

**PEMANFAATAN LIMBAH KULIT JERUK NIPIS(*Citrus  
Aurantiifolia swingle*) SEBAGAI BAHAN AKTIF PASTA GIGI  
PENCEGAH KARIES DAN INFLAMASI**

**SKRIPSI**

*Diajukan untuk melengkapi salah satu syarat  
untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi*



**AAFIAH IFADA**

**J011171017**

**BAGIAN ILMU BAHAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2020**

**PEMANFAATAN LIMBAH KULIT JERUK NIPIS (*Citrus  
Aurantiifolia swingle*) SEBAGAI BAHAN AKTIF PASTA GIGI  
PENCEGAH KARIES DAN INFLAMASI**

**SKRIPSI**

*Diajukan untuk melengkapi salah satu syarat  
untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi*

**Oleh:**

**AAFIAH IFADA**

**J011171017**

**BAGIAN ILMU BAHAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2020**

**LEMBAR PENGESAHAN**

Judul : Pemanfaatan Limbah Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*)  
sebagai Bahan Aktif Pasta Gigi Pencegah Karies dan Inflamasi.

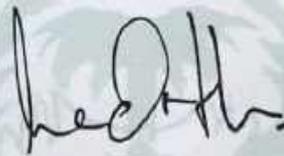
Oleh : Aafiah Ifada/ J011171017

Telah Diperiksa dan Disahkan

Pada Tanggal 18 Juni 2020

Oleh:

**Pembimbing**



**Dr. drg. Lenny Indriani Hatta, M.Kes**

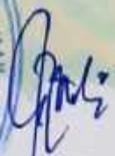
**NIP. 19760513 200501 2 002**

Mengetahui

**Dekan Fakultas Kedokteran Gigi**



**Universitas Hasanuddin**



**drg. Muhammad Ruslin, M.Kes., Ph.D., Sp.BM(K)**

**NIP.19730702 200112 1 001**

## SURAT PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan mahasiswa yang tercantum dibawah ini

Nama : Aafiah Ifada

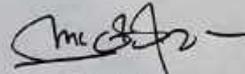
NIM : J011171017

Judul Skripsi : Pemanfaatan Limbah Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia Swingle*) sebagai Bahan Aktif Pasta Gigi Pencegah Karies dan Inflamasi.

Menyatakan bahwa Judul Skripsi yang diajukan adalah judul yang baru dan tidak terdapat di Perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Unhas.

Makassar, 18 Juni 2020

Koordinator Perpustakaan FKG UH



Amiruddin, S.Sos

NIP 19661121 199201 1 033

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT atas limpahan rahmat, nikmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pemanfaatan Limbah Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) sebagai Bahan Aktif Pasta Gigi Pencegah Karies dan Inflamasi” sebagai tugas akhir dalam menyelesaikan studi S1 pendidikan dokter gigi. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi pembaca.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penelitian dan skripsi ini. Untuk itu, iringando'a dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan dengan penuh hormat dan kerendahan hati kepada:

1. **Dr.Drg.Lenny Indriani Hatta, M.Kes** selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, memberi masukan dan saran dari awal penyusunan sampai akhir penyusunan skripsi sehingga dapat selesai tepat waktu. Terima kasih atas segala arahan dan bantuannya, semoga Allah SWT memberi kesehatan dan senantiasa melimpahkan rahmat-Nya kepada dokter beserta keluarga.
2. Ayahanda **Ir. Amiruddin Almi** dan ibunda **Sri Preharini, SE** terima kasih telah memberikan kasih sayang berupa dukungan moril dan materil serta iringan do'a dan restunya kepada penulis dalam menjalani perkuliahan hingga saat ini. Semoga Allah SWT memberikan kesehatan beserta limpahan rahmat-Nya.
3. **Alm.Prehatno Budi Susilo** terima kasih telah menjaga, merawat, serta senantiasa memberi dukungan dan motivasi sehingga penulis dapat bertahan melalui semua rintangan dalam dunia perkuliahan. Semoga Allah SWT menempatkan Ombud disurga terbaik-Nya. Aamiin
4. Adikku tercinta, **Azzah Adhwa Nabila** terima kasih atas kasih sayang berupa dukungan moril yang diberikan kepada penulis.
5. **drg. Nurhaedah Ghalib, Sp.KGA** selaku penasehat akademik yang senantiasa memberi dukungan, motivasi, dan arahan kepada penulis, sehingga jenjang perkuliahan penulis dapat selesai dengan baik.
6. **drg.Muhammad Ruslin, M.Kes., Ph.D., Sp.BM(K)** selaku Dekan yang senantiasa memberi dukungan dan motivasi kepada seluruh mahasiswa FKG UNHAS dalam menyelesaikan skripsi tepat waktu.
7. **Prof. Dr. Drg. Eddy Machmud, Sp.Pros(K)** selaku Wakil Dekan I yang telah memudahkan jalan penulis dalam penyusunan skripsi serta senantiasa memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis.
8. **Biro Perencanaan dan Kerjasama Luar Negeri – Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia** selaku pemberi dukungan moril dan materil, terima kasih telah membentuk *Beasiswa Unggulan Masyarakat Berprestasi* yang membiayai kuliah penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan tanpa hambatan biaya.
9. **Prof. Dr. drg. Muhammad Harun Achmad, Sp.KGA, M.Kes** selaku dosen pembimbing penulis pada Program Kreativitas Mahasiswa, yang

senantiasa memberi dukungan, nasehat dan menyumbangkan ide dan gagasan kreatif kepada kelompok penelitian penulis.

10. **Michelle Liendier dan Nur Rahma** terima kasih atas kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian ini. Semoga kerja keras kita semua bernilai ibadah, aamiin.
11. **Sahabat-sahabatku : Nurmila, Aprilia, Huda, Nanda, Rani, Nurfadillah, Maulfi, Sahara, Ade, Dila, Ainul, Hemayu, Asny, Hilda, Ken, Nisa, Windi, Uli, Ica.** terima kasih sudah membantu dalam penelitian, terima kasih atas segala bantuan dan dukungannya selama ini.
12. Teman-teman angkatanku **Obturasi 2017**, terima kasih atas kebersamaan dan rasa persaudaraannya selama ini.
13. Seluruh dosen yang telah membagi ilmu selama jenjang perkuliahan, serta para staff karyawan Fakultas Kedokteran Gigi, baik staf administrasi, akademik, dan perpustakaan yang juga berperan penting dalam kelancaran perkuliahan penulis.
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu terima kasih yang telah membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Dalam Penulisan skripsi ini penulis merasa masih banyak kekurangan kekurangan baik pada teknis penulisan maupun materi, mengingatkan kemampuan yang dimiliki penulis. Untuk itu kritik dan saran dari semua pihak sangat penulis harapkan demi penyempurnaan pembuatan skripsi ini. Tak ada kesempurnaan didunia ini begitu pun dengan skripsi ini, tetapi penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat. *Aamiin ya rabbal 'alamin.*

Makassar, 2 Maret 2020



Aafiah Ifada

**PEMANFAATAN LIMBAH KULIT JERUK NIPIS (*Citrus Aurantiifolia swingle*) SEBAGAI BAHAN AKTIF PASTA GIGI PENCEGAH KARIES DAN INFLAMASI**

Aafiah Ifada

Mahasiswi Fakultas Kedokteran Gigi Unhas

**ABSTRAK**

**Latar Belakang:** Pencegahan karies gigi dapat dilakukan dengan pengaplikasian bahan aktif antiplak yang telah dipatenkan seperti *Chlorhexidine* (CHX), namun beberapa penelitian telah membuktikan efek samping yang merugikan diantaranya adalah penurunan daya pengecap, perubahan warna gigi, pembengkakan kelenjar saliva, menimbulkan reaksi alergi seperti kesulitan dalam bernapas hingga kanker mulut. Sementara itu, obat antiinflamasi yang biasa digunakan dapat menyebabkan tukak peptik, penurunan imunitas terhadap infeksi, osteoporosis, atrofi otot dan jaringan lemak, meningkatkan tekanan intra okular, serta bersifat diabetik, tukak lambung hingga pendarahan, gangguan ginjal, dan anemia.

**Tujuan Penelitian:** mendapatkan pasta gigi dengan formula optimum dari ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) sebagai bahan pencegah karies dan inflamasi pada rongga mulut.

**Metode penelitian:** *True Experimental* pada tiga kelompok kontrol yang berbeda untuk mengetahui aktivitas antibakteri, yaitu kontrol positif dengan menggunakan *Chlorhexidine* dan *Aloclair gel*, kontrol negatif dengan *aquades*, dan kontrol perlakuan dengan ekstrak konsentrasi 5%, 15% dan 25%.

**Hasil Penelitian:** Pada masing-masing kelompok kontrol terjadi perbedaan rerata derajat inflamasi setelah diamati selama 48 jam yang menandakan perbedaan efektivitas antiinflamasi tiap kelompok kontrol. Hasil yang diperoleh dengan menggunakan analisis statistik *one-way ANOVA* dengan tingkat signifikansi 95% menunjukkan  $p < 0.05$  yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok ekstrak jeruk nipis terhadap daya hambat *s.mutans* dan ukuran lesi ulkus.

**Kata Kunci** : *Citrus aurantiifolia* swingle, *Streptococcus mutans*, *Rattus Novergicus strain wistar*, pasta gigi, antikaries, antiinflamasi.

# UTILIZATION OF *Citrus Aurantiifolia Swingle* AS TOOTHPASTE ACTIVE INGREDIENTS TO PREVENT DENTAL CARIES AND INFLAMMATION

Aafiah Ifada

Student in Faculty of Dentistry Hasanuddin University

## ABSTRACT

**Background :** Prevention of dental caries can be done by applying active antiplaque ingredients that have been patented like *Chlorhexidine digluconate* (CHX), but several studies have proven adverse effects including; decreased taste, tooth discoloration, swelling of the salivary glands, causing allergic reactions such as difficulty in breathing to mouth cancer. Meanwhile, commonly used anti-inflammatory drugs can cause peptic ulcers, decrease immunity to infections, osteoporosis, muscle atrophy and fat tissue, increase intraocular pressure, ulcer to bleeding, kidney disorders, and anemia.

**Objective :** The purpose of this study was to obtain a toothpaste with an optimal formula from extracts of lime peel (*Citrus Aurantiifolia swingle*) as an active ingredient in anticaries and anti-inflammatory.

**Method :** True experimental on three different control groups, namely positive control using *Chlorhexidine* and *Alocclair gel*, negative control with *aquades*, and control control with concentrations of 5%, 15% and 25%.

**Result :** In each control group there was a difference in the average degree of inflammation after being seen for 48 hours, indicating the difference in antiinflammation of each control group. The results obtained by using one-way ANOVA statistical analysis with a significance level of 95% showed  $p < 0.05$ , which means the difference between the groups of lime extract on the inhibition of *s.mutans* and the size of ulcer lesions.

**Keyword :** *Citrus aurantiifolia swingle*, *Streptococcus mutans*, *Rattus Novergicus strain wistar*, toothpaste, anticaries, antiinflammation.

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>SURAT PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Karies Gigi .....	5
2.1.1 Definisi Karies Gigi. ....	5
2.1.2 Klasifikasi Karies Gigi.....	7
2.1.3 Patomekanisme Karies Gigi.....	9
2.2 Inflamasi .....	10
2.2.1 Definisi inflamasi.....	10
2.2.2 Patomekanisme inflamasi .....	11
2.2.3 Inflamasi pada Rongga Mulut.....	12
2.3 Pasta Gigi .....	13
2.3.1 Definisi dan Kegunaan Pasta Gigi .....	13
2.3.2 Komposisi Pasta Gigi.....	14
2.3.3 Klasifikasi Pasta Gigi.....	15
2.3.4 Parameter Pengujian Stabilitas pada Pasta Gigi .....	16
2.4 Jeruk Nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia Swingle</i> ) .....	17
2.4.1 Taksonomi Jeruk Nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia Swingle</i> ). ....	17

2.4.2 Morfologi Jeruk Nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia Swingle</i> ).....	17
2.4.3 Kandungan Jeruk nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ).....	18
2.4.4 Manfaat Kulit Jeruk Nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia swingle</i> ) sebagai Antibakteri. ....	19
<b>BAB III KERANGKA KONSEP .....</b>	<b>20</b>
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
4.1 Jenis Penelitian.....	22
4.2 Desain Penelitian .....	22
4.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....	22
4.4 Variabel Penelitian.....	22
4.5 Definisi Operasional Variabel.....	22
4.6 Sampel Penelitian.....	24
4.7 Kriteria Penelitian .....	24
4.8 Alat dan Bahan Penelitian.....	26
4.8.1. Alat Penelitian.....	26
4.8.2. Bahan Penelitian .....	26
4.9 Prosedur Penelitian .....	27
4.9.1 Persiapan Ekstrak Kulit Jeruk Nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia swingle</i> )....	27
4.9.2 Ekstraksi Kulit Jeruk Nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia swingle</i> ).....	28
4.9.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	28
4.9.4 Pengujian Aktivitas Antiinflamasi .....	28
4.9.5 Pembuatan Formula Pasta Gigi.....	29
4.9.5.1 Rancangan Formula Pasta Gigi .....	29
4.9.5.2 Pembuatan Mucilago Bahan Pengikat.....	30
4.9.5.3 Tahap Pencampuran .....	30
4.9.5.4 Evaluasi sediaan .....	30
4.10 Analisis Data.....	31
<b>BAB V HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>32</b>
5.1 Uji Aktivitas Antibakteri Zona inhibisi Ekstrak kulit jeruk nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia swingle</i> ) terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	32
5.2 Uji Aktivitas Antiinflamasi Pengukuran lesi dengan Ekstrak kulit jeruk ...	35
5.3 Evaluasi sediaan pasta gigi ekstrak kulit jeruk nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia</i> .	38

<b>BAB VI PEMBAHASAN .....</b>	<b>40</b>
<b>BAB VII PENUTUP .....</b>	<b>45</b>
7.1 SIMPULAN .....	45
7.2 SARAN .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>51</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1 Parameter Pengujian Stabilitas .....</b>	<b>16</b>
<b>Tabel 4.1 Komposisi Formula Pasta Gigi .....</b>	<b>29</b>
<b>Tabel 4.2 Parameter Pengujian Stabilitas .....</b>	<b>30</b>
<b>Tabel 5.1. Hasil pengukuran nilai rata-rata zona inhibisi bakteri Streptococcus mutans .....</b>	<b>33</b>
<b>Tabel 5.2. Uji beda lanjut hasil pengukuran nilai rata-rata zona inhibisi bakteri Streptococcus mutans.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabel 5.3. Hasil pengukuran nilai rata-rata lesi ulkus .....</b>	<b>36</b>
<b>Tabel 5.4. Uji beda lanjut hasil pengukuran nilai rata-rata ukuran lesi ulkus .....</b>	<b>37</b>
<b>Tabel 5.5. Evaluasi sediaan pasta gigi ekstrak kulit jeruk nipis (Citrus Aurantiifolia swingle) .....</b>	<b>38</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Dokumentasi Penelitian.....</b>	<b>52</b>
<b>Kartu Kontrol.....</b>	<b>58</b>
<b>Surat Penugasan.....</b>	<b>60</b>
<b>Surat Izin Penelitian .....</b>	<b>61</b>
<b>Rekomendasi Persetujuan Etik .....</b>	<b>62</b>
<b>Hasil Analisis Data SPSS.....</b>	<b>63</b>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kesehatan rongga mulut merupakan bagian penting dalam kehidupan manusia, sehingga rongga mulut tidak dapat dipisahkan fungsinya dengan bagian tubuh lain. Di Indonesia ada sekitar 38,5% penduduk menderita penyakit gigi dan mulut. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) pada tahun 2013 menyatakan terjadi peningkatan prevalensi karies aktif pada masyarakat Indonesia, yaitu sekitar 53,2% mengalami karies aktif (karies yg belum ditangani atau belum dilakukan penambalan / Decay (D) > 0 tertangani), maka di Indonesia terdapat 93.998.727 jiwa yang menderita karies aktif.<sup>1,2</sup>

Karies gigi merupakan suatu penyakit pada jaringan keras rongga mulut yang melibatkan sejumlah faktor yang saling berinteraksi satu sama lain, yaitu interaksi antar gigi dan saliva (host), mikroorganisme, dan substrat. Karies gigi merupakan suatu penyakit pada jaringan keras rongga mulut yang bersifat multifaktoral, namun dapat dikatakan penyebab utama terjadinya karies pada gigi yaitu karena adanya peningkatan jumlah bakteri penyebab karies, dalam hal ini adalah *Streptococcus mutans* (*S. Mutans*).<sup>3</sup> Sementara itu, inflamasi merupakan peradangan pada jaringan lunak yang disebabkan oleh berbagai faktor, seperti peningkatan jumlah bakteri *A.actinomycetemcomitans*, degranulasi neutrofil, meningkatnya jumlah dan kekuatan adhesi leukosit di endotel sehingga meningkatkan pelepasan asam arakhidonat oleh neutrofil.<sup>4</sup>

Pencegahan karies gigi dapat dilakukan dengan pengaplikasian bahan-bahan aktif anti plak yang telah dipatenkan seperti *Chlorhexidine* (CHX) yang banyak terkandung dalam obat kumur. Namun beberapa penelitian telah membuktikan efek samping yang merugikan dari penggunaan *Chlorhexidine*. *Chlorhexidine* dapat menimbulkan reaksi alergi seperti adanya rasa terbakar (*burning mouth syndrome*), puritis dan bahkan dapat menyebabkan terbentuknya lesi aphosa pada gingiva. *Chlorhexidine* dilaporkan juga bersifat sitotoksik pada neutrophil pembuluh darah tepi dengan cara menghancurkan

pembuluh darah tersebut. Hal ini merangsang terjadinya apoptosis pada penggunaan dengan konsentrasi rendah dan nekrosis pada penggunaan dengan konsentrasi tinggi, yang berdampak pada terhambatnya sintesis DNA oleh karena kematian sel.

Pada suatu penelitian menyebutkan bahwa *Chlorhexidine* juga dapat mengubah keseimbangan reaksi redoks sel, yang menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas dan berujung pada kematian suatu sel. Penelitian lainnya juga melaporkan sitotoksitas dan kerusakan kromosom oleh karena *Chlorhexidine*, penelitian ini dilakukan pada tikus wistar, dimana ditemukan kerusakan DNA pada hati, ginjal, saluran kemih serta sel leukositik tikus.<sup>5</sup>

Adapun obat antiinflamasi yang biasa digunakan yaitu antiinflamasi steroid dan non-steroid. Namun kedua golongan obat tersebut memiliki banyak efek samping. Antiinflamasi steroid dapat menyebabkan tukak peptik, penurunan imunitas terhadap infeksi, osteoporosis, atropi otot dan jaringan lemak, meningkatkan tekanan intra okular, serta bersifat diabetik, sedangkan antiinflamasi non-steroid dapat menyebabkan tukak lambung hingga pendarahan, gangguan ginjal, dan anemia.<sup>6</sup> Pada penelitian lainnya disebutkan bahwa obat antiinflamasi non-steroid (NSAID) memiliki efek samping terhadap sistem kerja ginjal, diantaranya; penyempitan lumen, gagal ginjal, *renal papillary necrosis*, *acute interstitial nephritis* yang ditandai dengan *edema*, *oliguria* dan urin yang berbusa. Adapun dampak NSAID pada *cardiovascular* dan *cerebrovascular* diantaranya: meningkatkan risiko hipertensi, serangan jantung, *ischemic cerebrovascular*, gagal jantung, serta stroke.<sup>7</sup>

Maka dari itu, diperlukan pengembangan penelitian dengan memanfaatkan bahan alami untuk menghasilkan efek antikaries dan antiinflamasi tanpa menimbulkan efek samping yang merugikan dalam upaya mendukung program peningkatan kualitas kesehatan gigi dan mulut, terutama dalam hal pencegahan karies dan inflamasi.

Sebagai negara dengan tingkat keanekaragaman tinggi, Indonesia memiliki berbagai jenis tanaman yang bermanfaat, salah satunya adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*). Jeruk nipis diketahui mengandung senyawa fitokimia yang bermanfaat seperti flavonoid, asam sitrat, asam amino (triptofan, lisin), minyak atsiri (sitral, limonen, felandren, lemon kamfer, kadinen, gerani-lasetat, linalilasetat, aktilaldehid, nonilaldehid), damar, glikosida, asam sitrun, lemak, kalsium, fosfor, besi, belerang vitamin B1 dan C. Senyawa-senyawa ini diketahui berperan sebagai penambah nafsu makan, antipiretik, diare, menguruskan badan, dan antioksidan.<sup>8</sup>Selain itu, jeruk nipis juga mengandung senyawa yang berperan dalam antibakteri dan antiinflamasi seperti saponin dan flavonoid.<sup>9</sup>

Bagian jeruk nipis yang sering dimanfaatkan didunia medis adalah buah dari jeruk nipis, sementara kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*)biasanya dibuang dan menjadi limbah. Limbah kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*)merupakan limbah yang paling banyak ditemukan dalam industri minyak atsiri jeruk nipis, karena buah kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*)terdiri dari flavedo, albedo, dan serabut bulir mengisi 50-65% dari berat total jeruk.<sup>10</sup> Di kota Makassar, konsumsi jeruk nipis terbilang cukup tinggi, hampir semua makanan khas daerah menggunakan jeruk nipis sebagai bumbu pelengkap sehingga jumlah limbah kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*)juga meningkat. Jika tidak diproses lebih lanjut, maka akan menyebabkan kerusakan lingkungan yang cukup serius seperti timbulnya bau tidak sedap dan estetika dari lingkungan berkurang.<sup>11</sup>

Padahal, beberapa penelitian menunjukkan kadar flavonoid tertinggi berada pada kulit jeruk nipis(*Citrus Aurantiifolia swingle*).<sup>8</sup>Semakin tinggi konsentrasi flavonoid, semakin baik efek antibakteri yang dihasilkan.<sup>12</sup>

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang dan permasalahan diatas, maka penelitimurumuskan masalah peneliti yaitu “Bagaimana efektivitasekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia swingle*) sebagai bahan aktif pasta gigi untuk mencegah karies dan inflamasi?”

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan antiinflamasi ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia swingle*) sehingga dapat dibuat dalam bentuk sediaan pasta gigi.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini yaitu sebagai langkah untuk memanfaatkan limbah kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) sebagai bahan herbal untuk pencegahan karies, mengetahui efektivitas ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) yang dapat menjadi agen antikaries dan antiinflamasi sehingga dapat dibuat dalam bentuk sediaan pasta gigi.

### **1.5 Hipotesis Penelitian**

Ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) memiliki aktivitas antibakteri dan antiinflamasi sehingga dapat dibuat dalam sediaan pasta gigi dan aman digunakan sehari-hari serta tidak banyak menimbulkan *adverse effect* dalam penggunaannya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Karies Gigi

##### 2.1.1 Definisi Karies Gigi.<sup>13</sup>

*World Health Organization* (WHO) mendefinisikan karies sebagai suatu proses patologis yang terlokalisasi pasca erupsi gigi dan melibatkan jaringan keras maupun jaringan lunak yang berlanjut pada pembentukan dari suatu kavitas (lubang). Beberapa ahli mendefinisikan karies dalam bentuk yang berbeda, namun semuanya memiliki makna yang serupa. Adapun definisi dari para ahli yang sering digunakan adalah sebagai berikut:

**GV Black** : Karies gigi didefinisikan sebagai suatu peristiwa larutnya mineral oleh karena proses kimiawi, yang pada awalnya akan terjadi pada enamel kemudian akan menembus dentin.

**Shafer** : Karies gigi didefinisikan sebagai penyakit yang disebabkan oleh mikroba yang bersifat *irreversible* pada jaringan keras gigi dan ditandai oleh proses demineralisasi struktur penyusun anorganik serta kerusakan struktur penyusun 5uspens dari gigi.

**Kess dan Ash** : Karies gigi merupakan penyakit yang melibatkan jaringan lunak dari gigi dan membentuk suatu kavitas yang ditandai dengan kehancuran enamel, dentin dan sementum.

**Last** : Karies gigi merupakan penyakit yang disebabkan oleh suatu agen infeksius/ hasil transmisi dari mikroba yang bersifat *toxic* pada seseorang yang terinfeksi.

**Sturdevant** : Karies gigi merupakan penyakit infeksius dari suatu mikroba yang menyebabkan larutnya jaringan keras yang terlokalisasi dan pada akhirnya akan menyebabkan kerusakan jaringan keras gigi.

**GJ Mount** : Karies merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya ketidakseimbangan antara proses demineralisasi-remineralisasi yang terus menerus pada enamel dan dentin.

**Kidd dan Smith** : Karies merupakan suatu penyakit pada jaringan keras gigi yang disebabkan oleh karena adanya aktivitas dari mikroorganisme pada karbohidrat yang dapat difermentasi.

**Lundeen** : Karies gigi merupakan penyakit mikrobiologi yang bersifat infeksius dan menyebabkan larutnya dan rusaknya jaringan keras gigi, dan merupakan rangkaian dari eksaserbasi dan remisi.

**Ernest Newburn** : Karies gigi/ kerusakan pada gigi, merupakan proses patologis dari kerusakan jaringan gigi yang terlokalisasi dan disebabkan oleh mikroorganisme.

**Hume** : Karies gigi pada intinya merupakan kerusakan progresif dari larutnya jaringan oleh karena asam yang dihasilkan oleh mikrobakteri dan menyebabkan hilangnya kandungan mineral dari enamel, dentin serta sementum.

**Fejerskov dan Nyvad** : Karies gigi merupakan penyakit yang kompleks yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara mineral gigi dan cairan biofilm.

**Selwitz** : Karies gigi merupakan penyakit yang bersifat multifaktorial yang dimulai dengan adanya invasi mikroba dalam biofilm yang kompleks dan dipengaruhi aliran serta komposisi saliva, pelepasan fluoride, konsumsi gula dan kebiasaan membersihkan gigi.

**Sikri** : Karies gigi merupakan penyakit infeksius yang disebabkan oleh adanya ketidakseimbangan mikroorganisme didalam rongga mulut yang kemudian akan menghasilkan produk asam dan akan melarutkan jaringan keras gigi.

### **2.1.2 Klasifikasi Karies Gigi.<sup>13</sup>**

#### **2.1.2.1 Berdasarkan lokasi terjadinya karies :**

1. Karies pada pit dan fissure gigi.
2. Karies pada permukaan lunak gigi.
3. Karies pada permukaan akar gigi (Senile caries).

#### **2.1.2.2 Berdasarkan tingkat keparahan karies :**

1. Karies gigi akut (rampan karies).
2. Karies gigi kronik.
3. Arrested dental caries.

#### **2.1.2.3 Berdasarkan perluasan karies:**

1. Incipient caries (reversible).
2. Cavitated caries (non-reversible).

#### **2.1.2.4 Berdasarkan rekurensi terjadinya karies:**

1. Primary caries.
2. Secondary caries (rekuren/berulang).

#### **2.1.2.5 Berdasarkan jumlah permukaan yang terkena karies:**

1. **Simple caries** : karies yang melibatkan satu sisi permukaan dari gigi.
2. **Compound caries** : karies yang melibatkan dua sisi permukaan dari gigi.
3. **Complex caries** : karies yang melibatkan tiga atau lebih permukaan dari gigi.

#### **2.1.2.6 Berdasarkan usia pasien**

1. **Nursing bottle caries** : Karies yang berlangsung diawal masa pertumbuhan, paling sering ditemukan pada insisivus rahang atas.
2. **Adolescent caries** : Karies pada remaja yang disebabkan oleh pola makan yang tidak baik.
3. **Root caries** : Karies pada sementum, biasanya ditemukan pada pasien usia lanjut.

### **2.1.2.7 Berdasarkan perawatan dan desain restorasinya (GV.Black)**

**Kelas I** : Karies pada pit dan fissure pada permukaan oklusal gigi premolar dan molar, 2/3 permukaan bukal dan lingual molar serta permukaan gigi anterior.

**Kelas II** : Karies pada permukaan proksimal premolar dan molar.

**Kelas III** : Karies pada permukaan proximal gigi anterior, namun belum mencapai insisal.

**Kelas IV** : Karies pada permukaan proximal gigi anterior dan telah mencapai insisal.

**Kelas V** : Karies pada 1/3 gingiva dipermukaan fasial dan lingual gigi anterior dan posterior.

*Simon, kemudian menambahkan klasifikasi ini menjadi enam kategori:*

**Kelas VI** : Karies pada insisal edge dan puncak cusp dari gigi premolar dan molar, sudut aksial dari gigi.

### **2.1.2.8 Berdasarkan World Health Organization (WHO):**

**D1** : Terdapat lesi pada enamel yang terdeteksi secara klinis dengan permukaan intak (tidak berlubang).

**D2** : Terdapat lesi pada enamel terbatas yang terdeteksi secara klinis.

**D3** : Terdapat lesi pada dentin yang terdeteksi secara klinis (dengan atau tanpa kavitas).

**D4** : Terdapat lesi pada pulpa yang terdeteksi secara klinis.

### **2.1.2.9 Berdasarkan klasifikasi Sturdevant:**

#### **a. Lokasi**

Primary caries

- Karies yang berasal dari pit dan fissure gigi.
- Karies yang berasal dari permukaan halus gigi.

Backward caries

- Forward caries.
- Residual caries.
- Karies pada permukaan akar.
- Karies sekunder (recurrent caries).

## **b. Perluasan**

- Incipient caries (reversible).
- Cavitated caries (irreversible).

## **c. Tingkat keparahan**

- Karies akut (rampan).
- Karies kronis.

### **2.1.2.10 Klasifikasi GJ Mount**

Lesi karies terjadi pada tiga lokasi utama dan empat ukuran yang berbeda

**Site 1** : Karies pada pit dan fissure, kerusakan enamel pada permukaan oklusal gigi posterior/ permukaan halus lainnya.

**Site 2** : Karies pada enamel dibagian proximal gigi.

**Site 3** : Karies pada 1/3 servikal mahkota gigi/ diikuti oleh resesi gingiva.

Setiap lokasi selanjutnya dikategorikan berdasarkan ukuran:

**Size 0** : Karies yang berukuran kecil dan masih dapat diatasi dengan adanya remineralisasi.

**Size 1** : Karies yang mencapai dentin terbatas, dapat diatasi dengan adanya remineralisasi.

**Size 2** : Karies yang mencapai dentin.

**Size 3** : Karies yang dalam ditandai dengan rusaknya cusp/incisal edge.

**Size 4** : Karies yang menyebabkan kehilangan struktur gigi dalam jumlah besar.

### **2.1.3 Patomekanisme Karies Gigi.<sup>14,15</sup>**

*Streptococcus mutans* (*s.mutans*) menghasilkan polisakarida ekstraseluler yang sangat lengket dan bersifat asidogenik. Disamping itu, *s.mutans* juga bersifat asidurik, yang berarti mereka dapat bertahan hidup di lingkungan asam. Baik *lactobacilli* dan *s.mutans* lebih memilih untuk tumbuh dan melakukan metabolisme pada Ph rendah sehingga cenderung tumbuh pada kondisi yang sangat asam. Mikroorganisme asidogenik / asidurik merupakan bagian kecil dari suatu biofilm. Pada lingkungan oral dengan Ph netral, mikroorganisme ini memiliki daya saing yang lemah dan hanya merupakan sebagian kecil dari total

massa mikroba. Walaupun *s.mutans* terdapat dalam rongga mulut, namun ketika keseimbangan fisiologis dalam rongga mulut baik, karies tidak dapat berkembang.

Sukrosa berhubungan erat dengan terbentuknya karies gigi, hal ini disebabkan oleh karena bakteri *s.mutans* memiliki enzim ekstraseluler yang disebut enzim glukosiltransferase (GTF) yang mampu membelah ikatan sukrosa  $\alpha$ -1 dan  $\alpha$ -2 dan memanfaatkan energi untuk menghasilkan polimer glukosa (glukan dan mutans) dan fruktosa. Pembentukan polimer glukan-mutan memungkinkan bakteri kariogenik menumpuk dan membentuk biofilm. Peningkatan metabolisme gula juga akan menyebabkan penurunan Ph dalam rongga mulut sehingga mencapai Ph kritis. Kondisi tersebut yang akan mendukung proliferasi bakteri asidurik seperti *s.mutans*, *lactobacilli*, serta bakteri lainnya sehingga menghasilkan lebih banyak asam dan mengakibatkan hilangnya mineral pada permukaan gigi.

## **2.2 Inflamasi**

### **2.2.1 Definisi inflamasi**

Inflamasi adalah mekanisme respon sistem imun terhadap rangsangan yang bersifat membahayakan; seperti pathogen, kerusakan sel, senyawa beracun atau radiasi. Inflamasi merupakan mekanisme pertahanan tubuh yang sangat penting untuk kesehatan. Biasanya, selama terjadi respon inflamasi akut, antara sel dan molekul berinteraksi untuk meminimalkan risiko kerusakan jaringan maupun infeksi. Namun, inflamasi akut yang tidak terkontrol dapat menjadi kronis dan menimbulkan penyakit inflamasi kronis seperti kerusakan pada jantung, pankreas, hati, ginjal, paru-paru, otak, saluran pencernaan dan sistem reproduksi.<sup>16</sup>

Dalam jaringan tubuh, inflamasi ditandai dengan adanya kemerahan (*rubor*), pembengkakan (*tumour*), kenaikan suhu (*calor*), rasa sakit (*dolor*) dan jaringan kehilangan fungsi normalnya (*functio laesa*), yang menyebabkan respon sistem imun, vaskuler dan sel inflamasi merespon terhadap kerusakan atau infeksi.<sup>16,17</sup>

Adanya suatu respon inflamasi ditandai dengan pelepasan mediator proinflamasi seperti sitokin yang berupa; *Tumor Necrosis Factor* (TNF), *Interferon* (INF)- $\gamma$ , IL-1, IL-6, IL-12, serta IL-18. Pelepasan mediator ini distimulasi oleh COX-2 dan *nitric oxide*.<sup>18</sup>

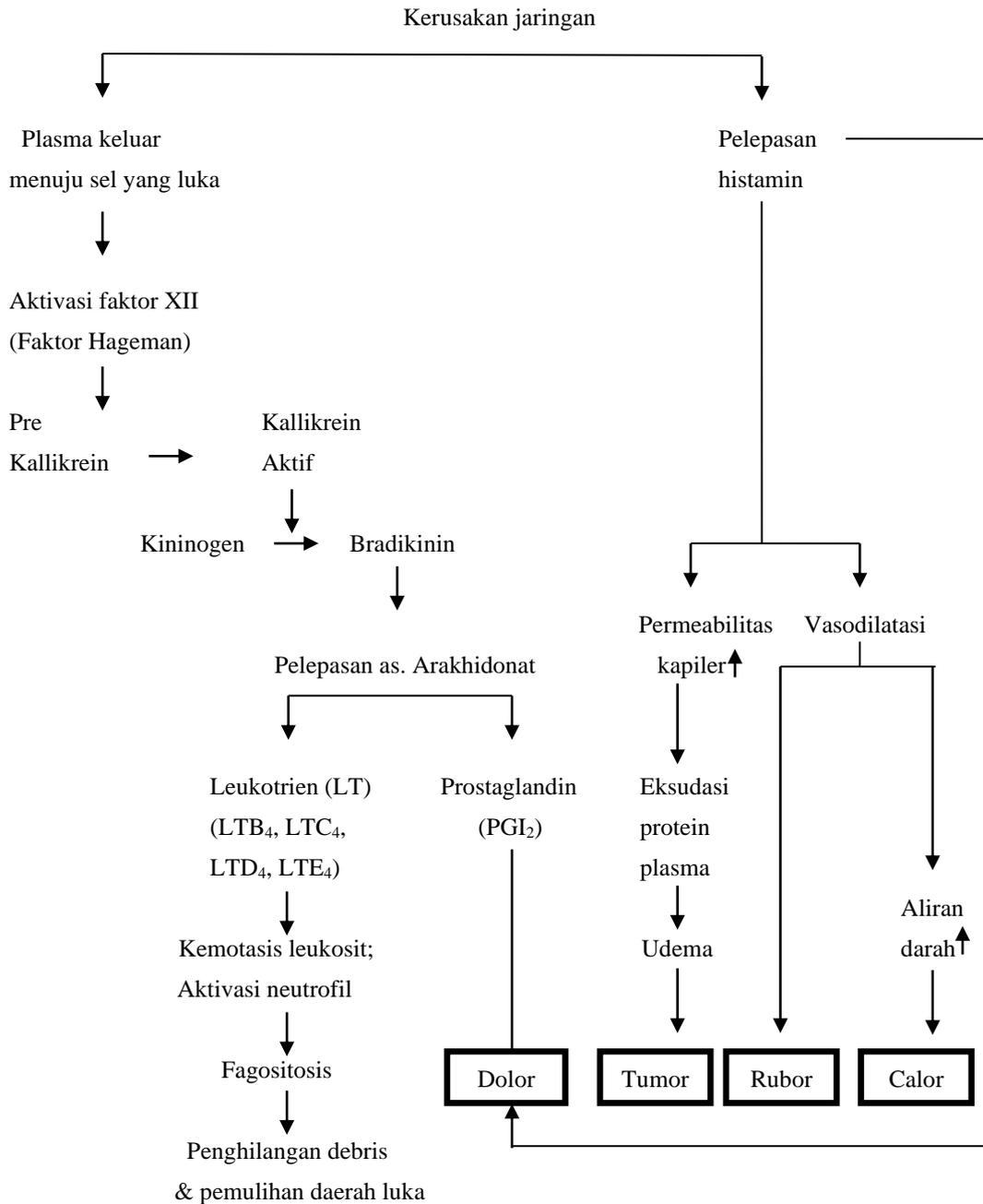
### **2.2.2 Patomekanisme inflamasi**

Kerusakan sel menyebabkan aktivasi faktor Hageman (faktor XII) dalam tubuh. Faktor Hageman akan mengaktifkan kallikrein yang mengakibatkan prekursor substansi kininogen berubah menjadi bradikinin dan kinin yang lain. Bradikinin mengakibatkan vasodilatasi dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah sehingga menstimulasi pelepasan eritrosit dan leukosit menuju ke jaringan yang rusak. Bradikinin ini juga diketahui dapat menimbulkan sensasi nyeri dengan menstimulasi ujung saraf. Selain itu, bradikinin juga menstimulasi pelepasan asam arakhidonat dari membran sel sel yang nantinya juga akan menstimulasi pelepasan substansi lainnya seperti prostaglandin, leukotrien dan tromboksan (ketiga substansi ini disebut *autocoid*).

Selain mekanisme yang melibatkan faktor Hageman, respon local lainnya terjadi. Kerusakan jaringan menyebabkan pelepasan histamin nantinya akan mengakibatkan vasodilatasi pembuluh darah dan membawa banyak komponen darah ke jaringan yang mengalami kerusakan; meningkatkan permeabilitas pembuluh darah sehingga memudahkan neutrofil menuju daerah jaringan yang rusak dan akan memakan serta menghilangkan sel yang terinfeksi.

Vasodilatasi dari pembuluh darah juga mengakibatkan peningkatan tekanan hidrostatik dan penurunan tekanan onkotik akibat peningkatan aliran darah menuju jaringan yang rusak, sehingga cairan keluar menuju daerah bertekanan rendah yang disebut interstitial.

Peningkatan viskositas darah mengakibatkan aliran darah melambat mengakibatkan marginasi leukosit dan mulai menempel pada endotel kemudian terjadilah mekanisme kemotaksis, yaitu perpindahan leukosit menuju daerah jaringan yang rusak dan memiliki kemampuan untuk menarik makrofag dan neutrofil. Neutrofil akan menghancurkan sel-sel mati yang akan dicerna oleh enzim katalitik, peristiwa ini disebut fagositosis.<sup>19</sup>



**Bagan 1.** Respon inflamasi yang berhubungan dengan empat tanda umum inflamasi  
 Sumber :Karch AM. Focus on Nursing Pharmacology. 5th Ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health. 2011: 239

## 2.2.3 Inflamasi pada Rongga Mulut

### 2.2.3.1 Gingivitis

Umumnya terbentuk oleh karena adanya akumulasi plak dan faktor lainnya yang mendukung pembentukan plak dan keadaan ini diperparah oleh buruknya oral hygiene. Gingivitis bersifat reversible yang ditandai dengan gingiva berwarna kemerahan, membengkak dan mudah berdarah ketika disentuh, disikat bahkan

perdarahan spontan dapat terjadi. Gingivitis merupakan penyakit pada gingiva yang tergolong ringan dan dapat sembuh dengan menyikat gigi secara teratur, flossing, dan kontrol teratur di dokter gigi seperti melakukan scaling serta pemberian medikasi yang tepat/sesuai. Tidak ada kehilangan tulang maupun jaringan pada gingivitis, jadi diperlukan perawatan untuk mencegah gingivitis berkembang menjadi periodontitis.<sup>20</sup>

### **2.2.3.2 Periodontitis**

Jika gingivitis dibiarkan tidak dirawat, gingivitis akan berkembang menjadi periodontitis. Penyakit periodontal merupakan penyakit yang paling sering ditemukan pada manusia. Periodontitis ditandai dengan adanya inflamasi pada gingiva, hilangnya perlekatan gingiva dan adanya kehilangan tulang. Gingiva akan tertarik kebawah dan membentuk suatu ruang yang disebut 'pocket'. Toksin dari bakteri dan respon alami dari tubuh terhadap infeksi dimulai dengan kerusakan tulang dan jaringan penghubung yang menyokong gigi. Jika dibiarkan tidak dirawat, tulang, gingiva dan jaringan pendukung gigi akan mengalami kerusakan dan berakhir pada kehilangan gigi.<sup>20</sup>

## **2.2 Pasta Gigi**

### **2.2.1 Definisi dan Kegunaan Pasta Gigi**

Pasta gigi menurut Badan Standar Nasional-SNI16-4767-1998 adalah produk semipadat yang terdiri dari campuran bahan penggosok, bahan pembersih dan bahan tambahan yang digunakan untuk membantu membersihkan gigi tanpa merusak gigi maupun membran mukosa dari mulut. Bahan pembuatan pasta gigi dibagi menjadi dua macam yaitu bahan aktif dan non-aktif. Bahan pasta gigi non-aktif berhubungan dengan konsistensi, rasa, stabilitas, sifat abrasif, dan tampilan. Sementara, yang dimaksud bahan aktif pasta gigi adalah bahan yang memiliki sifat terapeutik.

Saat ini produsen pasta gigi bersaing untuk mengembangkan pasta gigi herbal, seiring dengan meningkatnya minat masyarakat terhadap penggunaan bahan alami untuk menghindari efek yang merugikan dari penggunaan bahan

kimia. Beberapa pasta gigi herbal tidak mengandung bahan aktif seperti fluoride, juga tidak menggunakan detergen sodium lauril sulfat.<sup>21</sup> Bahan herbal seperti stroberi, lidah buaya, minyak esensial dan lain-lain banyak digunakan dalam dunia kedokteran gigi, namun belum ada satupun produk pasta gigi yang memanfaatkan kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) sebagai antikaries dan antiinflamasi.

### 2.2.2 Komposisi Pasta Gigi.<sup>21</sup>

Pasta gigi umumnya mengandung komposisi sebagai berikut:

- Bahan abrasif : Bahan ini ditambahkan untuk membersihkan gigi dan menghilangkan noda/ plak pada gigi. Kemampuan membersihkan dari bahan abrasif tergantung pada jenis dan jumlah partikel abrasif, reaksi ketika berkontak dengan permukaan gigi, kelarutan saliva dan tekanan yang diberikan selama menyikat gigi. Bahan abrasif yang umumnya digunakan adalah silika atau *hydrated silica*, *hydrated aluminium oxides*, kalsium karbonat, *brushite* and *gibbsite*.
- Air : Air berfungsi sebagai pelarut antara bahan yang terlarut dengan bahan yang tidak terlarut.
- Humektan : Bahan ini berfungsi sebagai pelembab dan menjaga pasta gigi tidak dalam keadaan kering selama masa penyimpanan. Humektan yang umum digunakan adalah gliserin, sorbitol, *propylene glycol*, dan minyak paraffin.
- Deterjen/surfaktan : Bahan ini berfungsi sebagai bahan aktif dan menurunkan tegangan permukaan, dengan membuat emulsi dan menghilangkan debris dengan busa, surfaktan yang umum digunakan adalah *sodium lauryl sulphate*, *sodium lauryl sarcoside*.
- Bahan pengikat : Merupakan koloid hidrofilik yang didispersikan/ ditambahkan dalam air dan digunakan untuk menstabilkan formula pasta gigi dengan mencegah pemisahan antara bahan padat dan bahan cair. Contohnya seperti *natural gums* (*Arabic*, *karaya* dan *tragacanth*), koloid yang berasal dari rumput laut (*alginates*), selulosa sintetik (*carboxy methyl cellulose*).

- Penambahan rasa/aroma : Terdapat beberapa penambah aroma alami dan buatan seperti *mint*, *pepper mint*, *spear mint* dan *winter green* serta pemanis seperti *saccharine*, *acesulfame K*, aspartam dan *xylitol* ditambahkan untuk meningkatkan rasa.
- Bahan teraupetik : Merupakan bahan aktif yang ditambahkan pada pasta gigi untuk mencegah karies, menghambat pembentukan plak, dan membantu membersihkan gigi karena memiliki kemampuan antibakteri dan antiinflamasi. Contohnya seperti *flour*, *triclosan*, *strontium chloride*, dan lain-lain.
- Bahan pewarna dan pengawet.

### 2.2.3 Klasifikasi Pasta Gigi.<sup>21</sup>

Klasifikasi pasta gigi berdasarkan kandungan bahan aktifnya adalah sebagai berikut :

- Untuk pencegahan dan perawatan karies : Pasta gigi digunakan memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangan karies (19-27% menurunkan risiko karies), dan membantu proses remineralisasi enamel.
- Untuk pencegahan dan perawatan penyakit periodontal : Merupakan pasta gigi yang ditambahkan berbagai bahan antiseptic dan antibakteri, seperti *triclosan*, *chlorhexidine*, *hydrogen peroxide*, *baking soda*, *Povidone Iodine*, *zinc citrate*, dan lain-lain yang digunakan untuk menghilangkan plak pada gigi. Bahan ini menstabilkan jumlah kalsium dalam saliva dan merusak struktur kristalin dari kalkulus.
- Untuk perawatan gigi sensitive : Pasta gigi ini bersifat seperti analgesik, mengandung *potassium saline* yang mempertahankan konsentrasi ion K<sup>+</sup> tetap tinggi dalam ekstrasel, dan mencegah re-polarisasi dari membrane sel saraf serta menghambat transmisi impuls tanpa menimbulkan perubahan pada pulpa.
- Pasta gigi pemutih : Pasta gigi pemutih berfungsi untuk menghilangkan plak pada gigi sehingga gigi kembali terlihat putih alami. Plak dapat dihilangkan dengan bahan abrasive atau dengan enzim yang melekat pada protein dipelikel yang juga membantu dalam menghilangkan plak.

- Pasta gigi untuk *bleaching* : Pasta gigi *bleaching* juga mengandung bahan kimia, bahan umumnya digunakan pada pembuatan pasta gigi ini diantaranya; hydrogen peroksida/ kalsium peroksida (*calprox*). Ketika peroksida berkontak dengan permukaan gigi atau masuk kedalam jaringan gigi, peroksida ini menghancurkan molekul noda/ plak gigi dan memberikan efek pemutih.
- Pasta gigi dengan tujuan tertentu : Beberapa produsen mengklaim telah memproduksi pasta gigi untuk beberapa keadaan tertentu, seperti produk pasta gigi dengan bahan aktif yang mengandung antiviral yang mengatur aktivitas *lariphan* terhadap sistem imun dan juga menghambat penetrasi dan pertumbuhan bakteri patogenik.

#### 2.2.4 Parameter Pengujian Stabilitas pada Pasta Gigi

**Tabel 2.1 Parameter Pengujian Stabilitas**

No	Indikator	Parameter
1.	Organoleptik	a. Warna: tetap stabil dalam jangka waktu yang lama b. Aroma: mint c. Tekstur: lembut
2.	Homogenitas	Tidak terdapat butiran kasar dan tidak terjadi pemisahan antara komponen pasta gigi
3.	Ph	4,5-10,5
4.	Viskositas	33222-89700 mpas
5.	Bentuk Aliran	Dilatan
6.	Daya Sebar	5-7 cm
7.	Stabilitas Dipercepat	Tidak terlihat perubahan bentuk, aroma, warna, dan homogenitas

## 2.3 Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia Swingle*)

### 2.3.1 Taksonomi Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia Swingle*).<sup>22, 23</sup>

Dalam ilmu tumbuhan, tanaman jeruk nipis diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Tracheobionta*

Superdivision : *Spermatophyta*

Divisi: *Magnoliophyta*

Class: *Magnoliopsida*

Subclass : Rosidae

Order: *Sapindales*

Family: *Rutaceae*

Genus: *Citrus*

Species: *Citrus aurantifolia*

### 2.3.2 Morfologi Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia Swingle*).<sup>23</sup>

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan tanaman yang dapat tumbuh hingga ketinggian 3-5 meter. Batangnya kecil, cabangnya berukuran pendek tidak beraturan serta memiliki duri berukuran kurang dari 1 sentimeter. Daunnya berbentuk elips hingga oval, panjangnya 4.5-6.5 sentimeter dan lebarnya 2.5–4.5 sentimeter. Tangkai daunnya berukuran 1-2 sentimeter dan memiliki sayap sempit. Bunga pendek dan berwarna putih serta memiliki aroma yang harum. Kelopaknya ada lima, berbentuk lonjong dan panjang 10-12 milimeter. Buahnya berwarna hijau, berbentuk bulat dan berdiameter 3-5 sentimeter, akan berubah menjadi warna kekuningan ketika masak.

Setiap *Citrus aurantifolia* memiliki struktur anatomi yang sama, berupa; (1) Flavedo yang merupakan bagian terluar dari buah dan mengandung banyak

flavonoid. Dinding sel terluar mengandung lapisan lilin yang berfungsi untuk mencegah kehilangan air pada buah dalam jumlah yang banyak.

(2) Albedo merupakan bagian berbentuk seperti *sponge* yang berwarna putih, berada dibawah lapisan flavedo.

(3) Pada membran karpal/ septum memiliki 8-11 kelenjar, biasanya sejajar dan terletak disekitar inti pusat.

(4) Bulirnya berupa kantong yang berwarna kuning-kehijauan dan bijinya berukuran kecil, berbentuk ovoid, berwarna pucat dan permukaannya halus serta mengandung embrio yang berwarna putih.

### **2.3.3 Kandungan Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).<sup>23</sup>**

*Citrus aurantifolia* mengandung zat fitokimia aktif seperti; (1) flavonoid termasuk apigenin, hesperetin, kaempferol, nobiletin, quercetin, dan rutin, (2) flavon, (3) flavanon dannaringenin, (4) triterpenoid, dan (5) limonoid.

Pada minyak atsiri kulit jeruk nipis(*Citrus Aurantiifolia swingle*), limonene adalah komponen volatil utama, diikuti oleh terpinene, pinene, dan sabinene. Untuk minyak pada daun jeruk nipis, limonene, pinene, dan sabinene adalah komponen utama, diikuti oleh sitronelal,geranial, linalool, dan neral. Senyawa bioaktif dari jeruk di banyak negara dilaporkan, misalnya, di Italia: Spadaro dkk, melaporkan minyak atsiri buah *C. Aurantifolia* mengandung 59% limonene, 16%  $\beta$ -pinene, 19%  $\gamma$ -terpinene, dan 5% citral. Pada penelitian yang dilakukan oleh Costa dkk, melaporkan minyak esensial buah *C.Aurantifolia* mengandung limonene (54%), terp-terpinene (17%),  $\beta$ -pinene (13%), terpinolene (1%),  $\alpha$ -terpineol (0,5%), dan citral (3%).

Adapun pada penelitian yang dilakukan oleh Wang dkk di Taiwan, menyatakan bahwa zat kimia dari buah jeruk mengandung hesperidin,flavanon mayor (6 mg / g), naringin (2 mg / g), diosmin, flavon mayor (0,7 mg / g), kaempferol, flavanol mayor (1 mg / g), asam klorogenat, asam fenolik utama (0,1 mg / g),  $\beta$ -cryptoxanthin,karotenoid utama (7  $\mu$ g / g), dan  $\beta$ -karoten (4  $\mu$ g / g), diikuti oleh total pektin (87 mg / g). Kemudian, penelitian yang dilakukan di

Meksiko oleh Sandoval Mont Montemayor dkk menyatakan bahwa kulit buah *C. Aurantifolia* terdiri dari 44 senyawa yang mudah menguap, misalnya, dimethoxycoumarin (16%), cyclopentanedione (9%), methoxycyclohexane (8%), corylone (7%), asam palmitat (7%), dimethoxypsoralen (6%),  $\alpha$ -terpineol (6%), dan umbelliferone (5%).

#### **2.3.4 Manfaat Kulit Jeruk Nipis(*Citrus Aurantiifolia swingle*) sebagai Antibakteri.<sup>9</sup>**

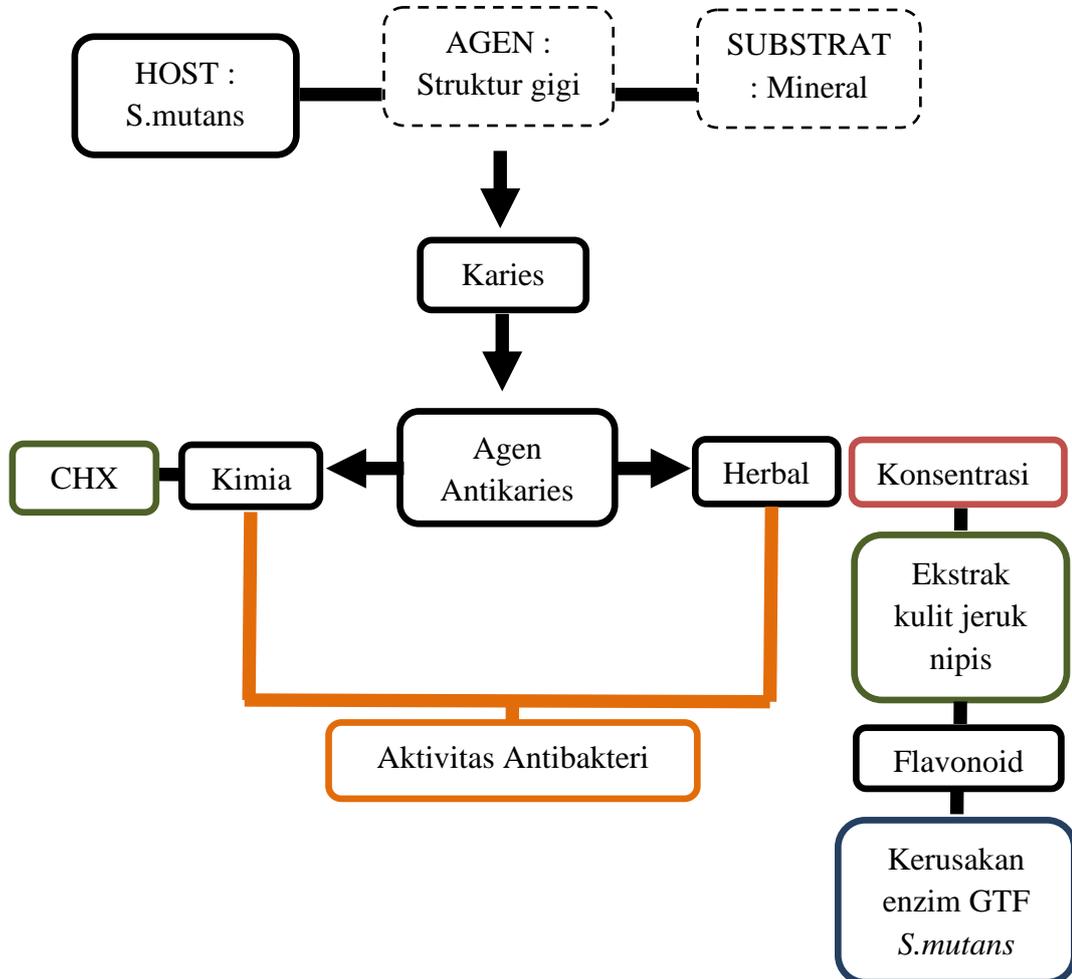
Jeruk nipis termasuk salah satu jenis *Citrus* yang mengandung unsur-unsur senyawa kimia yang bermanfaat. Jeruk nipis memiliki kulit tebal yang berwarna hijau dan bulirnya mengandung sedikit sari buah. Kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) banyak diproduksi menjadi permen dan minuman beralkohol, sementara minyaknya digunakan sebagai penambah rasa manis dan minuman. Dalam dunia medis, kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) juga dikenali sebagai obat untuk meredakan demam, sakit tenggorokan, batuk dan masalah pencernaan.

Berdasarkan penelitian, kulit buah jeruk nipis kaya akan komponen flavonoid, tannin, dan coumarin. Senyawa flavonoid yang terkandung, yaitu naringin, hesperidin, naringenin, hesperitin, rutin, nobiletin, dan tangeretin. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol yang dapat bekerja sebagai antioksidan, dan juga sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak sel bakteri. Flavonoid dapat mengatur aktivitas enzimatis serta menghambat proliferasi sel. Flavonoid juga dapat menghambat aktifitas enzim Glukosiltransferase (GTF) dari *S. Mutans*. Enzim GTF *S. Mutans* merupakan faktor yang sangat penting dalam proses pembentukan karies. Penghambatan GTF baik yang terlarut maupun yang terserap pada permukaan gigi dapat dijadikan sebagai salah satu upaya mencegah karies gigi serta beberapa penyakit periodontal yang diakibatkan oleh adanya plak gigi.

Karies gigi diawali dengan kerusakan lokal jaringan gigi berupa demineralisasi permukaan email dan dentin gigi akibat dari asam yang diproduksi oleh *S. Mutans* dan akan membentuk plak sebagai hasil tambahan dari fermentasi karbohidrat oleh enzim GTF.

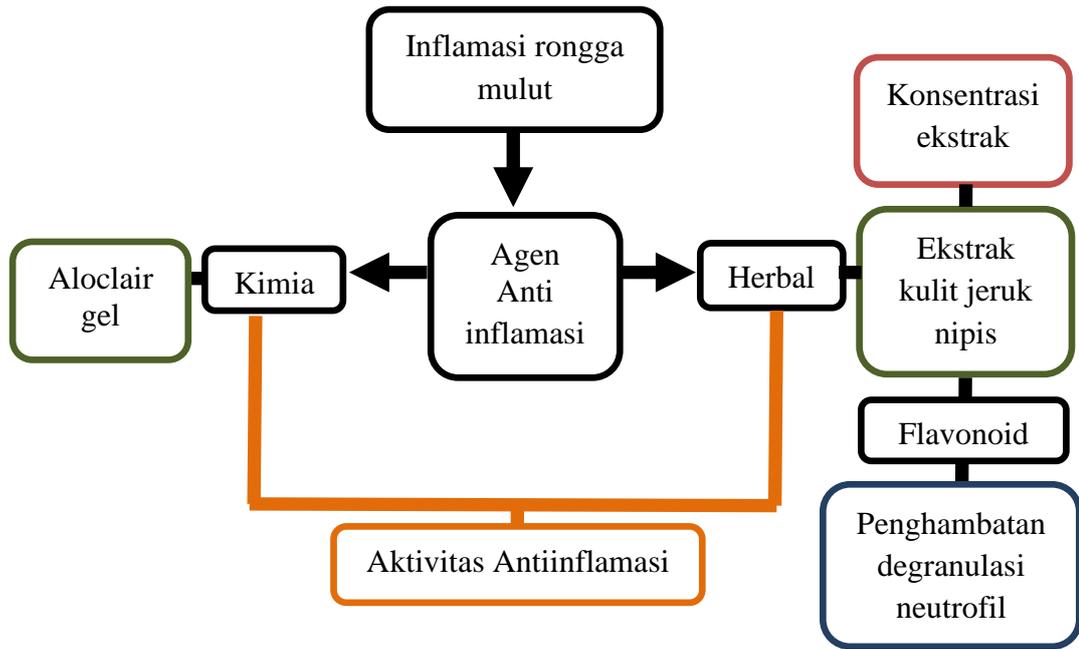
### BAB III

#### KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP



Keterangan :

- Variabel tidak diteliti
- Variabel diteliti
- Variabel sebab
- Variabel kendali
- Variabel antara
- Variabel akibat



Keterangan :

- Variabel tidak diteliti
- Variabel diteliti
- Variabel sebab
- Variabel kendali
- Variabel antara
- Variabel akibat

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental*.

#### 4.2 Desain Penelitian

1. Menurut ruang lingkup penelitian : Laboratorium
2. Menurut waktu penelitian : Longitudinal (*follow-up*)
3. Menurut substansi : Terapan
4. Menurut hubungan antar variable : Analitik
5. Menurut adanya manipulasi/ perlakuan : *Experimental*

#### 4.3 Waktu dan Tempat Penelitian

1. Tempat penelitian : Lab.Biofarmaka (Pusat Kegiatan Penelitian), Lab.Mikrobiologi, Lab.biofarmasi, Lab.Farmasetika (Fakultas Farmasi)- Universitas Hasanuddin.
2. Waktu penelitian : Penelitian dimulai dari bulan Januari sampai bulan Mei 2019.

#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian menurut fungsinya:

1. Variabel sebab : Ekstrak *Citrus aurantiifolia swingle*, *Chlorhexidine*, *Aloclair gel*.
2. Variabel akibat : Kerusakan enzim GTF *s.mutans* dan penghambatan degranulasi neutrofil.
3. Variabel antara : Aktivitas antibakteri & antiinflamasi.
4. Variabel kendali : Konsentrasi ekstrak *Citrus aurantiifolia swingle*.

#### 4.5 Definisi Operasional Variabel

NO	VARIABEL	DEFINISI OPERASIONAL
1.	Ekstrak <i>Citrus aurantiifolia swingle</i>	Ekstrak <i>Citrus aurantiifolia swingle</i> didapatkan dari rumah/warung makan di kota Makassar. Kulit jeruk nipis

		<p>(<i>Citrus Aurantiifolia swingle</i>) yang didapatkan, dikumpulkan dalam kotak plastik ukuran sedang. Kemudian, kulit jeruk nipis (<i>Citrus Aurantiifolia swingle</i>) dikeringkan lalu diserbuk. Selanjutnya, serbuk kulit buah jeruk nipis dimaserasi menggunakan etanol 96%. Hasil maserasi dibuat ekstrak dengan menguapkan pelarut menggunakan <i>vacuum rotary evaporator</i>, kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 5%, 15%, dan 25%.</p>
2.	<i>Chlorhexidine</i>	<p><i>Chlorhexidine</i> adalah obat yang berfungsi sebagai antiseptik untuk melawan infeksi akibat bakteri. <i>Chlorhexidine</i> tersedia dalam bentuk sediaan topikal/salep, larutan dan obat kumur. Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan <i>Chlorhexidine digluconate</i> 0.2% dengan merek dagang Minosep.</p>
3.	<i>Aloclair gel</i>	<p><i>Aloclair gel</i> adalah obat yang pada umumnya digunakan untuk membantu mengatasi stomatitis, lesi pada mukosa rongga mulut yang disebabkan oleh bakteri maupun trauma oleh karena pemakaian alat ortodontik.</p>
4.	Kerusakan enzim GTF <i>s.mutans</i>	<p>Enzim GTF <i>S. Mutans</i> merupakan faktor yang sangat penting dalam proses pembentukan karies. Penghambatan GTF baik yang terlarut maupun yang terserap pada permukaan gigi dapat dijadikan sebagai salah satu upaya mencegah karies gigi serta beberapa penyakit periodontal yang diakibatkan oleh adanya plak gigi.</p>
5.	Penghambatan	<p>Degranulasi neutrofil merupakan mekanisme selular yang melepaskan</p>

	degranulasi neutrofil	antimikroba sitotoksik atau molekul lain dari vesikel sekretorik dari neutrofil yang disebut granula.
6.	Aktivitas antibakteri	Merupakan suatu mekanisme yang berhubungan dengan senyawa yang menghambat laju pertumbuhan atau membunuh bakteri tanpa menimbulkan kerusakan jaringan disekitarnya untuk memberikan perlindungan yang memadai terhadap mikroorganisme, cairan biologis, dan aerosol, serta penularan penyakit.
7.	Aktivitas antiinflamasi	Merupakan suatu mekanisme untuk mengurangi peradangan, obat antiinflamasi juga biasanya mengandung analgesik yang mengurangi intensitas nyeri.

#### 4.6 Sampel Penelitian

Sampel penelitian untuk uji antibakteri adalah bakteri *s.mutans* yang dibiakkan dalam cawan petri berisi *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) lalu diinkubasi dalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam yang dibagi menjadi tiga kelompok kontrol yaitu, kontrol positif dengan menggunakan *Chlorhexidine digluconate*, kontrol negative dengan akuades, kontrol perlakuan pertama dengan ekstrak konsentrasi 5%, kontrol perlakuan kedua dengan ekstrak konsentrasi 15%, serta kontrol perlakuan ketiga dengan ekstrak konsentrasi 25%.

Adapun untuk uji antiinflamasi, sampel yang digunakan berupa tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus strain wistar*) yang diberi perlakuan berupa perlukaan mukosa rongga mulut dengan perhidrol 30% untuk membentuk ulkus di mukosa bibir bawahnya. Penelitian dilakukan selama enam hari dengan meneteskan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) konsentrasi 5%, 15%, dan 25% serta kelompok kontrol negatif dengan akuades, kontrol positif dengan *Alocclair gel* pada masing-masing hewan uji sebanyak dua kali sehari.

## 4.7 Kriteria Penelitian

Kriteria untuk mengetahui perbedaan efektivitas daya hambat *s.mutans* yaitu dengan cara membandingkan kelompok sampel yang telah diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dan sebelumnya diberi perlakuan dengan meneteskan *Chlorhexidine digluconate*, akuades, ekstrak konsentrasi 5%, 15%, dan 25% pada setiap kelompok kontrol dalam cawan petri yang berisi *s.mutans*. Pengukuran sampel menggunakan alat ukur *caliper* (jangka sorong) untuk mengetahui diameter zona hambat. Adapun menurut David dan Stout, kriteria pengukuran zona hambat untuk mengetahui kekuatan hambat dari bakteri adalah sebagai berikut:

1. Zona hambat dengan diameter 5mm atau kurang dikategorikan sebagai agen antibakteri berkekuatan lemah.
2. Zona hambat dengan diameter 5-10mm dikategorikan sebagai agen antibakteri berkekuatan sedang.
3. Zona hambat dengan diameter 10-20mm dikategorikan sebagai agen antibakteri berkekuatan tinggi (baik).
4. Zona hambat dengan diameter 10-20 mm dikategorikan sebagai agen antibakteri berkekuatan tinggi (sangat baik).

Adapun kriteria untuk mengetahui perbedaan efektivitas daya antiinflamasi pada *Rattus novergicus strain wistar* yaitu dengan cara membandingkan kelompok sampel yang telah diukur diameter lesinya. Pengukuran diameter lesi pada mukosa rongga mulut *Rattus novergicus strain wistar* dilakukan setelah tiga hari diberi perlakuan dengan perhidrol 30%. Masing-masing *Rattus novergicus strain wistar* diberi perlakuan sesuai dengan kelompok kontrolnya; kelompok kontrol positif diberi *Aloclair gel*, kelompok kontrol negatif diberi akuades, dan kontrol perlakuan dengan ekstrak konsentrasi 5%, 15%, 25%. Setelah dua hari, dilakukan pengukuran diameter lesi dengan menggunakan alat ukur *caliper* (jangka sorong).

## 4.8 Alat dan Bahan Penelitian

### 4.8.1. Alat Penelitian

- a. *Vacuum rotatory evaporator*
- b. Labu Erlenmeyer
- c. Cawan petri
- d. *Spoit*
- e. *Shaker*
- f. Sentrifugator
- g. Tabung reaksi
- h. Inkubator
- i. *Caliper* (jangka sorong)
- j. Timbangan analitik (OHAUS)
- k. Lumpang
- l. Alu
- m. Ph meter
- n. *Viscometer* Brookfield
- o. *Spindle* no. 64
- p. Kompor
- q. Penangas air
- r. Oven
- s. Autoklaf
- t. Lemari pendingin
- u. Botol minum hewan uji
- v. Baskom persegi untuk kandang hewan uji
- w. Toples kaca

#### **4.8.2. Bahan Penelitian**

- a. Kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*)
- b. Etanol 96%
- c. Bakteri *s.mutans*
- d. *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB)
- e. *Chlorhexidine digluconate* 0.2% (Merek dagang : Minosep)
- f. Akuades
- g. Kertas saring
- h. *Rattus novergicus strain wistar*
- i. Pakan hewan uji
- j. Kawat

- k. Serbuk gergji
- l. Perhidrol 30%
- m. Aloclair gel
- n. Natrium karboksimetilselulosa (Na.CMC)
- o.  $\alpha$ -tokoferol
- p. Kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ )
- q. Gliserin
- r. Sodium Lauroyl Sarcosinate (SLS)
- s. *Oleum Menthae Piperatae* (OMP)
- t. Metil paraben
- u. Propil paraben
- v. Eter
- w. Kain kasa gulung
- x. Label
- y. *Tissue*
- z. Masker
- aa. *Handscoon* biasa
- bb. *Handscoon* steril
- cc. Kapas
- dd. *Aluminium foil*.

#### **4.9 Prosedur Penelitian**

Secara keseluruhan prosedur kerja dalam penelitian ini dimulai dari persiapan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia swingle*), persiapan sampel *s.mutans*, pengujian aktivitas antibakteri, uji aktivitas antiinflamasi, pembuatan formula pasta gigi, dan tahap evaluasi sediaan pasta gigi.

##### **4.9.1 Persiapan Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*)**

Kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) yang digunakan adalah kulit berwarna hijau kekuningan. Limbah kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) diambil didapatkan dari rumah/warung makan di kota Makassar. Kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) yang didapatkan, dikumpulkan dalam kotak plastik ukuran sedang. Kemudian, dilakukan sortasi lalu dicuci dengan memisahkan antara bagian dalam kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*

*swingle*) dengan bulirnya, setelah itu dipotong menjadi bagian yang lebih kecil dan dikeringkan didalam *herbs dryer* sehingga didapatkan simplisia kering.

#### **4.9.2 Ekstraksi Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*)**

Simplisia kering dimaserasi menggunakan etanol 96% selama dua hari, sambil diaduk sesekali didalam toples kaca yang ditutup rapat dengan selotip. Hasil maserasi pertama kemudian disaring dan diganti menggunakan pelarut etanol 96% yang baru. Hal ini dilakukan berulang sampai pelarut terlihat bening yang menandakan bahwa seluruh zat yang terkandung dalam kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) sudah terlarut dalam etanol 96%. Pada penelitian ini, dilakukan pergantian pelarut sebanyak tiga kali, dimana hasil maserasi pertama, kedua dan ketiga digabung dalam satu wadah. Kemudian, hasil maserasi dibuat menjadi ekstrak kental dengan menguapkan pelarut menggunakan *vacuum rotary evaporator* bersuhu 50°C, sehingga ekstrak kental berwarna hijau pekat yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 5%, 15%, dan 25%.

#### **4.9.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri**

Isolat bakteri *S.mutans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin. Kemudian diremajakan dan dikultivasi. Setelah itu bakteri *S.mutans* disuspensikan menggunakan 5 ml air steril. Selanjutnya hasil suspensi sebanyak 1 ml dimasukkan masing-masing kedalam 5 cawan petri. Lalu ditambahkan medium BHIA. Setelah medium BHIA menjadi agar, kertas cakram yang telah dipotong dicelupkan masing-masing pada ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) berkonsentrasi 5%, 15%, dan 25%, *Chlorhexidine* serta akuades selanjutnya diletakkan diatas medium BHIA. Akhirnya cawan petri diletakkan di inkubator selama satu hari.

#### **4.9.4 Pengujian Aktivitas Antiinflamasi**

Hewan uji dibagi secara acak dalam tiga kelompok penelitian yaitu kelompok kontrol negatif menggunakan *aquades*, kontrol positif menggunakan *Aloclair gel*, dan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) konsentrasi 5%, 15%, dan 25%. Hewan uji selanjutnya diberi perlukaan menggunakan perhidrol 30% untuk membentuk ulkus di mukosa bibir bawahnya. Penelitian dilakukan selama

enam hari dengan meneteskan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) dan kontrol pada masing-masing hewan uji sebanyak dua hari sekali.

#### 4.9.5 Pembuatan Formula Pasta Gigi

##### 4.9.5.1 Rancangan Formula Pasta Gigi

Akan dibuat satu formula pasta gigi dengan komposisi dengan konsentrasi bahan aktif disesuaikan dari hasil pengujian efektivitas aktivitas antikaries dan antiinflamasi. Dimana konsentrasi paling efektiflah yang akan dibuat.

**Tabel 4.1 Komposisi Formula Pasta Gigi**

Bahan	Fungsi	Formula		
		F1	F2	F3
Ekstrak Kulit Jeruk Nipis( <i>Citrus Aurantiifolia swingle</i> )	Bahan aktif	5%	15%	25%
Na CMC	Bahan pengikat	6%	6%	6%
$\alpha$ -tokoferol	Antioksidan alami	1%	1%	1%
CaCO <sub>3</sub>	Bahan abrasive	40%	40%	40%
Gliserin	Humektan	10%	10%	10%
SLS	Surfaktan	2%	2%	2%
Mentol	Pemberi aroma	0,02%	0,02%	0,02%
Metil paraben	Bahan pengawet	0,1%	0,1%	0,1%
Propil paraben	Bahan pengawet	0,02%	0,02%	0,02%
Akuades	Pelarut	hingga 100%	hingga 100%	hingga 100%

#### 4.9.5.2 Pembuatan Mucilago Bahan Pengikat

Na CMC 6% dimasukkan ke dalam gelas kimia berisi air suling panas suhu 80°C dan dikocok dengan pengaduk elektrik kemudian ditambahkan dengan air suling dingin dan dikocok kembali hingga terdispersi sempurna (Campuran 1).

#### 4.9.5.3 Tahap Pencampuran

Metil paraben 0,1% dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi gliserin 10% lalu aduk hingga homogen. Tambahkan propil paraben 0,02% ke dalam campuran ini, aduk hingga homogen (Campuran 2). Kemudian campuran 1 dimasukkan ke dalam lumpang yang berisi CaCO<sub>3</sub> 40%, gerus hingga homogen. Setelah itu ditambahkan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia swingle*) kemudian gerus hingga homogen. Selanjutnya dimasukkan ke dalam lumpang secara berturut-turut hingga homogen dengan diselingi penggerusan hingga homogen campuran 2, α-tokoferol 1%, SLS 2% dan terakhir OMP 1 tetes.

#### 4.9.5.4 Evaluasi Sediaan

Pengamatan organoleptik terhadap sediaan pasta gigi selama empat minggu penyimpanan pada suhu kamar dan pada kondisi dipaksakan dengan suhu 5°C dan 35°C masing-masing selama 12 jam selama 10 siklus. Pengukuran Ph sediaan pasta gigi menggunakan Ph meter. Pengukuran viskositas menggunakan Viskometer Brookfield pada kecepatan 50 rpm dengan menggunakan *spindle* nomor 64. Pengujian stabilitas dipercepat dengan menggunakan alat sentrifugasi pada kecepatan 3800 rpm selama 5 jam.

**Tabel 4.2 Parameter Pengujian Stabilitas**

No	Indikator	Parameter
1	Organoleptik	d. Warna: tetap stabil dalam jangka waktu yang lama e. Aroma: mint f. Tekstur: lembut
2	Homogenitas	Tidak terdapat butiran kasar dan tidak terjadi pemisahan antara komponen pasta gigi
3	Ph	4,5-10,5

4	Viskositas	33222-89700 mpas
5	Bentuk Aliran	Dilatan
6	Daya Sebar	5-7 cm
7	Stabilitas Dipercepat	Tidak terlihat perubahan bentuk, aroma, warna, dan homogenitas

---

#### **4.10 Analisis Data**

Analisis data yang digunakan yaitu analisis deskriptif dengan menguraikan diameter zona hambat yang terbentuk sehingga dapat dikategorikan berdasarkan kekuatan hambat dari masing-masing kelompok kontrol. Selanjutnya dilakukan analisis analitik yaitu uji normalitas data dengan uji *Shapiro-wilk*, uji lanjutan *One-way ANOVA*, uji beda lanjut dengan *Post-hoc LSD test*.