

Analisis Kandungan Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Sebagai senyawa *Antibakteri* Penyebab Karies Gigi Secara In-Vitro

I Made Budi Artawa S.Si.T, M.Kes¹, I Gede Surya
Kencana S.Si.T, M.Kes², I Nyoman Gejir S.Si.T, M.Kes³
Koresponden email: imadebudiartawa@gmail.com

^{1,2,3} Dosen Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar

Abstract

A natural substance known to have antibacterial effects is pomelo (*Citrus maxima*). Caries is an infection that occurs in the hard tissues of the teeth. The caries process can be inhibited mechanically, chemically, or by a combination of both, namely by reducing bacterial adhesion, proliferation, and aggregation using natural substances, which are chemical compounds in pomelo peel extract. However, the chemical content of ethanol extract of pomelo peel is not yet known. The purpose of this study is to determine the chemical content of ethanol extract of pomelo peel (*Citrus maxima*) in vitro. The research was conducted at the Pharmacognosy and Phytochemistry Laboratory, Pharmacy Study Program, FMIPA, Warmadewa University. Data were processed using the SPSS program and analyzed using Univariate Multi-way Analysis of Variance (ANOVA). The results of the study showed that ethanol extract of pomelo peel contained flavonoids as much as 102.92 ± 1.96 mg/100g QE, tannins as much as $6,867.61 \pm 167.95$ mg/100g TAE, and phenols as much as $4,865.65 \pm 106.83$ mg/100g GAE. The conclusion is that the ethanol extract of grapefruit peel is positive for containing flavonoids, tannins, phenols, and has antibacterial effects.

Keywords: Chemical Compounds, Grapefruit Peel, Antibacterial, Caries, In-vitro

PENDAHULUAN

Karies adalah infeksi yang terjadi pada jaringan keras gigi, disebabkan terutama oleh *Streptococcus mutans* yang memetabolisme gula untuk menghasilkan asam, sehingga seiring waktu akan mengakibatkan mineralisasi struktur gigi. Adanya kombinasi dari *Streptococcus mutans* dengan faktor lain seperti *substrat*, *host*, dan waktu menyebabkan percepatan terjadinya karies gigi ⁽¹⁾

Menurut survey oleh *Global Oral Health Data Bank* kejadian karies gigi

di seluruh dunia memiliki angka yang cukup tinggi yaitu berkisar antara 49% - 83%. Karies gigi dapat terjadi pada seluruh rentang usia, namun yang tertinggi terjadi pada populasi usia 12-19 tahun disusul oleh populasi anak-anak dan dewasa ⁽²⁾. Begitu pula dengan di Indonesia, berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) proporsi terbesar masalah gigi di Indonesia adalah berupa karies gigi (45,3%) dengan usia terbanyak adalah 55-64 tahun (96,8%) disusul oleh usia 65 tahun (95%), usia 45-54 tahun (94,5%) dan 35-44 (92,2%) ⁽³⁾

Proses pembentukan karies gigi dapat dihambat secara mekanis, kimiawi, ataupun kombinasi keduanya yaitu dengan mengurangi perlekatan, proliferasi dan agregasi bakteri *Streptococcus mutans*. Tindakan mekanis dengan cara menyikat gigi terkadang tidak cukup untuk menghambat pembentukan karies gigi sehingga dikombinasi dengan pemberian obat kumur. Namun pemberian obat kumur berbahan kimia dalam jangka panjang dapat menimbulkan berbagai efek samping seperti pewarnaan ekstrinsik pada gigi ⁽⁴⁾. Sehingga dibutuhkan bahan antibakteri dari bahan alami yang diharapkan lebih minim efek samping dalam penggunaannya.

Salah satu bahan alami yang diketahui memiliki efek antibakteri adalah jeruk bali (*Citrus maxima*). Sebagian besar komponen jeruk bali terletak pada kulitnya. Pada penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa tanaman jeruk bali memiliki kandungan *fenol*, *tannin*, *flavonoid* dan vitamin C. pada penelitian lain menggunakan kulit jeruk nipis didapatkan hasil bahwa senyawa *flavonoid* mampu menghambat enzim DTF pada *Streptococcus mutans*⁽⁵⁾.

Berdasarkan uraian tersebut, diketahui bahwa senyawa pada kulit jeruk bali terdapat beberapa senyawa antibakteri, namun belum diketahui kandungan senyawa kimia dalam ekstrak kulit jeruk bali. Sehingga penulis tertarik untuk menganalisis kandungan senyawa kimia dalam ekstrak kulit jeruk bali. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam ekstrak kulit jeruk bali. secara *in-vitro*.

Metode

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *quasy experimental* berupa *post test only control group design*.

Pembuatan ekstrak kulit jeruk bali dilakukan di Laboratorium Analisis Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Juni sampai dengan Bulan Nopember 2022. Populasi dalam penelitian ini adalah Kulit jeruk bali sebanyak lima kg.

Instrumen dan bahan dalam pembuatan ekstrak kulit jeruk bali. Instrumennya antara lain: pisau, blender, ayakan nomor 40, wadah kedap, batang pengaduk, kertas saring Whatman, pompa vakum, labu alas bulat, penyaring buncher, *Rotary Evaporator* (EYELA®), botol kaca steril.

Prosedur pembuatan ekstrak kulit jeruk bali, kulit jeruk bali dicuci dan dikeringkan tanpa terkena sinar matahari selama 7 hari. Sampel kemudian diblender hingga berbentuk serbuk dan diayak. Sebanyak ± 200 gr simplisia serbuk kulit jeruk bali dimaserasi dengan pelarut etanol 70%. Setelah diperoleh filtrat kulit jeruk bali, dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak dengan konsentrasi 100%.

Pengelohan dan Analisis Data, data yang diperoleh dimasukkan kedalam tabel induk, kemudian diolah secara manual dengan bantuan komputer (program SPSS 25). Hasil pengolahan data di sajikan dalam bentuk tabel, narasi, dan atau gambar.

Hasil Penelitian

Hasil penelitian ekstrak etanol kulit jeruk bali positif mengandung senyawa *tannin*, *flavonoid*, *fenol* dan *terpenoid*. Pada identifikasi *flavonoid* menggunakan uji *wilstater*, yaitu penambahan serbuk *magnesium* dan *HCl* pekat pada ekstrak. *Magnesium* dan *asam klorida* bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H_2 , sedangkan logam *Mg* dan *HCl* pekat pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti *benzopiron* yang terdapat pada struktur *flavonoid* sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah atau jingga⁽⁶⁾. Identifikasi *saponin* menggunakan uji *forth* dengan melihat terbentuknya busa dan dapat bertahan selama 10 menit. Timbulnya busa pada uji *forth* menunjukkan adanya *glikosida* yang mempunyai kemampuan

membentuk buih dalam air yang *terhidrolisis* menjadi *glukosa* dan senyawa lainnya⁽⁷⁾. Identifikasi *alkaloid* dilakukan uji *mayer*. Pada uji *mayer* terbentuk endapan jingga (Shevla. 1990). Identifikasi *terpenoid* dan *steroid* menggunakan uji *Lieberman-Burchard* (*anhidrase asetat-H₂SO₄* pekat) memberikan warna hijau-biru. Perubahan warna dikarenakan terjadinya oksidasi pada golongan senyawa *terpenoid/steroid* melalui pembentukan ikatan rangkap *terkonjugasi*⁽⁸⁾. Identifikasi *tannin* menggunakan pereaksi besi (III) *klorida*. Hasil yang diperoleh pada ekstrak kulit jeruk Bali adalah terbentuknya warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambah FeCl_3 1% karena *tannin* akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks⁽⁹⁾. Identifikasi *fenol* menggunakan pereaksi larutan FeCl_3 5% (positif jika membentuk coklat kehitaman)⁽⁹⁾. Hasil yang diperoleh ekstrak kulit jeruk bali positif mengandung *tannin*, *flavonoid*, *fenol*, dan *terpenoid* seperti terlihat pada hasil skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk bali (tabel 1).

Beberapa golongan *fenolik* seperti *flavonoid*, *tanin*, dan senyawa *fenol* lainnya berfungsi sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk melawan mikroorganisme *patogen* sehingga dapat berperan sebagai senyawa *antibakteri/antimikroba*⁽¹⁰⁾.

a. Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk bali.

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk bali, terlihat pada tabel 1.

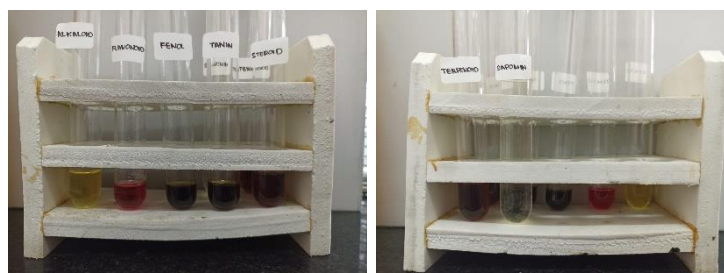
Tabel 1.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali

NO	JENIS UJI	HASIL	Keterangan
1	Alkaloid (Mayer)	-/Negatif	Tidak Terdapat Endapan Putih
2	Tannin	+ /Positif	Terdapat Perubahan Warna
3	Saponin	-/Negatif	Tidak Terdapat Busa
4	Flavonoid	+ /Positif	Terdapat Perubahan Warna

5	Fenol	+ /Positif	Terdapat Perubahan Warna
6	Steroid	- /Negatif	Tidak Terdapat Perubahan Warna
7	Terpenoid	+ /Positif	Terdapat Perubahan Warna

Gambar 1.
Uji Skrining
Fitokimia



Hasil

Tabel 1 menunjukkan hasil uji positif (+) skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk bali antara lain *tannin*, *flavonoid*, *fenol* dan *terfenoid*.

b. Hasil pengujian kuantitatif (*flavonoid*, *fenol*, *tannin*)

Hasil pengujian kuantitatif (*flavonoid*, *fenol*, *tannin*) Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali terlihat pada tabel 2.

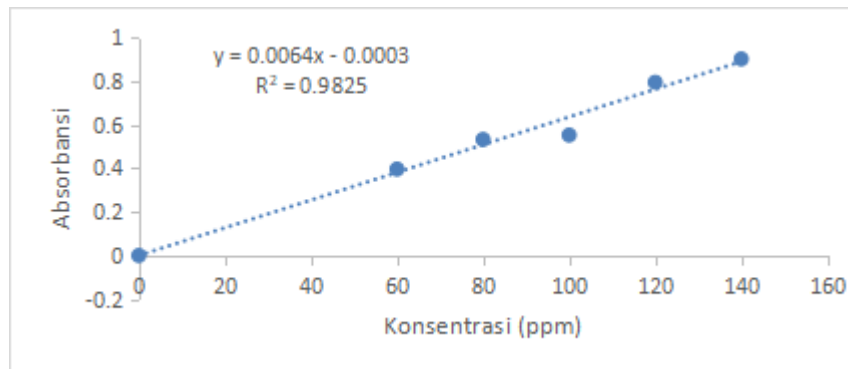
Tabel 2. Hasil Pengujian Kuantitatif (Flavonoid, Fenol, Tannin)
Ekstrak Etanol Kulit Jeruk

Variabel Uji	Pengujian			Rata-rata
	I	II	III	
Flavonoid (mg/100g QE)	103.52	100.74	104.52	102.92 ±1.96
Fenol (mg/100 g GAE)	4,746.41	4,897.91	4,952.63	4,865.65 ± 106.83
Tannin (mg/100 g TAE)	6686.48	6898.19	7018.17	6,867.61±167.95

1). *Flavonoid*

Dalam penelitian ini untuk menentukan kadar senyawa flavonoid total pada sampel digunakan *kuersetin* (QE) sebagai larutan standar. Pada pengukuran kadar *flavonoid* total dilakukan penambahan $AlCl_3$ yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah

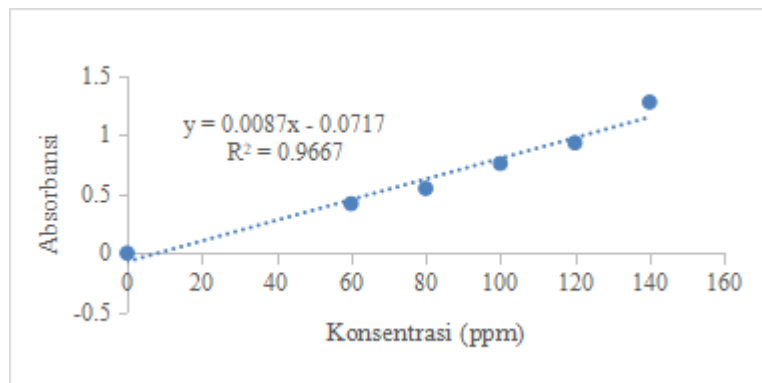
visible (nampak) ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Adapun penambahan kalium asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* (tampak) ⁽¹¹⁾.



Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk serapan *kuarsetin* pada konsentrasi 60, 80, 100, 120 dan 140 ppm sebesar $y = 0.0064x - 0.0003$. Pada pengukuran serapan *kuarsetin* yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9825 dimana (r) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier. Kadar *flavonoid* ekstrak etanol kulit jeruk bali sebesar 102.92 ± 1.96 mg/100g QE, seperti terlihat pada tabel 2.

2) Fenol

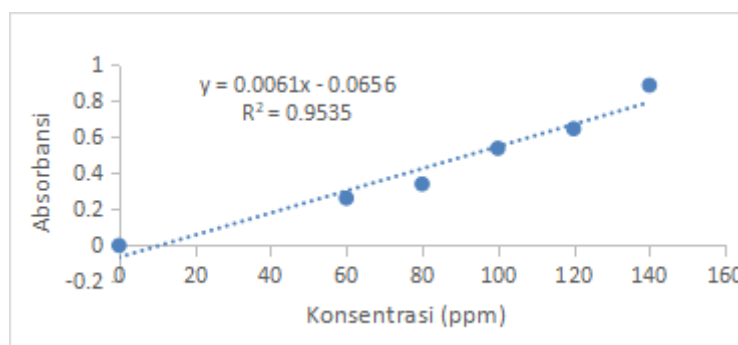
Kadar senyawa fenol total pada sampel digunakan *asam galat* (GAE) sebagai larutan standar. Asam galat termasuk dalam senyawa *fenolik* turunan asam *hidroksi benzoate* yang tergolong asam *fenol* sederhana. Asam galat menjadi pilihan sebagai standar ketersediaan substansi yang stabil dan murni. *Asam galat* direaksikan dengan *reagen Folin-Ciocalteu* menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa mengandung *fenol*, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 menghasilkan warna biru ⁽¹¹⁾.



Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk serapan asam galat pada konsentrasi 60, 80, 100, 120 dan 140 ppm sebesar $y = 0.0087x - 0.0717$. Pada pengukuran serapan *asam galat* yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9667 dimana (r) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier. Kadar fenol ekstrak etanol kulit jeruk bali sebesar $4,865.65 \pm 106.83$ mg/100g GAE seperti terlihat pada Tabel 2

3) Tannin

Penentuan kandungan total tanin dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Denis dan standar asam tanat (TAE). Asam tanat digunakan sebagai standar pengukuran dikarenakan asam tanat merupakan senyawa polifenol yang bersifat murni dan stabil⁽¹²⁾. Tanin dan asam tanat yang merupakan senyawa golongan polifenol direaksikan dengan pereaksi Folin-Denis dan akan terjadi reaksi reduksi fosfomolibdat menjadi molibdenum sehingga terbentuk warna biru yang dapat dideteksi oleh sinar tampak pada panjang gelombang 760 nm ⁽¹²⁾ .



Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk serapan asam tanat pada konsentrasi 60, 80, 100, 120 dan 140 ppm sebesar $y = 0.0061x - 0.0656$. Pada pengukuran serapan asam tanat yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9535 dimana (r) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier. Kadar tannin ekstrak etanol kulit jeruk dapat dilihat pada Tabel 2. Kadar tannin ekstrak etanol kulit jeruk bali sebesar $6,867.61 \pm 167.95$ mg/100g TAE.

Pembahasan

Hasil penelitian ekstrak kulit jeruk bali positif mengandung *tannin*, *flavonoid*, *fenol*, dan *terpenoid* seperti terlihat pada hasil skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk bali (tabel 1). Hasil penelitian ini sesuai dengan Penelitian yang dilakukan oleh Suryanita, dkk (2019), menemukan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk bali positif mengandung senyawa *flavonoid*, *saponin*, *alkaloid*, *triterpenoid/steroid* dan *tannin*.⁽¹³⁾

Hasil pengujian kuantitatif terhadap *flavonoid*, *fenol* dan *tannin* dapat dijelaskan sebagai berikut, pada identifikasi *flavonoid* menggunakan uji *wilstater*. Berdasarkan uji tersebut diketahui kadar *flavonoid* ekstrak etanol kulit jeruk bali sebesar 102.92 ± 1.96 mg/100g QE. Kadar senyawa fenol total pada sampel digunakan asam galat (GAE) sebagai larutan standar. Berdasarkan uji tersebut kadar fenol ekstrak etanol kulit jeruk bali sebesar $4,865.65 \pm 106.83$ mg/100g GAE. Penentuan kandungan total *tannin* dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Folin-Denis* dan standar *asam tanat* (TAE). Berdasarkan uji tersebut diketahui kadar tannin ekstrak etanol kulit jeruk bali sebesar $6,867.61 \pm 167.95$ mg/100g TAE. golongan *fenolik* seperti *flavonoid*, *tanin*, dan senyawa *fenol* lainnya berfungsi sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk melawan mikroorganisme *patogen* sehingga dapat berperan sebagai senyawa *antibakteri/antimikroba*.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol kulit jeruk bali positif mengandung senyawa *flavonoid*, *fenol* dan *tannin*. Kadar *flavonoid* sebesar 102.92 ± 1.96 mg/100 g QE, *fenol* sebesar $4,865.65 \pm 106.83$ mg/100g dan *tannin* sebesar $6,867.61 \pm 167.95$ mg/100g TAE. golongan *fenolik* seperti *flavonoid*, *tanin*, dan senyawa *fenol* lainnya berfungsi sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk melawan mikroorganisme *patogen* sehingga dapat berperan sebagai senyawa *antibakteri/antimikroba*.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan simpulan maka dapat disarankan: Kepada institusi kesehatan gigi agar menjadikan hasil penelitian ini sebagai salah satu sumber informasi untuk pengembangan Ilmu Kesehatan Gigi dalam pemanfaatan bahan-bahan herbal, khususnya di bidang Oral Mikrobiologi. Kepada praktisi penelitian, hasil penelitian ini bisa dijadikan sebagai sumber referensi untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

Daftar Pustaka

1. Rathee M dan Sapra A., 2021, *Dental Caries*.NCBI Statm Pearls, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551699/>, (diakses 23 Oktober 2021).
2. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Lavery D, Dietrich T.2017, Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review, J Clin Periodontol. Mar;44 Suppl 18:S94-S105
3. Riset Kesehatan Dasar, 2019, *Situasi Kesehatan Gigi dan Mulut 2019*, <https://www.kemkes.go.id/article/view/200309000005/situasi-kesehatan-gigi-dan-mulut-2019.html>, (diakses 30 Oktober 2021).
4. Adindaputri Z, Purwanti N dan Wahyudi IA.2013, Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* Swingle) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*, *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. Vol.20 no.2, hh. 126-131.

5. Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. 2011. A Photographic Atlas for The Microbiology Laboratory. Colorado: Morton Publishing Company.
6. Prashant. 2011. Pytochemical Screening and Extract. Internationale Pharmaceutica Science, 1 (1) : 1-9.19.
7. Marlina. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* jacq. Swartz) dalam ekstrak Etanol. Biofarmasi, 3 (1) : 26-31.20.
8. Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha Lurcas*) Sebagai Biopeptisida yang efektif dengan penambahan larutan NaCl. Jurnal Mipa, 35 (2) : 77-83
9. Harbone, J. B. 1987. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Institusi Teknologi Bandung.
10. Hayet et al., 2008, "Antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of *Retama raetam* (Forssk.) Webb flowers growing in Tunisia," World J. Microbiol. Biotechnol., vol. 24, no. 12, pp. 29–33
11. Chang, C., Yang, M., Hen, and Chern, J. 2002. Estimasion of total flavanoid content in Propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3):178-179
12. Kusumaningati RW. 2009. Analisa Kandungan Fenol Total Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Secara In vitro [Skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia
13. Suryanita, Aliyah, Djabir YY, Wahyudin E, Rahman L, dan Yulianty R., 2019. Identifikasi Senyawa Kimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.). *Majalah Farmasi dan farmakologi*. Vol.23, no.1 h. 16-20.