

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50% terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*

Steven Wijaya^{1*}, Chandra Susanto², Fredy Zuardi¹

¹Departemen Ilmu Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan Universitas Prima Indonesia

²Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan Universitas Prima Indonesia

INFO ARTIKEL

*Corresponding Author

Email: drg.stevenwijaya@gmail.com

DOI: 10.34012/primajods.v5i1.2566

ABSTRAK

Latar belakang: Salah satu bakteri yang sering ditemukan dalam kasus kegagalan perawatan endodontik dan yang paling resistan adalah *Enterococcus faecalis*. Penggunaan larutan irigasi *chlorhexidine* (CHX) 2% lebih baik melawan bakteri *Enterococcus faecalis* dibandingkan *sodium hypochlorite* (NaOCl) 5,25%. Namun, penggunaan CHX dapat menyebabkan pewarnaan gigi, sensasi terbakar pada mukosa, *xerostomia*, gangguan pengecapan, dan komplikasi sistemik jika tertelan. Lemon merupakan salah satu tanaman obat dan pada bagian kulitnya memiliki senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antibakteri. **Tujuan:** Untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan efektivitas antibakteri dari ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. **Metode:** Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian ini terdiri dari kelompok ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, *chlorhexidine* 2% (kontrol positif), dan DMSO (kontrol negatif). Setiap kelompok memiliki empat sampel. Pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram, lalu hasil diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan kaliper geser. **Hasil:** Rerata dan standar deviasi diameter zona hambat (dalam satuan mm) dari ekstrak kulit lemon konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, *chlorhexidine* 2%, dan DMSO adalah sebagai berikut $6,256 \pm 0,304$, $7,356 \pm 0,262$, $8,438 \pm 0,918$, $11,513 \pm 1,296$, $21,525 \pm 1,184$, dan 0. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kulit lemon yaitu fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid / steroid, tanin, dan saponin. **Kesimpulan:** Ekstrak kulit lemon berbagai konsentrasi memiliki kemampuan antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

Kata kunci: Antibakteri, *Enterococcus faecalis*, kulit lemon

ABSTRACT

Background: One of the most common microorganisms on the failure endodontic case and the most resistant was *Enterococcus faecalis*. The use of 2% chlorhexidine (CHX) irrigation solution was more recommended than 5,25% sodium hypochlorite to inhibit *Enterococcus faecalis*. However, the use of CHX for a long period may lead to teeth discoloration, burning sensation on the mucosa, xerostomia, taste disorder, and systemic complication if swallowed. Lemon is one of the herbal plants and the lemon peel has flavonoid compound which act as antibacterial. **Objective:** To ascertain the secondary metabolite compound and the antibacterial effectiveness of lemon (*Citrus limon*) peel extract against *Enterococcus faecalis*. **Method:** This study was a laboratory experimental research with post test only control group design. The research was grouped by lemon (*Citrus limon*) peel extract with the concentration of 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 2% chlorhexidine, and DMSO. Each of the groups have four samples. The antibacterial activity is tested with disc diffusion method and the inhibition zone formed is measured with caliper. **Result:** The mean and standard deviation of inhibition zone diameter (in mm) of lemon (*Citrus limon*) peel extract with concentration of 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 2% chlorhexidine, and DMSO are $6,256 \pm 0,304$, $7,356 \pm 0,262$, $8,438 \pm 0,918$, $11,513 \pm 1,296$, $21,525 \pm 1,184$, and 0 sequentially. The secondary metabolite compound discovered in the lemon peel extract was phenolic, flavonoid, alkaloid, terpenoid / steroid, tannin, and saponin. **Conclusion:** Lemon (*Citrus limon*) peel extract with various concentrations could

inhibit the growth of *Enterococcus faecalis* bacteria

Keywords: Antibacterial, *Enterococcus faecalis*, lemon peel

PENDAHULUAN

Prinsip perawatan saluran akar gigi atau perawatan endodontik dikenal dengan “Triad Endodontic”, mencakup preparasi rongga akses kavitas, cleaning and shaping saluran akar gigi, dan obturasi. Perawatan endodontik bertujuan untuk membunuh atau menghambat kerja mikroba saluran akar gigi, serta mencegah terjadinya infeksi sekunder.¹ Faktor yang paling sering dan utama berkaitan dengan kegagalan perawatan saluran akar gigi adalah persistensi bakteri, disebabkan preparasi kemomekanik dan pengisian saluran akar yang tidak adekuat.² Saluran akar gigi yang terinfeksi diisolasi dan ditemukan ratusan spesies mikroorganisme.³ Salah satu spesies mikroorganisme yang sering ditemukan pada kasus kegagalan perawatan saluran akar gigi dan paling resisten adalah *Enterococcus faecalis*.⁴ Studi menunjukkan bahwa *Enterococcus faecalis* dapat menginduksi inflamasi dari host melalui sinyal TLR2/TRA6 melalui sistem imun manusia, yang menyebabkan sekresi sitokin proinflamasi.⁵ Kemampuan *Enterococcus faecalis* sebagai biofilm pada dinding saluran akar dan monoinfeksi pada saluran akar yang sudah dirawat tanpa bantuan dari bakteri lain menyebabkan resisten terhadap bahan-bahan antimikrobia.⁶

Irigasi saluran akar memegang peranan penting pada perawatan endodontik yaitu sebagai pelumas pada instrumen, membersihkan debris, mikroorganisme, dan smear layer, serta mencegah pengendapan debris dari apikal.⁷ Bahan irigasi endodontik yang ideal harus cukup kuat untuk melarutkan jaringan vital / nekrotik di dalam saluran akar, mengeliminasi bakteri, serta aman pada jaringan ekstraradikular.⁸ Beberapa bahan irigasi yang sering digunakan di dalam perawatan saluran akar gigi antara lain sodium hypochlorite (NaOCl), Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), hydrogen peroxide (H₂O₂), dan klorheksidin (CHX) 2%.⁹ Di antara bahan tersebut, penggunaan bahan irigasi saluran akar gigi dengan CHX disarankan karena kemampuannya untuk berikatan dengan dentin dan efektifitasnya sebagai antibakteri.¹⁰ Namun, penggunaan klorheksidin yang berlebih dapat menyebabkan pewarnaan pada gigi, sensasi terbakar pada mukosa, xerostomia, gangguan pengecap, dan komplikasi sistemik jika tertelan.¹¹

Saat ini banyak bahan yang diperoleh dari alam dan secara biologis memiliki substansi aktif serta menunjukkan adanya fungsi biologis terhadap kesehatan manusia dan adanya potensi yang tinggi dalam pembuatan obat-obatan yang baru.¹² Menurut WHO, 88% dari penduduk dunia menggunakan obat-obatan tradisional, bahkan 90% dari negara-negara berkembang menggunakan tanaman herbal untuk memelihara kesehatan.¹³ Pengobatan alternatif menjadi perhatian yang sangat penting, mengingat perkembangan dari mikroba patogen yang semakin resistan terhadap antibiotik dan menjadi masalah serius yang dapat mengancam kesehatan masyarakat luas.¹⁴

Lemon telah digunakan sejak jaman purbakala sebagai pengobatan tradisional untuk mengobati tekanan darah tinggi, demam, siklus menstruasi yang tidak beraturan. Selain itu, minyak atsiri dari lemon juga dikenal sebagai pengobatan untuk batuk.¹⁵ Kulit lemon mengandung banyak jenis senyawa seperti saponin, alkaloid, flavonoid, anthraquinon, resin, tannin, terpen, steroid dan fenol yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh.¹⁶ Selama ini, kulit lemon juga hanya menjadi sampah dan menjadi polusi.¹⁷

Menurut penelitian Ali *et al.* (2017), ekstrak kulit lemon terbukti efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* daripada bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli*.¹² Pada penelitian lain, yang dilakukan oleh Harfouch, *et al.* (2019) melakukan pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit lemon 100% terhadap beberapa bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Streptococcus pneumoniae*) dan gram negatif (*Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli*), diperoleh bahwa hasil ekstrak kulit lemon efektif menghambat bakteri gram positif maupun gram negatif, dan aktivitas antibakteri lebih tinggi ditunjukkan pada bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif.¹⁸

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan efektifitas antibakteri dari ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*, dan mengetahui konsentrasi minimum yang paling efektif dari ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) dalam menghambat bakteri

Enterococcus faecalis, serta untuk mengetahui apakah ekstrak kulit lemon bisa digunakan sebagai bahan alternatif irigasi terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan pada beberapa tempat sebagai berikut: determinasi buah lemon dilaksanakan di Herbarium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sumatera Utara; Pembuatan ekstrak kulit lemon dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat ASPETRI Pengda Sumatera Utara; Pengujian antibakteri dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Prima Indonesia (UNPRI). Sampel yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas: Bakteri *Enterococcus faecalis*, *chlorhexidine* 2%, dan berbagai konsentrasi ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*). Sampel yang digunakan pada penelitian ini terbagi menjadi 6 kelompok. Besaran sampel penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Federer dan didapatkan bahwa setiap kelompok perlakuan terdiri dari empat sampel.

Buah lemon yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari pasar buah Brastagi, Kota Medan. Buah lemon yang diperoleh lalu dipisahkan antara kulit dan buah. Kulit lemon yang telah dipisah selanjutnya dikeringkan untuk mendapatkan simplisia (kulit lemon yang sudah kering). Selanjutnya, 150 gram simplisia yang telah dihaluskan kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup, tambahkan etanol 70% sebanyak 1,5 liter, lalu diaduk-aduk selama 6 jam pertama, kemudian diamkan selama 18 jam sambil sesekali diaduk, lalu penyaringan dilakukan dengan menggunakan kapas dan kertas saring, proses ini dilakukan dua kali, namun pada proses yang kedua hanya menggunakan 0,75 liter etanol 70%, sehingga didapatkan hasil maserat I dan maserat II. Kedua hasil maserat ini digabung dan diuapkan dengan alat *rotary evaporator pada suhu* 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dibuat menjadi beberapa konsentrasi, untuk konsentrasi 50% timbang ekstrak kental sebanyak 2,5 gr (50% dari 5gr) lalu dimasukkan ke dalam *beaker glass*, tambahkan DMSO dan aduk-aduk hingga larut, dan tambahkan lagi DMSO hingga volume larutan menjadi 5ml, begitu juga untuk konsentrasi 25%, 12,5%, dan 6,25%.

Pengujian antibakteri diawali dengan pembuatan subkultur bakteri *Enterococcus faecalis* dengan melakukan kultivasi ke media *Nutrient Agar* dengan strik 3 kuadrat, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian, sebanyak 1 koloni murni bakteri dimasukkan ke dalam tabung inokulum berisi NaCl fisiologis, *divortex*, dan disetarakan dengan standar kekeruhan 0,5 Mc. Farland. Selanjutnya tuang *Mueller Hinton Agar* (MHA) sebanyak 20ml ke cawan petri, digoyangkan di atas permukaan meja, dan dibiarkan hingga MHA memadat. Gunakan *cotton swab* steril yang telah direndam suspensi bakteri, lalu gores merata ke seluruh permukaan MHA, letakkan kertas cakram yang telah direndam dengan berbagai konsentrasi kulit lemon, *chlorhexidine* 2%, serta DMSO pada permukaan media, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. pengujian aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona bening / hambat yang terbentuk dan diukur menggunakan kaliper geser. Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat apakah data hasil ini berdistribusi normal atau tidak. Jika hasil berdistribusi normal, maka data penelitian dilanjutkan dengan ujia *one way ANOVA* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna pada semua kelompok. Bila terdapat perbedaan yang bermakna, maka data penelitian dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD untuk melihat perbedaan yang bermakna di antara kedua kelompok penelitian.

HASIL

Identitas dan kebenaran suatu tanaman dapat diketahui melalui proses determinasi. Determinasi dapat dilakukan dengan menggunakan tanaman utuh maupun bagian dari tanaman. Pada penelitian ini, proses determinasi menggunakan buah lemon sebagai media. Proses determinasi dilakukan di Herbarium Medanense FMIPA Universitas Sumatera Utara. Adapun hasil determinasi terhadap buah lemon adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Kelas : Dicotyledoneae
 Ordo : Sapindales
 Famili : Rutaceae
 Genus : Citrus
 Spesies : *Citrus limon* (L.) Osbeck
 Nama Lokal : Buah Lemon

Uji skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*). Pengujian skrining fitokimia ini dilakukan secara kualitatif. Hasil pengujian skrining fitokimia pada ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*)

Pengujian	Reagensia	Hasil	Pengamatan
Fenolik	FeCl ₃	+	Hitam(Endapan)
	Pb(CH ₃ COO) ₂	+	Kuning
Flavonoid	Alkaline (NaOH)	+	Kuning
	Sinoda Test (Mg+HCl)	+	Merah Tua
Alkaloid	Mayer	-	-
	Dragendord	+	Merah (Endapan)
Terpenoid/Steroid	Liberman-Burchard	+	Merah Bata
	Salkowski	+	Endapan Coklat/Keemasan
Tanin	FeCl ₃	+	Endapan Hitam
Saponin	Uji Busa	+	Berbusa

+ = Positif (Mengandung golongan senyawa)
 - = Negatif (Tidak mengandung golongan senyawa)

Tabel 2. Rerata dan standar deviasi diameter zona hambat dari ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, *Chlorbexidine* 2% (kontrol positif), dan DMSO (kontrol negatif) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*

Kelompok Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)				
	1	2	3	4	Rerata ± SD
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 6,25%	6,60	6	6	6,425	6,256 ± 0,304
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 12,5%	7,175	7,65	7,50	7,10	7,356 ± 0,262
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 25%	8,45	8,7	9,4	7,20	8,438 ± 0,918
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 50%	12,95	10,10	10,80	12,20	11,513 ± 1,296
<i>Chlorbexidine</i> 2% (K+)	23,25	20,75	20,75	21,35	21,525 ± 1,184
DMSO (K-)	-	-	-	-	0

K+ = kontrol positif; K- = kontrol negatif

Tabel 3. Hasil uji statistik *Shapiro-Wilk*

Kelompok Perlakuan	n	p value
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 6,25%	4	0,194
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 12,5%	4	0,475
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 25%	4	0,748
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 50%	4	0,733
<i>Chlorbexidine</i> 2% (K+)	4	0,079
DMSO (K-)	4	0

Berdasarkan hasil uji statistik *Shapiro-Wilk* pada tabel 3, menunjukkan bahwa semua data pada kelompok perlakuan berdistribusi normal ($p > 0,05$). Selanjutnya, analisis data penelitian ini dilanjutkan dengan uji statistik *one way ANOVA* dan *post hoc LSD*.

Tabel 4. Uji statistik *one way ANOVA* pada perbedaan aktivitas ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, *chlorbexidine* 2% (kontrol positif), dan DMSO (kontrol negatif) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*

Kelompok Perlakuan	Rerata ± SD	
	Diameter Zona Hambat (mm)	p value
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 6,25%	6,256 ± 0,304	0,000
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 12,5%	7,356 ± 0,262	
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 25%	8,438 ± 0,918	
Ekstrak kulit lemon konsentrasi 50%	11,513 ± 1,296	
<i>Chlorbexidine</i> 2% (K+)	21,525 ± 1,184	
DMSO (K-)	0	

Berdasarkan hasil uji statistik *one way ANOVA* pada tabel 4, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efektivitas antibakteri yang signifikan ($p < 0,05$) dari ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, *chlorbexidine* 2% (kontrol positif), dan DMSO (kontrol negatif) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Dari hasil penelitian tersebut, maka analisis data penelitian dilanjutkan dengan uji statistik *post hoc* LSD yang bertujuan untuk menganalisis perbedaan efektivitas antibakteri yang terdapat di antara kedua kelompok perlakuan dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Uji statistik *post hoc* LSD pada perbedaan efektivitas antibakteri di antara kedua kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan		p value
I	II	0,076
	III	0,002
	IV	0,000
	V	0,000
	VI	0,000
	II	III
IV		0,000
V		0,000
VI		0,000
III	IV	0,000
	V	0,000
	VI	0,000
IV	V	0,000
	VI	0,000
V	VI	0,000

Keterangan :

- Kelompok I = Ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25%
 Kelompok II = Ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 12,5%
 Kelompok III = Ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 25%
 Kelompok IV = Ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 50%
 Kelompok V = *Chlorbexidine* 2% (kontrol positif)
 Kelompok VI = DMSO (kontrol negatif)

Berdasarkan hasil uji statistik *post hoc* LSD pada tabel 5, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efektivitas antibakteri yang signifikan ($p < 0,05$) antara semua kelompok perlakuan, kecuali antara kelompok I dengan kelompok II, serta kelompok II dengan kelompok III.

PEMBAHASAN

Perawatan endodontik pada dasarnya cukup dapat diprediksi dengan tingkat keberhasilan yang dilaporkan mencapai 86-98%.^{2,19} Meskipun fakta menunjukkan bahwa tingkat keberhasilan perawatan endodontik itu tinggi, setiap klinisi harus siap untuk melakukan perawatan ulang endodontik jika perawatan awalnya gagal.²⁰

Beberapa faktor yang dikaitkan dengan kegagalan perawatan endodontik antara lain persistensi bakteri (*intra canal* dan *extra canal*), obturasi saluran akar gigi yang tidak adekuat, obturasi saluran akar gigi yang

berlebih, *coronal seal* yang tidak baik, saluran akar gigi yang tidak terawat, kesalahan prosedur iatrogenik, dan komplikasi dari instrumentasi saluran akar gigi.^{19,21} Pada kasus infeksi primer dan sekunder sering menunjukkan kehadiran bakteri *Enterococcus faecalis*, yang dapat bertahan hidup di dalam saluran akar gigi, karena kemampuannya untuk masuk ke dalam tubulus dentin dan melekat pada kolagen manusia.³ *Enterococcus faecalis* membentuk biofilm yang membantu bakteri lebih resistan terhadap penghancur mikroba.²²

Tujuan perawatan endodontik adalah untuk menghilangkan jaringan vital dan nekrotik, menghilangkan mikroorganisme termasuk bakteri *Enterococcus faecalis*, serta produk mikrobial dari sistem saluran akar gigi.²³ Penggunaan larutan irigasi dan medikamen di dalam perawatan saluran akar gigi dilakukan untuk membantu menghilangkan mikroorganisme yang tidak dapat dihilangkan melalui preparasi mekanis.²⁴ Beberapa bahan irigasi yang umumnya digunakan antara lain *sodium hypochlorite* (NaOCl), *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), *chlorbexidine* (CHX), dan MTAD.^{9,25} Di antara bahan irigasi tersebut, *chlorbexidine* 2% lebih baik melawan bakteri *Enterococcus faecalis* dibandingkan dengan NaOCl 5,25%.²⁶ Namun, *chlorbexidine* tidak dapat menghilangkan jaringan organik seperti sisa-sisa pulpa gigi dan *smear layer* dari saluran akar gigi.^{10,27}

Tanaman obat telah digunakan selama beribu-ribu tahun sebagai penanganan infeksi terhadap mikroba.²⁸ Menurut *World Health Organization* (WHO), ada sekitar 4 miliar (sekitar 80%) penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk merawat kesehatannya.²⁹ Masalah resistensi pada antibiotik yang tersedia menjadi suatu potensi penggunaan tanaman herbal sebagai obat.¹⁷

Lemon merupakan famili *Rutaceae* yang memiliki peranan penting sebagai makanan maupun tanaman obat dan dibudayakan secara luas di seluruh penjuru dunia.¹⁸ Minyak atsiri pada buah lemon dan kulit lemon telah dilaporkan memiliki sumber bahan bioaktif seperti vitamin C, flavonoid, limonoid, dan asam folat, bahkan beberapa studi melaporkan minyak atsiri ini bisa digunakan untuk mencegah penyakit kardiovaskular.³⁰ Di antara bahan bioaktif tersebut, flavonoid memiliki efek sebagai antioksidan, antikarsinogenik, dan antimikrobial.³¹ Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk menguji efektivitas antibakteri dari kulit lemon yang mengandung senyawa flavonoid.

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50% sebagai bahan alami untuk menguji efektivitas antibakterinya terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Kelompok perlakuan pada penelitian ini terdiri dari empat kelompok ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%, satu kelompok positif (*chlorbexidine* 2%), dan satu kelompok negatif (DMSO).

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia yang ditunjukkan pada tabel 1, diperoleh bahwa ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid / steroid, tanin, dan saponin. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian John *et al.* (2017), yang menunjukkan bahwa ekstrak methanol kulit lemon memiliki senyawa saponin, fenol, flavonoid, *diterpenes*, *phytosterols*, dan *cardiac glycosides*.³² Penelitian lain Rana *et al.* (2017) juga menunjukkan bahwa ekstrak kulit lemon memiliki senyawa karbohidrat, alkaloid, flavonoid, steroid, *chlorides*, *tannic acids*, dan fenolik.³³

Menurut Nurhayati dkk. (2020), pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode antara lain metode dilusi, metode difusi agar, dan metode difusi dilusi.³⁴ Metode difusi merupakan metode yang paling sering digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri. Metode difusi terbagi menjadi tiga yaitu metode difusi sumuran, metode difusi cakram, dan metode difusi silinder. Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram dengan mengamati diameter zona bening/hambat yang terbentuk disekitar cakram, kemudian diameter zona hambat diukur dengan menggunakan kaliper geser.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 2, diperoleh bahwa *chlorbexidine* 2% memiliki rerata dan standar deviasi diameter zona hambat terbesar dan ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25% memiliki rerata dan standar deviasi diameter zona hambat terkecil. Sedangkan DMSO (kontrol negatif) tidak memiliki diameter zona hambat terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Diameter zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Hal ini dikaitkan dengan kandungan ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) memiliki senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antibakteri.³⁵

Selanjutnya, hasil rerata diameter zona hambat dilakukan uji statistik *Shapiro-Wilk* dan diperoleh bahwa data penelitian ini berdistribusi normal (p value > 0,05). Berdasarkan hasil uji statistik *one way ANOVA* pada tabel.4, ditunjukkan bahwa terdapat perbedaan efektivitas antibakteri yang signifikan (p value < 0,05) antara seluruh kelompok perlakuan. Penilaian keefektifan aktivitas antibakteri dilihat berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk. Menurut penelitian Davis dan Stout (1971), klasifikasi respon zona hambat antibakteri terdiri dari respon sangat kuat (diameter > 20 mm), respon kuat (diameter 11-20 mm), respon sedang (diameter 5-10 mm), respon lemah (diameter < 5 mm).³³ Berdasarkan klasifikasi tersebut, maka ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25%, 12,5%, dan 25% memiliki respon hambat sedang dan ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 50% memiliki respon hambat kuat. Sedangkan *chlorbexidine* 2% memiliki respon hambat sangat kuat.

Selanjutnya, hasil uji statistik *post hoc* LSD pada tabel 5 diperoleh bahwa terdapat perbedaan efektivitas antibakteri yang signifikan (p value < 0,05) antara semua kedua kelompok perlakuan, kecuali antara kelompok ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 6,25% dengan kelompok ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 12,5%, serta kelompok ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 12,5% dengan kelompok ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) konsentrasi 25%. Hal ini dikarenakan selisih rerata diameter zona hambat antara kedua kelompok perlakuan tersebut kecil yaitu lebih kurang 1 mm.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, maka disimpulkan bahwa ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50% memiliki kemampuan sebagai antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, masing-masing dengan rerata dan standar deviasi diameter zona hambat yang terbentuk sebagai berikut $6,256 \pm 0,304$ mm, $7,356 \pm 0,262$ mm, $8,438 \pm 0,918$ mm, $11,513 \pm 1,296$ mm, dan $21,525 \pm 1,184$ mm. Adapun senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kulit lemon (*Citrus limon*) yaitu flavonoid, fenolik, saponin, steroid / terpenoid, alkaloid, serta tanin.

REFERENSI

1. Yongki, H-W; dan Karlina, S. 2017. *Nonsurgical Endodontik Retreatment of Maxillary First Premolar : A Case Report*. Denta Jurnal Kedokteran Gigi. 11(1):8
2. Prada, H; Mico-Munoz, P; Giner-Lluesma, T, Mico-Martinez, P, ColladoCastellan, N; Manzano-Saiz, A. 2019. *Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 1:24(3):e364-72
3. Valera, M-C; Oliveira, S-A; Maekawa, L-E. 2016. *Action chlorbexidine, zingiber officinale, and calcium hyroxide on candida albicans, enterococcus faecalis, escherichia coli, and endotoxin in the root canals*. Jp-journals10024-1812
4. Djuanda, R; Helmika, V-A; Christabella, F; Pranata, N.; Sugiaman, V-K. 2019. *Potensi Herbal Antibakteri Cuka Sari Apel terhadap Enterococcus faecalis sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar*. *Sound of Dentistry*. 4(2):24-40
5. Najafi, K; Ganbarov, K; Gholizadeh, P; Tanomand, A; Rezaee, M-A; Kafil, H-S. 2019. *Oral cavity infection by Enterococcus faecalis: virulence factors and pathogenesis*. *Reviews in Medical Microbiology*. 31(2):51-60
6. Alghamdi, F; and Shakir, M. 2020. *The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review*. *Cureus*. 12(3):e7257
7. Susila, A; and Minu, J. 2019. *Activated Irrigation vs. Conventional non-activated Irrigation in Endodontics – A Systematic Review*. *Ouropean Endodontic Journal*. 3:96-110
8. Bukhari, S; and Babaeer, A. 2019. *Irrigation in Endodontics: A Review*. *Current Oral Health Reports*. 6:367-376
9. Endrowahyudi, H; Ardy, E-S; Nawawi, A-P. 2019. *Potensial Hambat Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) Terhadap Pertumbuhan Enterococcus faecalis (Inibitory Potency of Mangosteen Peel Extract (Garcinia mangostana L.) ON Enterococcus faecalis GROWTH)*. *Medika Kartika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 2(2):123-134
10. Jaiswal, N; Sinha, D-J; Singh, U-P; Singh, K; Jandial, U-A; and Goel, S. 2017. *Evaluation of antibacterial efficacy of Chitosan, Chlorbexidine, Propolis and Sodium hypochlorite on Enterococcus faecalis biofilm: An in vitro study*. *J Clin Exp Dent*. 9(9):e1066-74
11. Nazemismalman, B; Vahabi, S; Yazdinejad, A; Haghghi, F; Jam, M-S; Heydari, F. 2018. *Comparison of antimicrobial effect of Ziziphora tenuior, Dracocephalum moldavica, Ferula gummosa, and Prangos ferulacea essential oil with chlorbexidine on Enterococcus faecalis: An in vitro study*. *Dental Research Journal*. 15(2):111-116
12. Ali, J; Biswajit D, Trideep S. 2017. *Antimicrobial activity of lemon peel (Citrus Limon) Extract*. 9(4). ISSN – 0975-7066
13. Sianipar, E-A. 2021. *The Potential of Indonesian Traditional Herbal Medicine as Immunomodulatory Agents: A Review*. *International Journal of Obarmaceutical Sciences and Research*. 12(10):5229-5237

14. Alkhulaifi, M-M; Alshehri, J-H; Alwehaibi, M-A; Awad, M-A; Al-Enazi, N-M; Aldosari, N-S; Hatamleh, A-A; Abdel-raouf, N. 2020. *Green synthesis of silver nanoparticles using Citrus limon peels and evaluation of their antibacterial and cytotoxic properties. Saudi Journal of Biological Sciences.* 27:3434-3441
15. Klimek-Szczykutowics, M; Szopa, A; Ekiert, H. 2020. *Citrus limon (Lemon) Phenomenon-A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies. Plants.* 9:119
16. Verdiana, M; Widarta, I-W-R; Permana, I-D-G-M. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). 7(4):213-222
17. Henderson, A-H; Edy, F; I Nyoman, E-L. 2018. *Antimicrobial activity of lemon (citrus limon) peel extract against escherichia coli.* 39(1):268-273
18. Harfouch, R-M; Janoudi, H; Muhammad, W; Hammami, A; Chouman, F. 2019. *In Vitro Antibacterial Activity of Citrus limon Peel Extracts against Several Bacterial Strains. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research;* 11(7):48-51
19. Tabassum, S; and Khan, F-R. 2016. *Failure of endodontic treatment: The usual suspect. European Journal of Dentistry.* 10:144-147
20. Prayogo, K; Wahjuningrum, D-A; Subiyanto, A. 2019. *Endodontic retreatment in case of failure: case report. Conservative Dentistry Journal.* 9(2):109-111
21. Nagpal, J; Chhibber, R; Sindhu, B; Mahajan, P; Manhas, S; Makkar, S. 2020. *Endodontic Retreatment – A Nightmare to Dentist : An Overview. Journal of Current Medical Research and Opinion.* 03(07):494-502
22. Kalaiselvam, R; Soundararajan, K; Rajan, M-R. 2019. *Comparative evaluation of the anti – bacterial efficacy of herbal medicaments and synthetic medicaments against enterococcus faecalis using real – time polymerase chain reaction.* 11(7):e5228
23. Topbas, C; and Adiguzel, O. 2017. *Endodontic Irrigation Solutions: A Review. International Dental Research.* 7(3):54-61
24. Dewiyani, S; dan Palupi. 2019. *Distribusi Frekuensi Pulpitis Reversibel dan Pulpitis Ireversibel di RSGM FKG Moestopo pada Tahun 2014-2016 (Berdasarkan Jenis Kelamin, Usia dan Lokasi Gigi). Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran FKG UPDM (B).* 15(2):41-46
25. Abraham, S; Dr. Raj, J-D; Venugopal, M. 2015. *Endodontic Irrigants: A Comprehensive Review. Journal of Pharmaceutical Science and Research.* 7(1):5-9
26. Mohammadi, Z; Shalavi S; Kinoshita JI; Giardino L; Gutmann JL; Banihashem Rad S; Udoye CI; Jafarzadeh H. 2021. *A Review on Root Canal Irrigation Solutions in Endodontics. J Dent Mater Tech.* 10(3):121-132
27. Mruzynska, M; and Kanaffa-Kilijanska, U. 2015. *Irrigants Used in Endodontic Treatment – Review of the Literature. Dent. Med. Probl.* 52(4):491-498
28. Oikeh, E-I; Oviasogie, F-E; Omoregie, E-S. 2020. *Quantitative phytochemical analysis and antimicrobial activities of fresh and dry ethanol extracts of Citrus sinensis (L.) Osbeck (sweet Orange) peels. Clinical Phytoscience.* 6:46
29. Afroja, S; Falgunee, F-N; Jahan, Mst. M; Akanda, K-M; Mehjabin, S; Parvez, G.M.-M. 2017. *Antibacterial Activity of Different Citrus Fruits. Science Arena Publications.* 2(1): 25-32
30. Mehmood, T; Afzal, A; Anwar, F; Memon, N; Memon, A-A; Qadir, R. 2020. *Variation in phenolic acids and antibacterial attributes of peel extract from ripe and unripe (Citrus limon (L.) Osbeck) fruit. Journal of Food Measurement and Characterization.* 14:1325-1332
31. Echeverria, J; Opaza, J; Mendoza, L; Urzua, A; Wilkens, M. 2017. *Structure-Activity and Lipophilicity Relationships of Selected Antibacterial Natural Flavones and Flavonones of Chilean Flora. Molecules.* 22(4):608
32. John, S; Monica, S-J; Priyadarshini, S; Arumugam, P. 2017. *Investigation of phytochemical profile of Citrus limonum peel extract. International Journal of Food Science and Nutrition.* 2(1):65-67
33. Rana, S; and Dixit, Dr-S. 2017. *SCREENING OF PHYTOCHEMICALS IN CITRUS LIMONUM PEEL EXTRACT TO EVALUATE ITS ANTIMICROBIAL POTENTIAL. International Journal of Natural Products Research.* 7(2):7-16
34. Nurhayati, L-S; Yahdiyani, N; Hidayatulloh, A. 2020. *Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. Jurnal Teknologi Hasil Peternakan.* 1(2):41-46
35. Alibasyah, Z-M; Ningsih, D-S; Sinda, M-P. 2020. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Biduri (Calotropis gigantea) Terhadap Aggregatibacter actinomycetemcomitans ATCC 29523. Cakradonya Dent J.* 12(1):56-63.