi optimal dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* yaitu konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 10,67 mm.¹⁴

Kontrol positif klorheksidin 0,2% memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap pertumbuhan bakteri yang bersifat bakteriostatik dan bakteriosidal. Klorheksidin 0,2% mempunyai muatan kation (+) sedangkan bakteri mempunyai muatan anion (-), sehingga klorheksidin dapat melekat pada sel bakteri, dengan cara berdeposit pada protein sitoplasmid

sehingga terjadi kenaikan permeabilitas sel bakteri menyebabkan penetrasi sitoplasma lalu terjadi kebocoran dan berpengaruh pada penghambatan atau kematian bakteri.^{8,9} Pada penelitian kali ini, hasil pemeriksaan dengan *spektrofotometer* menunjukkan adanya peningkatan absorbansi dari klorheksidin. Hal tersebut sama dengan penelitian Khairiah, dkk (2020) dan Sakaue, dkk (2018) dimana klorheksidin glukonat memicu terbentuknya deposit-deposit yang dihasilkan oleh *Porphyromonas gingivalis* dimana jika berkoloni akan membentuk plak sehingga pada kontrol positif lebih keruh karena adanya plak dan terjadi kenaikan absorbansi.^{9,15} Kelompok kontrol negatif akuades tidak mampu menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri sehingga setelah perlakuan masih tetap ada pertumbuhan bakteri. Hal ini sejalan dengan penelitian Khotimah (2017) yang mengatakan bahwa akuades adalah air hasil penyulingan yang mempunyai sifat murni dan lazim digunakan untuk pelarut ekstrak maupun bahan kimia, sebagai kontrol negatif suatu penelitian dan pembersih alat laboratorium.¹⁶

Hasil uji dilusi padat ekstrak kulit limau kuit konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, dan 60% menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, tetapi pada konsentrasi 80% dan 100% menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri, sehingga konsentrasi 80% merupakan Kadar Bunuh Minimum (KBM), konsentrasi terkecil pada agen antibakteri yang mampu membunuh bakteri, konsentrasi tersebut setara dengan klorheksidin 0,2% dimana tidak ada pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini disebabkan semua kandungan senyawa metabolik ekstrak kulit limau kuit pada konsentrasi 80% tersebut saling bekerja sama melakukan mekanisme antibakteri sehingga menghasilkan efek antibakteri yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara maksimal. Hal ini memperlihatkan

dengan semakin tinggi konsentrasi, maka semakin efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri.¹⁴

Hasil uji *Post Hoc Games Howel* KHM menunjukkan ekstrak kulit limau kuit konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%, kontrol negatif dan kontrol positif terdapat perbedaan yang bermakna terhadap satu sama lain. Konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, dan 80% menunjukkan *mean* selisih absorbansi yang lebih rendah dibandingkan konsentrasi 100%. Hal ini membuktikan bahwa daya hambat bakteri lebih lemah dari konsentrasi 100%, tetapi mempunyai efek antibakteri yang lebih tinggi dari kontrol negatif, sehingga semakin tinggi konsentrasi, maka zat aktif yang terdapat di dalamnya juga tinggi, akibatnya semakin berpengaruh pada daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri semakin tinggi.¹⁴

Berdasarkan hasil uji KBM *Post Hoc Mann Whitney* menunjukkan ekstrak kulit limau kuit tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap setiap konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif. Tidak terdapat perbedaan bermakna pada konsentrasi 80%, 100% dan klorheksidin menandakan bahwa pada konsentrasi tersebut memiliki antibakteri yang setara.¹⁷ Perlakuan ketiganya mempunyai kesetaraan dalam membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis*, namun konsentrasi terkecil yang bisa menghentikan pertumbuhan bakteri yaitu konsentrasi 80%. Sejalan dengan Kumara, dkk (2019) menyatakan bahwa seiring dengan kenaikan konsentrasi maka terjadi kenaikan kandungan senyawa antibakteri sehingga akan semakin kuat daya hambatnya.¹⁸

Terdapat Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) karena adanya beberapa senyawa metabolik sekunder pada ekstrak dengan mekanisme tertentu. Menurut Lewis (2005) Keutuhan membran sel, terhambatnya kerja enzim, terganggunya asam nukleat dan sintesis protein, dan terhambatnya sintesa dinding sel menyebabkan penghambatan yang diakibatkan adanya senyawa metabolik yang terkandung di dalam ekstrak. Mekanisme antibakteri dengan beberapa cara yaitu berubahnya permeabilitas membran sitoplasma yang mengakibatkan pada dinding sel keluar bahan makanan, dan kerusakan sistem metabolisme di dalam sel akibat dari terhambatnya kerja enzim intraseluler lalu denaturasi protein sel, kerusakan dinding sel, sehingga berakibat lisis.¹⁴ Setiap senyawa metabolik mempunyai mekanisme yang berbeda dalam menghambatan bakteri. Senyawa triterpenoid merupakan senyawa metabolik yang paling banyak di ekstrak kulit limau kuit yaitu sebesar 899,13 mg/ml.¹²

Triterpenoid sebagai antibakteri, yaitu bereaksi dengan porin (protein trans membran) di membran luar dinding sel bakteri, lalu membuat ikatan polimer yang kuat, sehingga permeabilitas dinding sel berkurang akibatnya menimbulkan rusaknya pada porin yang merupakan tempat transport senyawa sehingga miskin nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat lalu

mengalami lisis.^{13,19} Alkaloid sebagai antibakteri dengan cara komponen nitrogen dari gugus basa alkaloid bereaksi dengan asam amino di dinding sel dan DNA bakteri, akibatnya keseimbangan genetik rantai DNA berubah dan rusak hal ini disebabkan susunan asam amino yang terganggu memicu lisisnya sel bakteri lalu terjadi kematian sel.²⁰

Sifat saponin yang seperti busa sehingga pada dinding sel mengalami penurunan tegangan. Saponin sebagai antibakteri menyebabkan rusaknya membran sel bakteri dengan mengganggu kestabilan membran dengan cara difusi melalui membran sitoplasma, akibatnya sitoplasma akan keluar dari sel dan terjadi kematian pada sel.²¹ Flavonoid sebagai antibakteri dengan penghambat Ketika proses metabolisme energi bakteri dan sintesis asam nukleat, serta terganggunya sintesis dinding bakteri yang mengakibatkan plasma mengalami kebocoran dan bakteri akan lisis.²⁰ Steroid sebagai antibakteri dengan cara mengganggu membrane lipid sehingga terjadi kebocoran, sifatnya yang lipofilik dapat mengurangi integritas membrane sel dan morfologinya.⁷ Mekanisme tanin sebagai antibakteri yaitu melalui ion H⁺ yang dimilikinya berikatan dengan protein sel bakteri sehingga terjadi denaturasi protein akibat penurunan pH. Kondisi asam akan menginaktivasi enzim bakteri mengakibatkan terganggunya metabolisme sel hingga kematian sel bakteri.²⁰

Faktor lain yang bisa memengaruhi kekuatan ekstrak untuk menghambat pertumbuhan bakteri ialah konsentrasi ekstrak dan sifat serta morfologi bakteri yang diuji.²² Bakteri *Porphyromonas gingivalis* tergolong bakteri gram dengan lapisan dinding sel berjumlah tiga yaitu lipopolisakarid, peptidoglikan dan lipoprotein dengan kandungan lipid di dinding sel berkisar 11-22% sedangkan bakteri gram positif hanya satu lapisan yang memiliki lipid 1-4%. Dinding sel bakteri gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan lebih tipis dari pada bakteri gram positif. Bakteri gram negatif pada komponen kimianya bersifat antibakteri sehingga sulit untuk menembus dinding sel bakterinya karena adanya membran luar fosfolipid.^{22,23,24} Sejalan dengan Poeloegan (2010) perbedaan zona hambat yang terbentuk berbeda karena ada perbedaan susunan dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif.²⁴ Selain itu, *Porphyromonas gingivalis* memiliki banyak kandungan lipid, sehingga senyawa bersifat polar akan sulit melewati dinding selnya, berbeda satu lapis lebih tebal pada peptidoglikan di bakteri gram positif sehingga rentan terhadap lisozim, akibatnya mudah dirusakkan oleh senyawa antibakteri.^{22,25} Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit limau kuit (*Citrus hystrix*) memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 5% dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi 80%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Newman and Carranza's Clinical Periodontology. 13th Edition. Canada: Elsevier Saunders; 2019. p.62-342.
2. Kementerian Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI; 2018. p.207.
3. Sari DP, C Damajanty H, Pangemanan, Juliatri. Uji Daya Hambat Ekstrak Alga Coklat (*Padina australis* Hauck) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Secara in vitro. Jurnal e-GiGi. 2016; 4 (2): 140-144.
4. Alibasyah ZM, Ningsih DS, Ananda SF. Daya Hambat Minuman Probiotik Yoghurt Susu Sapi Terhadap *Porphyromonas Gingivalis* Secara In Vitro. J Syiah Kuala Dent Soc. 2018; 3(2): 65-75.
5. Qomariyah L, Panjaitan FUA, Rosihan Adhani R. Antibacterial Effectivity Of Flavonoid Fraction Of *Ramania Leaf* Extract (*Bouea macrophylla* Griffith) Against *Porphyromonas Gingivalis*. Dentino (Jur. Ked. Gigi). 2021; 6(1) :72-78.
6. Putri MH, Herijulianti E, Nurjannah N. Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras dan Jaringan Pendukung Gigi. Jakarta: EGC. 2013. p.105,150.
7. Khotimah DK, Firdaus IWAK, Apriasari ML. The inhibitor Activity Of Kelakai Leaf Extract Against The Growth Of *Porphyromonas Gingivalis* ATCC® 33277™. Dentino (Jur. Ked. Gigi). 2020; 5(2): 104-109.
8. Zulkarnain M, Safitri E. Pengaruh Perendaman Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Polimerisasi Panas Dalam Klorheksidin dan Ekstrak Bunga Rosella terhadap Jumlah *Candida albican*. Dentika Dental Journal, 2016; 19(2): 110-116.
9. Khairiah S, Oktiani BW, Putri DKT. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kasturi (*Mangifera Casturi*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Dentin Jurnal Kedokteran Gigi. 2020; 4(3): 88-94.
10. Kasuma N, Fajrin FN, Aldi Y, Fitri H. Pengaruh obat kumur ekstrak morinda citrifolia l sebagai antigingivitis. Dentika Dental Journal. 2016; 19(2): 102-109.
11. Irwan A, Junaidi AB. Kajian Awal Metabolimik pada Ekstrak Metanol Daging Buah Limau Kuit dengan Analisis GC-MS Tidak Tertarget. Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah. 2020; 5(3): 27-28.
12. Habibah AA, Apriasari ML, Wasiaturrahmah Y. Uji Fitokimia Kuantitatif Ekstrak Etanol Kulit Limau Kuit (*Citrus hystrix*) Konsentrasi 100%. digilib ULM. FKG ULM. 2021.
13. Rini AA, Supriatno, Rahmatan H. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstark Etanol Buah (*Limonia acidissima* L) Dari Daerah Kabupaten Aceh Besar Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah. 2017; 2(1): 1-12.
14. Ariyani H, Nazemi M, Hamidah, Kurniati M. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Cytrus hystrix* DC) Terhadap Beberapa Bakteri. JCPS. 2018; 2(1). 136-141.
15. Sakaue Y, Takenaka S, Ohsumi T, Domon H, Terao Y, Noiri Y. The effect of chlorhexidine on dental calculus formation: an in vitro study. BMC Oral Health. 2018; 185(2): 1-7.
16. Khotimah H, Anggraeni EW, Setianingsih A. Karakterisasi Hasil Pengolahan Air Menggunakan Alat Destilasi Characterization Of Water Processing Using Distillation Equipment. Jurnal Chemurgy. 2017; 1(2): 34-38.
17. Ridhwana L, Panjaitan FUA, Wasiaturrahmah Y, Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kasturi (*Mangifera casturi*) Terhadap Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Dentin Jurnal Kedokteran Gigi. 2020; 4(2): 49-55.
18. Kumara INC, Pradnyani IGAS, Sidiarta IGAFN. Uji Efektivitas Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. Intisari Sains Medis. 2019; 10(3): 462-467.
19. Azkya D. M. Latupeirissa, Kurnia C, Vinna K. Sugiaman. Antibacterial Effectiveness of Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) Peel Extract against *Porphyromonas gingivalis*. e-GiGi. 2022; 10(2): 168-175.
20. Dewangga VS, Qurrohman MT. Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Meniran Hijau (*Phyllanthus niruri* Linn.) dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Kesehatan Kusuma Husada. 2019; 10(2): 147-148.
21. Sudarmi K, Darmayasa IBG, Muksin IK. Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. Jurnal Simbiosis. 2017; 5(2): 50.
22. Lingga AR, Pato U, Rossi E. Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. JOM Faperta. 2016; 3(1):1-15.
23. Putri NHS, Nurdiwiyati D, Lestari S, Ramdhan B, Efendi M, Nurhidayat N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tangkai dan Daun *Begonia Multangula* Blume Terhadap *Porphyromonas Gingivalis*. Jurnal Biologi UNAND. 2019; 7 (1): 51-58.

24. Surjowardojo P, Susilorini TE Sirait GRB. Daya Hambat Dekok Kulit Apek Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp Pertumbuhan Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah J. Ternak Tropika. 2015; 16(2): 40-48.
25. Sardiani N, Litaay M, Budji RG, Priosambodo D. Potensi tunikata *Rhopalaea* sp sebagai sumber inokulum bakteri endosimbion penghasil antibakteri; karakterisasi isolat. Jurnal Alam dan Lingkungan. 2015; 6(11): 1-10.