

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL EKSTRAK KULIT
JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP BAKTERI
Enterococcus faecalis: Studi *In vitro***

SKRIPSI

Diajukan untuk melengkapi salah satu syarat mencapai gelar
Sarjana Kedokteran Gigi



Oleh:

FATIMAH AZ-ZAHRA

J011 201 097

**DEPARTEMEN ILMU KONSERVASI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL EKSTRAK KULIT
JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP BAKTERI
Enterococcus faecalis: Studi *In vitro***

Diajukan untuk melengkapi salah satu syarat mencapai gelar
Sarjana Kedokteran Gigi

FATIMAH AZ-ZAHRA

J011 201 097

**DEPARTEMEN ILMU KONSERVASI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* (Studi *In vitro*).

Oleh : Fatimah Az-Zahra / J011201097

Telah diperiksa dan disahkan
pada tanggal 14 november 2023

oleh:


Pembimbing



Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG., Subsp. KE (K)
NIP. 19710625 200501 2 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D

NIP. 19810215 200801 1 009

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa mahasiswa yang tercantum dibawah ini:

Nama : Fatimah Az-Zahra

NIM : J011201097

Judul : Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* (Studi *In vitro*).

Menyatakan bahwa judul skripsi yang diajukan adalah judul yang baru dan tidak terdapat di Perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

Makassar, 15 November 2023

Koordinator Perpustakaan FKG UNHAS



PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fatimah Az-Zahra

NIM : J011201097

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* (Studi *In vitro*)” adalah benar merupakan karya sendiri dan tidak melakukan tindakan plagiarisme dalam penyusunannya. Adapun kutipan yang ada dalam penyusunan karya ini telah saya cantumkan sumber kutipannya dalam skripsi, saya bersedia melakukan proses yang semestinya sesuai dengan peraturan perundangan yang berlaku jika ternyata skripsi ini sebagian atau seluruhnya merupakan plagiarisme dari orang lain. Demikian pernyataan ini dibuat untuk dipergunakan seperlunya.

Makassar, 15 November 2023



Fatimah Az-Zahra

HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama Pembimbing:

Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG., Subsp. KE(K)

Tanda Tangan



Judul Skripsi:

Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* (Studi *In vitro*).

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul seperti tersebut diatas telah diperiksa, dikoreksi, dan disetujui oleh pembimbing untuk dicetak dan/atau diterbitkan.

MOTTO

“Don't worry your pretty little mind, people throw rocks at things that shine”

Taylor Swift

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah Shubahanahu Wa Ta'ala, karena berkat rahmat dan ridha-Nya yang senantiasa memberikan kemampuan dan kelancaran kepada penulis sehingga skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Enterococcus Faecalis* (Studi *In vitro*)” sebagai salah satu syarat dapat terselesaikan. Shalawat serta salam tak lupa pula penulis haturkan kepada Nabiullah Muhammad SAW. yang merupakan sebaik-baiknya suri teladan.

Selama proses penyusunan skripsi ini tentunya tidak luput dari bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini, yaitu kepada:

1. **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
2. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG., Subsp., KE(K)** selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, motivasi, arahan serta ilmu yang sangat bermanfaat untuk penulis hingga penyelesaian skripsi ini.
3. **Dr. Maria Tanumihardja, drg., Md. Sc.** dan **Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp. KG., Subsp., KE(K)** yang telah meluangkan waktunya menjadi dosen penguji serta memberikan kritik dan saran yang membangun bagi penulis.
4. Seluruh dosen, staf akademik, staf tata usaha, staf perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, dan staf Departemen Ilmu

Konservasi yang telah banyak membantu penulis selama proses perkuliahan dan penyusunan skripsi ini.

5. Kedua orang tua penulis, **Makmur Idris** dan **Hajrah Razaq**, serta kedua saudara penulis, yaitu **Siti Rahmah Amaliah** dan **Muhammad Yusuf Amir** yang selalu membantu, memotivasi, mendukung dan mendoakan penulis.
6. Segenap keluarga besar seperjuangan **Artikulasi 2020** atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis, khususnya teman seperjuangan skripsi **Tharisya Amiharna Kayla** dan **Muhammad Ridzki Putra Pratama**.
7. Staf laboratorium MIPA Universitas Negeri Makassar, Laboratorium Mikrostruktur FMIPA Universitas Negeri Makassar, atas perizinan yang diberikan, serta bantuan, arahan dan ilmu yang diberikan selama penelitian.
8. Staf Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar, atas perizinan yang diberikan, serta bantuan, arahan dan ilmu yang diberikan selama penelitian.
9. Kepada **Rahmat Akbar Putra Ilahude** pemilik **NIM J011201144** yang senantiasa mendengarkan keluh kesah peneliti, memberi dukungan, membantu, dan menemani peneliti sehingga skripsi ini dapat tersusun dengan baik.
10. Teman-teman terdekat penulis, BelajarSaja (**Metiw, Cica, Tharisya, Agil, Amel, Idon, Aidil, Izzul, Agung**) yang telah memberikan semangat dan dukungan selama perkuliahan dan penyusunan skripsi ini.
11. Teman-teman terdekat penulis sejak SMP, **Bella Cahya Tissa Utomo, Safirah Amalina Putri Idwar, Fasya Miranda N. K, Khalissa Sekar Amanda S., Ulayya Puspita Salsabila, Fathimah Azzahra Hanuun**, dan

Raihan Kiara Murti yang memberikan semangat dan dukungan selama perkuliahan.

12. Kepada seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuan selama penyusunan skripsi ini.

ABSTRAK

Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* (Studi *In vitro*)

Latar Belakang: Perawatan saluran akar bertujuan untuk menghilangkan semua patogen pada tubulus dentinalis dan sistem saluran akar yang dapat diperoleh dari pembersihan saluran akar. Dalam perawatan saluran akar, dapat terjadi kegagalan. Pada kondisi perawatan saluran akar berulang, banyak ditemukan bakteri *Enterococcus faecalis*, yang bertanggung jawab terhadap 80-90% infeksi sekunder saluran akar. *Enterococcus faecalis* adalah mikroorganisme normal dalam saluran akar yang tergolong pada bakteri Gram positif fakultatif anaerob dan bersifat oportunistik. Dalam meminimalisir kemungkinan kegagalan perawatan saluran akar, dapat dilakukan pembersihan *smear layer* menggunakan larutan irigasi dengan toksisitas minimal, sehingga diperlukan bahan irigasi yang tepat pada pembersihan saluran akar. Bahan irigasi yang efektif terhadap *Enterococcus faecalis* salah satunya yaitu *chlorhexidine gluconate* (CHX) yang merupakan bahan irigasi antimikroba yang dapat digunakan pada prosedur perawatan saluran akar karena efektif terhadap residual pada dinding dentin, namun juga memiliki beberapa kelemahan, yaitu tidak dapat melarutkan sisa jaringan pulpa dan *smear layer* sehingga CHX tidak dianjurkan sebagai bahan irigasi tunggal dalam kasus endodontik. Berdasarkan beberapa keterbatasan tersebut, maka diperlukan bahan alternatif yang berasal dari alam dengan kemampuan antibakteri lebih baik dan efek samping minimal. Salah satu bahan yang telah banyak diteliti yaitu jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Agar kandungan flavonoid dalam kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat memberikan efek yang lebih baik, maka diperlukan teknologi nano yang dapat memodifikasi ukuran kulit jeruk nipis.

Tujuan: Mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*. **Metode:** Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vitro* dengan desain *post-test with control group design* menggunakan metode dilusi. Sampel penelitian terdiri atas nanopartikel kulit jeruk nipis, CHX 2%, dan aquades dengan masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan. Kemampuan antibakteri didasarkan pada zona inhibisi yang terbentuk disekitar *silinder stainless steel* pada media MHA. Teknik pengolahan dan analisis data dilakukan dengan uji *Shapiro Wilk* dan *One-Way Anova*. **Hasil:** Berdasarkan uji daya hambat, diameter pada zona inhibisi nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% seluruhnya menunjukkan kurang dari 5 mm. **Kesimpulan:** Nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% memiliki daya hambat yang lemah terhadap *Enterococcus faecalis*.

Kata Kunci: Nanopartikel, kulit jeruk nipis, aktivitas antibakteri, *Enterococcus faecalis*

ABSTRACT

Antibacterial Activity of Lime Peel (Citrus aurantifolia) Nanoparticles Extract Against of Enterococcus faecalis (In vitro study)

Background: Root canal treatment aims to remove all pathogens in the dentinal tubules and root canal system that can be obtained from root canal cleaning. In root canal treatment, failure may occur. In repeated root canal treatment conditions, *Enterococcus faecalis* bacteria are commonly found, which are responsible for 80-90% of secondary root canal infections. *Enterococcus faecalis* is a normal microorganism in the root canal that belongs to Gram-positive facultative anaerobic bacteria and is opportunistic. In order to minimize the possibility of root canal treatment failure, smear layer cleaning can be done using irrigation solutions with minimal toxicity, so the right irrigation material is needed in root canal cleaning. One of the effective irrigation materials against *Enterococcus faecalis* is chlorhexidine gluconate (CHX) which is an antimicrobial irrigation material that can be used in root canal treatment procedures because it is effective against residuals in the dentin wall, but it also has several disadvantages, namely it cannot dissolve residual pulp tissue and smear layers so CHX is not recommended as a single irrigation material in endodontic cases. Based on these limitations, alternative materials of natural origin with better antibacterial ability and minimal side effects are needed. One of the materials that has been widely studied is lime (*Citrus aurantifolia*). In order for the flavonoid content in lime peel (*Citrus aurantifolia*) to have a better effect, nano technology is needed that can modify the size of lime peel. **Objective:** To determine the antibacterial activity of lime peel extract (*Citrus aurantifolia*) nanoparticles against *Enterococcus faecalis* in vitro. **Method:** This type of research is an in vitro laboratory experiment with a post-test with control group design using the dilution method. The research samples consisted of lime peel nanoparticles, CHX 2%, and distilled water with 3 repetitions each. Antibacterial ability is based on the inhibition zone formed around the stainless steel cylinder on MHA media. Data processing and analysis techniques were performed with Shapiro Wilk and One-Way Anova tests. **Results:** Based on the inhibition test, the diameter of the inhibition zone of lime peel extract nanoparticles at concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% all showed less than 5 mm. **Conclusion:** Lime peel extract (*Citrus aurantifolia*) nanoparticles at concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% have weak inhibition against *Enterococcus faecalis*.

Keywords: Nanoparticles, lime peel, antibacterial activity, *Enterococcus faecalis*

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
SURAT PERNYATAAN	iii
PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING SKRIPSI	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat penelitian.....	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Irigasi Saluran Akar.....	5

2.2	<i>Chlorhexidine gluconate</i> (CHX)	5
2.3	Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	6
2.3.1	Taksonomi Jeruk Nipis	7
2.3.2	Morfologi Jeruk Nipis	7
2.3.3	Kandungan Kimia Kulit Jeruk Nipis	8
2.3.4	Khasiat dan Manfaat Kulit Jeruk Nipis	9
2.4	<i>Enterococcus faecalis</i> (<i>E. faecalis</i>)	10
2.4.1	Klasifikasi <i>Enterococcus faecalis</i>	10
2.4.2	Sifat dan Morfologi <i>Enterococcus faecalis</i>	11
2.4.3	Faktor virulensi	12
2.5	Teknologi Nanopartikel	13
BAB III		14
KERANGKA PENELITIAN DAN HIPOTESIS		14
3.1	Kerangka Teori	14
3.2	Kerangka Konsep	15
3.3	Hipotesis Penelitian	16
BAB IV		17
METODOLOGI PENELITIAN		17
4.1	Jenis Penelitian	17
4.2	Desain Penelitian	17
4.3	Lokasi Penelitian	17
4.4	Waktu Penelitian	17

4.5	Variabel Penelitian	17
4.6	Identifikasi Sampel Penelitian.....	18
4.7	Definisi Operasional Variabel.....	19
4.8	Alat dan Bahan Penelitian	19
4.9	Prosedur Penelitian.....	20
4.10	Alur Penelitian.....	23
BAB V		24
HASIL PENELITIAN.....		24
5.1	Analisis Uji Daya Hambat.....	24
5.2	Analisis Uji <i>One-Way Anova</i> dan <i>Shapiro Wilk</i>	26
5.3	Analisis uji LSD	27
BAB VI.....		30
PEMBAHASAN.....		30
BAB VII.....		34
PENUTUP.....		34
7.1	Kesimpulan.....	34
7.2	Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....		35
DAFTAR LAMPIRAN.....		41
DAFTAR GAMBAR		
Gambar 2.1	Kulit jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	7

Gambar 2.2 Struktur kimia flavonoid.....	9
Gambar 2.3 (a) Koloni <i>E. faecalis</i> dengan SEM; (b) Koloni <i>E. faecalis</i> dengan SEM membentuk dentin pada saluran akar.....	11
Gambar 2. 4 Sebuah model penyakit saluran akar mengenai faktor-faktor virulensi <i>E. faecalis</i>	12
Gambar 3.1 Bagan kerangka teori.....	14
Gambar 3.2 Bagan kerangka konsep.....	15
Gambar 4.1 Bagan alur penelitian.....	23
Gambar 5.1 Hasil uji daya hambat bakteri <i>Enterococcus faecalis</i>	24

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil pengukuran nilai rata-rata dan diameter (mm) zona inhibisi terhadap bakteri <i>Enterococcus faecalis</i>	25
Tabel 5.2 Hasil analisis uji <i>One-Way Anova</i> dan <i>Shapiro Wilk</i>	26
Tabel 5.3 Hasil analisis uji LSD.....	27

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perawatan saluran akar bertujuan untuk menghilangkan semua patogen pada tubulus dentinalis dan sistem saluran akar yang dapat diperoleh dari pembersihan saluran akar.¹ Tahapan penting dalam prosedur perawatan saluran akar yaitu preparasi saluran akar, dilanjutkan dengan sterilisasi, lalu obturasi.^{2,3} Dalam perawatan saluran akar, dapat terjadi suatu kegagalan. Pada kondisi perawatan saluran akar berulang, banyak ditemukan bakteri *Enterococcus faecalis*, yang bertanggung jawab terhadap 80-90% infeksi sekunder saluran akar.^{3,4,5,6,7}

Enterococcus faecalis adalah mikroorganisme normal dalam saluran akar yang tergolong pada bakteri Gram positif fakultatif anaerob dan bersifat oportunistik.⁷ *Enterococcus faecalis* dapat menyesuaikan diri pada kondisi sulit seperti hiperosmolariti, panas, asam, dan basa.^{3,7} Bakteri ini juga dapat bertahan tanpa bantuan dari bakteri lain dan membuat perubahan patologis melalui produksi racun atau proses inflamasi secara tidak langsung.^{3,4,5} *Enterococcus faecalis* dapat melekat pada dinding saluran akar dan berakumulasi membentuk komunitas biofilm, yang menjadi mekanisme bagi resistensi dan persistensi bakteri, sehingga dapat terbebas dari efek instrumentasi dan bahan irigan yang digunakan selama prosedur kemomekanis.⁸

Pada tahap preparasi saluran akar, larutan irigasi berfungsi sebagai cairan untuk membersihkan sisa jaringan nekrotik. Dalam meminimalisir kemungkinan kegagalan perawatan saluran akar, dapat dilakukan pembersihan *smear layer* menggunakan larutan irigasi dengan toksisitas minimal, sehingga

diperlukan bahan irigasi yang tepat pada pembersihan saluran akar.² Bahan irigasi yang efektif terhadap *Enterococcus faecalis* salah satunya yaitu *chlorhexidine gluconate* (CHX).⁹

Chlorhexidine gluconate (CHX) merupakan bahan irigasi antimikroba yang dapat digunakan pada prosedur perawatan saluran akar karena efektif terhadap residual pada dinding dentin. *Chlorhexidine gluconate* juga merupakan antiseptik dengan aktivitas antibakteri yang baik dan tingkat toksisitas yang rendah.^{10,11} Shahani dan Reddy meneliti efektivitas antimikroba *chlorhexidine gluconate* 2%, povidone iodine 1%, H₂O₂ 2,5% dan NaOCl 2%. Terbukti bahwa *chlorhexidine gluconate* 2% memiliki spektrum antimikroba luas dan paling substantif dalam melawan bakteri, khususnya bakteri Gram positif.¹² Penelitian Paudel *et al* menyatakan bahwa CHX 2% lebih efektif dalam mengeliminasi *Enterococcus faecalis* daripada larutan NaOCl 5,2%.¹³ Namun *chlorhexidine gluconate* juga memiliki beberapa kelemahan, yaitu tidak dapat melarutkan sisa jaringan pulpa dan *smear layer* sehingga CHX tidak dianjurkan sebagai bahan irigasi tunggal dalam kasus endodontik.^{14,15} Berdasarkan beberapa keterbatasan larutan irigasi *chlorhexidine gluconate* (CHX) terhadap *Enterococcus faecalis*, maka diperlukan bahan alternatif yang berasal dari alam dengan kemampuan antibakteri lebih baik dan efek samping minimal.¹⁶ Salah satu bahan yang telah banyak diteliti yaitu jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).¹⁷

Penelitian Aldi, menyatakan bahwa ekstrak metanol kulit jeruk nipis konsentrasi 100% menunjukkan efektivitas antibakteri terbaik terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.¹⁸ Penelitian Ulya *et al* menyatakan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 100% menghasilkan daya hambat paling efektif terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.¹⁷ Selain

buah, pada kulit jeruk nipis mengandung senyawa antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, pektin, tanin, kumarin dan minyak atsiri.¹⁹ Kulit jeruk nipis juga berperan sebagai antioksidan IC₅₀ 54,458 µg/ml yang mengandung pektin dan flavonoid dengan konsentrasi paling tinggi. Flavonoid merupakan salah satu zat metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan dan juga antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak sel bakteri.^{17,20} Pada penelitian Adindaputri *et al*, ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 10% mampu menghambat aktivitas enzim glukosiltransferase (GTF) *Streptococcus mutans* karena kandungan flavonoid.²¹ Agar kandungan flavonoid dalam kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat memberikan efek yang lebih baik, maka diperlukan teknologi nano yang dapat memodifikasi ukuran kulit jeruk nipis.²²

Teknologi nano mengacu pada manipulasi materi pada skala atom, molekul dan supramolekul yang berukuran kurang dari 100 nm. Salah satunya yaitu nanopartikel.^{23,24} Nanopartikel adalah partikel yang memiliki dimensi ukuran 1-100 nm dengan tujuan untuk mengatasi kelarutan zat aktif yang sulit larut, memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, dan memodifikasi sistem penghantaran obat agar langsung menuju ke daerah yang lebih spesifik.²⁰

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka penulis tertarik untuk meneliti mengenai aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai bahan antibakteri alami terhadap *Enterococcus faecalis*.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, maka permasalahan yang timbul adalah: bagaimana aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.

2. Tujuan Khusus

Mengamati perbandingan aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan larutan *chlorhexidine gluconate* (CHX) 2% terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Enterococcus faecalis*.
2. Sebagai tambahan wawasan bagi mahasiswa dan dokter gigi mengenai khasiat nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Enterococcus faecalis* sebagai bahan antibakteri alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Irigasi Saluran Akar

Perawatan saluran akar adalah tindakan perawatan pada saluran akar gigi yang telah terinfeksi, dan bertujuan untuk membunuh bakteri dan substratnya dari sistem saluran akar.²⁵ Salah satu tahapan dalam perawatan saluran akar yang harus diperhatikan yaitu irigasi saluran akar. Irigasi saluran akar merupakan tahapan penting dalam mencapai keberhasilan perawatan saluran akar yang terdiri dari tahapan mekanis, kimia dan biologi.²⁶ Bahan irigasi saluran akar bekerja sebagai pelumas untuk menghilangkan *smear layer* dan berfungsi sebagai antibakteri yang akan mengeliminasi bakteri pada dinding saluran akar.²⁷

Bahan irigasi dapat dikatakan ideal jika memiliki efek antibakteri spektrum luas, tidak toksik, dan dapat melarutkan sisa jaringan pulpa nekrotik.²⁸ Saat ini terdapat berbagai macam bahan irigasi saluran akar yang telah banyak digunakan, salah satunya yaitu *chlorhexidine digluconate* (CHX).²⁷

2.2 Chlorhexidine gluconate (CHX)

Chlorhexidine gluconate (CHX) merupakan agen antibakteri yang berperan sebagai desinfektan topikal dan agen antimikroba dalam bidang kedokteran. Larutan ini merupakan agen antibakteri yang baik karena efektivitasnya dalam membunuh bakteri dan peluang toleransinya yang rendah. Larutan ini terdapat dalam berbagai bentuk, seperti obat kumur, sabun, gel, semprotan, pasta gigi dan varnis.²⁹

Cherian *et al.* menyatakan bahwa CHX mempunyai aktivitas antimikroba yang kuat dan substantif namun toksisitas lebih rendah terhadap *Enterococcus faecalis* dibandingkan dengan NaOCl 5,25%.¹⁵ *Chlorhexidine gluconate* dengan konsentrasi 2% merupakan pilihan utama bagi sebagian besar dokter gigi sebagai bahan desinfeksi karena mempunyai efek antimikrobia spektrum luas, dapat bekerja menghambat pertumbuhan serta membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif. Keuntungan lainnya dari *chlorhexidine gluconate* yakni memiliki efek antibakteri selama 72 jam setelah diaplikasikan.³⁰

Pada penelitian Jeansonne and White menyatakan bahwa CHX 2% lebih efektif dalam mengurangi jumlah kultur positif dibandingkan NaOCl 5,25%, meskipun secara statistik tidak ada perbedaan signifikan.³¹ Namun, *Chlorhexidine gluconate* 2% kurang efektif terhadap biofilm *Enterococcus faecalis* dibandingkan NaOCl 3% dan 6%, dan mempunyai beberapa efek samping yang jarang terjadi, seperti gingivitis deskuamatif serta perubahan warna pada gigi dan lidah.^{32,33} Struktur molekul *Chlorhexidine gluconate* jika berkontak dengan larutan NaOCl kemungkinan dapat terurai menjadi produk sampingan yang reaktif, seperti *para-chloroaniline*.³²

2.3 Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Jeruk nipis adalah salah satu buah yang banyak disukai oleh masyarakat di Indonesia. Bernama latin *Citrus aurantifolia*, dan merupakan salah satu jenis tanaman yang banyak tumbuh dan dikembangkan di Indonesia. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat dimanfaatkan sebagai obat batuk, peluruh dahak, influenza, dan obat jerawat. Buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena harganya yang murah, mudah didapat,

alamiah, serta tidak memberikan efek samping, seperti yang tampak pada gambar 2.1.^{34,35}



Gambar 2.1 Kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Sumber: Pribadi FH. Jangan Dibuang, Kulit Jeruk Nipis Berpotensi Meningkatkan Daya Tahan Tubuh, 2022.

2.3.1 Taksonomi Jeruk Nipis

Penelitian Enejoh *et al.*, (2015) tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut:³⁶

Kingdom : *Plantae*

Filum : *Magnoliophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Klas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Sapindales*

Famili : *Rutaceae*

Genus : *Citrus*

Spesies : *Citrus aurantifolia*

2.3.2 Morfologi Jeruk Nipis

Tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki sifat perdu. Tingginya sekitar 2 meter berwarna hijau, bercabang lebat dan tidak beraturan yang mempunyai duri pendek serta kaku. Buah dari jeruk nipis bentuknya bulat seperti telur dan mempunyai diameter sekitar 3-6 cm dan terkadang mempunyai

papila apikal. Saat buah jeruk nipis telah matang, kulit berubah dari warna hijau ke kuning.³⁷ Struktur kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) secara umum dibagi menjadi dua bagian utama yaitu *flavedo* dan *albedo*. *Flavedo* merupakan kulit bagian luar yang berbatasan dengan epidermis, sedangkan *albedo* merupakan kulit bagian dalam yang berbentuk seperti jaringan busa. Bagian luar terdapat epidermis yang melindungi buah jeruk nipis yang terdiri dari lapisan lilin, matriks kutin, dinding sel primer dan sel epidermal.³⁸

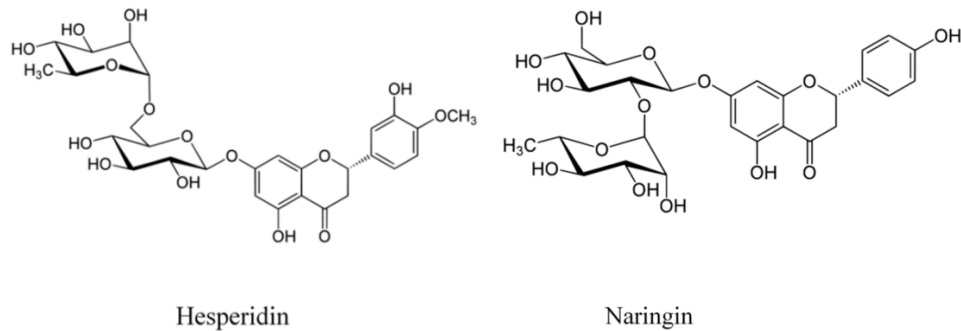
2.3.3 Kandungan Kimia Kulit Jeruk Nipis

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung senyawa kimia yang bermanfaat, yakni asam sitrat, asam amino, minyak atsiri, damar, glikosida, asam sitrun, lemak, kalsium, fosfor, besi, belerang vitamin B1 dan C. Buah jeruk nipis juga mengandung 100gram vitamin C sebesar 27 miligram, kalsium 40 miligram, fosfor 22 miligram, hidrat arang 12,4gram, vitamin B1 0,04 miligram, zat besi 0,6 miligram, lemak 0,1gram, kalori 37gram, protein 0,8gram dan air 86gram.³⁴

Minyak atsiri yang terdapat pada jeruk nipis mengandung senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan dan antikanker. Selain sebagai antimikroba, senyawa flavonoid dapat menghambat pembelahan sel dibanyak garis sel kanker, dan berperan sangat penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri.³⁷

Kulit jeruk nipis juga mengandung metabolit sekunder yaitu golongan alkaloid, polifenol dan flavonoid yang berperan sebagai antibakteri.²⁰ Flavonoid adalah golongan terbesar dari senyawa polifenol yang dapat berperan sebagai antibakteri dan juga antioksidan dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak sel bakteri. Golongan flavonoid dapat terbagi menjadi enam kelompok yang berbeda menurut strukturnya, yaitu *flavon*, *flavanon*, *flavonol*,

isoflavan, *antosianidin*, dan *flavanol*. Struktur kimia dari *flavonoid* yaitu *naringin*, *hesperidin*, *naringenin*, *hesperitin*, *narirutin*, *nobiletin*, dan *tangeretin* seperti yang tampak pada gambar 2.2.^{17,39}



Gambar 2.2 Struktur kimia flavonoid. Sumber: Putnik *et al.* Innovative green and novel strategies for the extraction of bioactive added value compounds from citrus wastes-A review, 2017.

Selain itu, pada kulit jeruk nipis juga terdapat kandungan minyak terbang limonen yang berperan sebagai antimikroba dengan cara menghancurkan membran sel bakteri.⁴⁰

2.3.4 Khasiat dan Manfaat Kulit Jeruk Nipis

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dimanfaatkan pada pengobatan tradisional untuk sejumlah penyakit seperti flu dan penyakit perut, serta dapat dimanfaatkan sebagai antiseptik, pengusir nyamuk, antijamur, antibakteri dan antivirus. Jeruk nipis juga menunjukkan aktivitas bioaktif untuk flu, demam, sinusitis, sakit tenggorokan, asma dan bronkitis.³⁷

Selain buahnya, kulit jeruk nipis juga memiliki beberapa manfaat yaitu baik untuk perawatan kulit, bahan pembuatan kosmetik perawatan tubuh, mampu menyeimbangkan kondisi kulit, dan mengurangi kelebihan minyak untuk mengatasi masalah jerawat.⁴¹ Kandungan flavonoid yang tinggi pada kulit jeruk nipis dapat berfungsi sebagai agen protektif terhadap kanker, ginjal, kardiovaskular, peradangan, dan alergi.⁴² Kulit jeruk nipis juga mengandung

minyak atsiri yang mudah menguap serta memiliki aroma yang segar dan banyak dimanfaatkan sebagai campuran minyak wangi dan obat-obatan.⁴³

2.4 *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) merupakan bakteri yang sering dijumpai pada perawatan saluran akar yang mengalami kegagalan dan dapat menyebabkan infeksi saluran akar yang persistensi.⁴⁴ *Enterococcus faecalis* dapat tumbuh dengan atau tidak adanya oksigen dan merupakan flora normal pada manusia, biasanya ditemukan dalam rongga mulut, saluran gastrointestinal dan saluran vagina. Bakteri ini dapat menginfeksi saluran urinaria, pembuluh darah, endokardium, lambung, saluran empedu, luka bakar, dan lainnya.⁴⁵

Enterococcus faecalis merupakan bakteri paling resisten yang banyak ditemui pada infeksi saluran akar. Bakteri ini bertanggung jawab pada 80-90% infeksi saluran akar, dan biasanya merupakan satu-satunya spesies *Enterococcus* yang diisolasi dari saluran akar pasca perawatan. Selain itu juga dapat beradaptasi pada lingkungan yang ekstrim serta kondisi ketika suplai nutrisi sangat sedikit.^{46,47}

2.4.1 Klasifikasi *Enterococcus faecalis*

Klasifikasi bakteri *Enterococcus faecalis* adalah sebagai berikut:⁴⁸

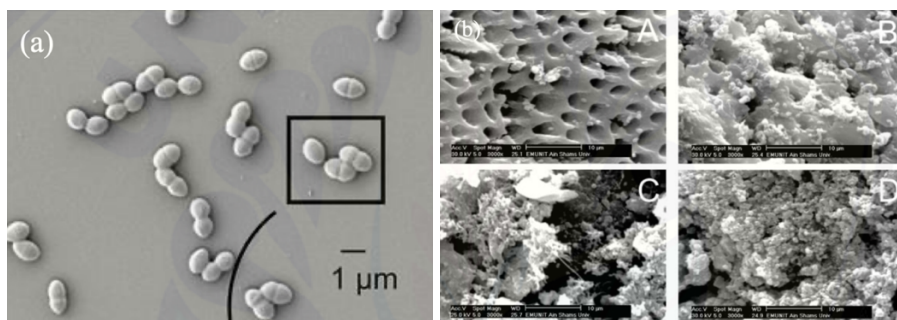
Domain : *Bacteria*
Kingdom : *Eubacteria*
Filum : *Firmicutees*
Klas : *Bacilli*
Ordo : *Lactobacillales*
Famili : *Enterococcaceae*
Genus : *Enterococcus*

Spesies : *Enterococcus faecalis*

2.4.2 Sifat dan Morfologi *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis mampu beradaptasi pada kondisi saluran akar yang telah dilakukan perawatan, dan mempunyai pertahanan yang kuat pada infeksi saluran akar, meskipun nutrisi yang ada sangat terbatas. Bakteri ini dapat hidup dalam lingkungan yang memiliki pH 11,5.⁴⁴

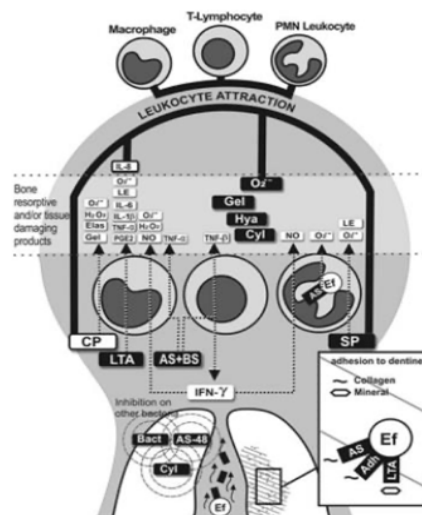
Enterococcus faecalis merupakan bakteri Gram positif, bentuknya coccus dan bakteri fakultatif anaerob.⁴⁴ Sel *enterococci* bentuknya ovoid dan rupanya dapat terlihat sendiri, berpasangan, atau rantai pendek. *Enterococcus faecalis* dapat membentuk biofilm pada intrakanal, periapikal, dan biomaterial.⁴⁹ Struktur dinding sel *E. faecalis* terdiri dari peptidoglikan, polimer anion (*teichoic acid*), dan protein. Hampir 90% berat dinding sel disusun oleh peptidoglikan dan polimer anion serta sisanya disusun oleh protein, seperti yang tampak pada gambar 2.3.^{50,51,52}



Gambar 2.3 (a) Koloni *E. faecalis* dengan SEM; (b) Koloni *E. faecalis* dengan SEM membentuk biofilm pada dentin saluran akar. Sumber: Biaggini et al. Substance P enhances lactic acid and tyramine production in *Enterococcus faecalis* V583 and promotes its cytotoxic effect on intestinal Caco-2/TC7 cells, 2017.; Saber, El-Hady. Development of an intracanal mature *Enterococcus faecalis* biofilm and its susceptibility to some antimicrobial intracanal medications; an in vitro study, 2012.

2.4.3 Faktor virulensi

Faktor virulensi pada *Enterococcus faecalis* diantaranya komponen *aggregation substance* (AS), *surface adhesins*, *sex pheromones*, *lipoteichoic acid* (LTA), *extracellular superoxide production* (ESP), *gelatinase lytic enzyme*, *hyaluronidase*, dan *cytolysin toxin*. Faktor virulensi ini memiliki peran penting untuk patogenesis, sehingga dapat melekat pada sel induk dan matrik ekstraselular, invasi ke jaringan menjadi lebih mudah, memiliki efek imunomodulasi, serta menyebabkan kerusakan melalui media toksinnya. Sehingga menyebabkan bakteri *E. faecalis* mampu membentuk kolonisasi pada *host*, mampu bersaing dengan bakteri lain, resisten terhadap mekanisme pertahanan *host*, memberikan perubahan patogen secara langsung melewati produksi toksin maupun tidak langsung melewati rangsangan terhadap mediator inflamasi, seperti tampak pada gambar 2.4.^{47,53}



Gambar 2. 4 Sebuah model penyakit saluran akar mengenai faktor-faktor virulensi *E. faecalis*. Sumber: Kayaoglu dan Ørstavik. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease, 2004.

2.5 Teknologi Nanopartikel

Nanopartikel adalah material yang ukurannya berkisar dari 1 - 100 nm, dan karena ukuran partikelnya yang kecil menyebabkan nanopartikel mempunyai beberapa kelebihan, salah satunya yaitu rasio luas permukaan terhadap volume partikel dan aktivitas atom pada permukaan partikelnya tinggi, akibatnya sifat partikel dan interaksi dengan materi lainnya dapat berubah. Sintesis nanopartikel pada saat ini perlu ditingkatkan karena nanopartikel yang merupakan bagian dari nanoteknologi ini dapat diterapkan pada berbagai bidang seperti kesehatan, lingkungan, pangan, kosmetik. Dengan diterapkannya nanopartikel tersebut maka akan mempermudah dan menguntungkan suatu proses. Terdapat dua cara/metode sintesis nanopartikel secara umum, yaitu:⁵⁴

1. Metode *top-down*

Hasil dari sintesis nanopartikel dengan metode *top-down* yaitu nanopartikel dengan ukuran 10 - 100 nanometer. Cara memperoleh ukuran ini yaitu dengan memperkecil ukuran partikel melalui pemberian gaya luar terhadap suatu material yang ukurannya besar sampai berubah menjadi ukuran nano. Hanya bahan dengan fasa padat yang dapat digunakan pada metode ini.⁵⁴

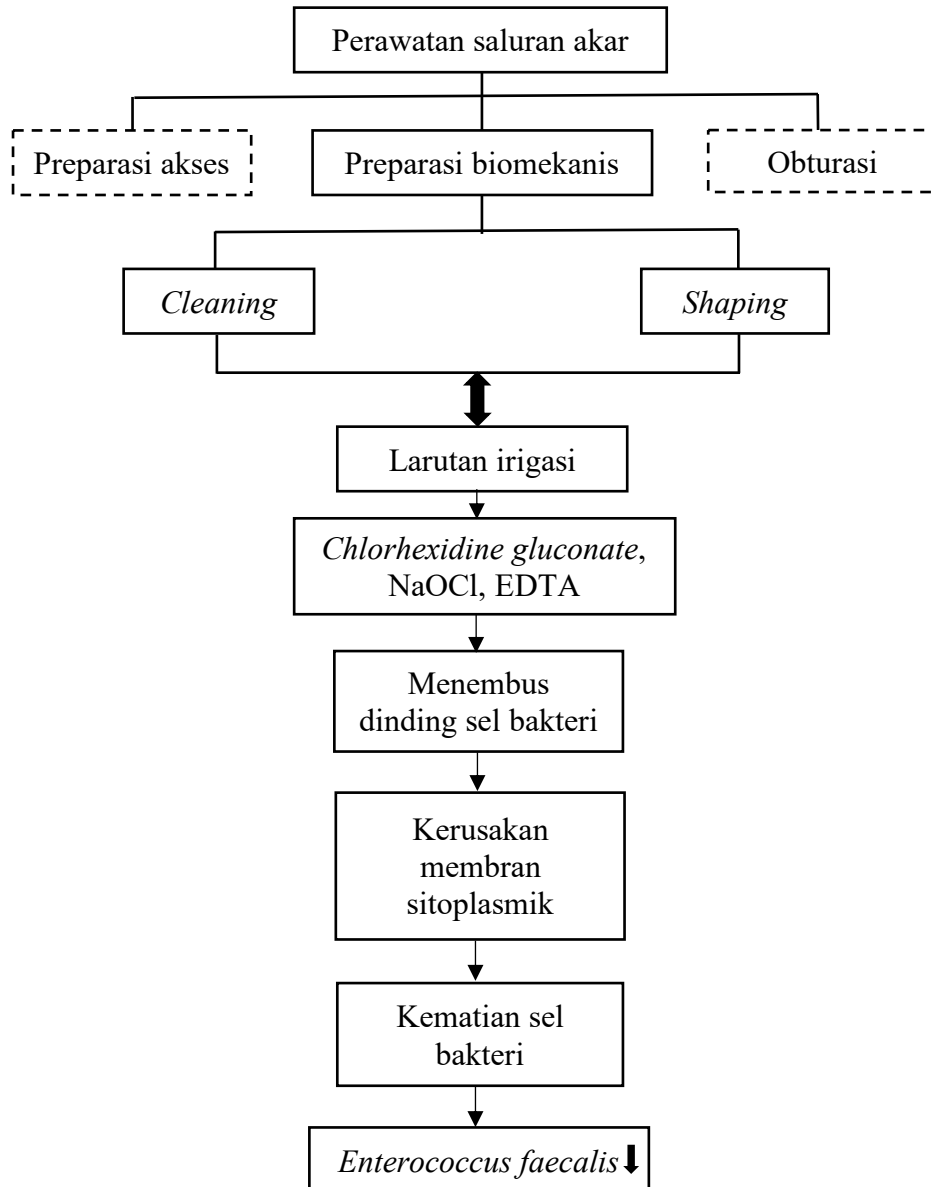
2. Metode *bottom-up*

Pada metode *bottom-up*, hasil struktur nano yang komposisi kimianya lebih homogen dilakukan dengan pembentukan struktur nanopartikel oleh atom suatu molekul. Pada metode ini terdapat fasa gas dan liquid. Metode reduksi kimia yang menjadi agen pereduksi, pendispersi, waktu, dan suhu reaksi dapat disesuaikan untuk mendapatkan bentuk dan ukuran nanopartikel yang diinginkan.⁵⁴

BAB III

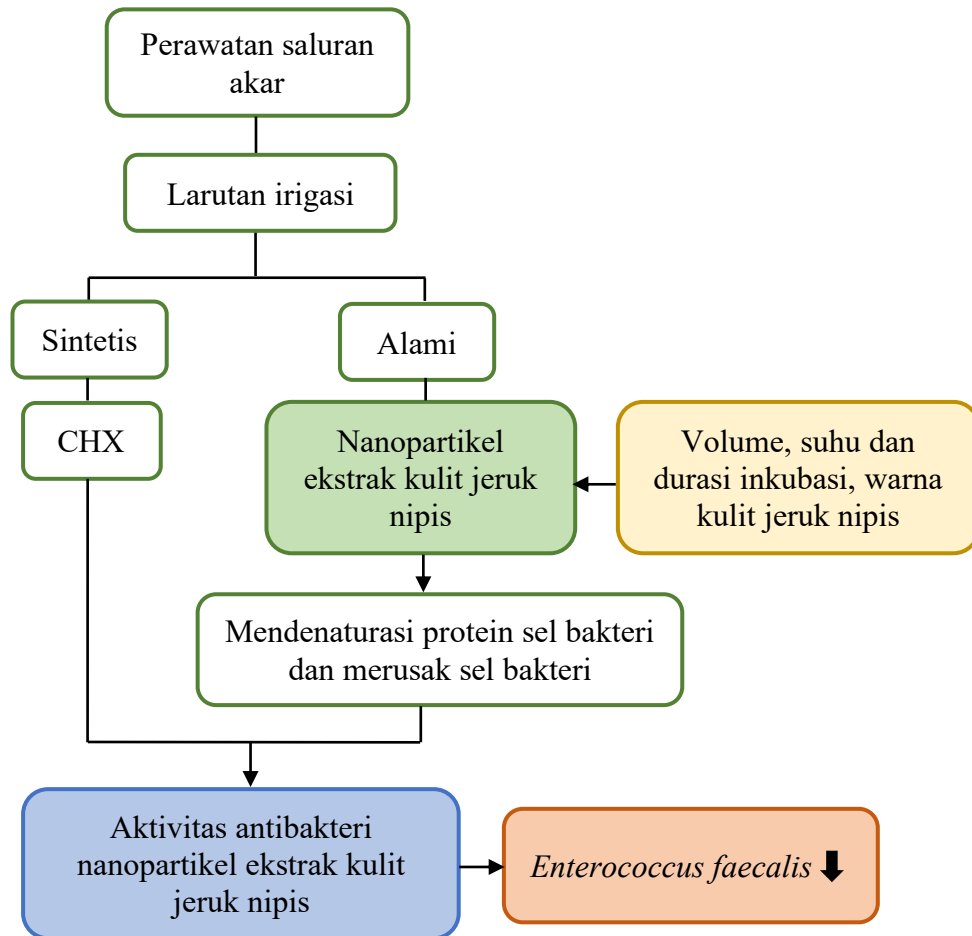
KERANGKA PENELITIAN DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Bagan kerangka teori

3.2 Kerangka Konsep



Keterangan:



Variabel independen



Variabel dependen, Variabel terikat



Variabel kendali



Variabel antara

Gambar 3.2 Bagan kerangka konsep

3.3 Hipotesis Penelitian

Aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* lebih baik daripada larutan *Chlorhexidine gluconate* (CHX) 2%.