

EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) DAN DAUN STEVIA SEBAGAI OBAT KUMUR NON ETANOL

¹Luthfia Dyah Puspita Wulansari, ¹Shafira Putri Aliantrie, ¹Agung Rifai Windi Astanto, ¹Kun Harismah

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta Jl. A. Yani Pabelan Kartasura Surakarta, Indonesia
Email: kun.harismah@ums.ac.id

Abstrak

Selain pasta gigi produk obat kumur juga dapat digunakan dalam meningkatkan kebersihan rongga mulut. Untuk membuat obat kumur diperlukan bahan halal tanpa etanol (alkohol), sehingga dipilih bahan alternatif untuk menggantikan peranan etanol berupa bahan alami yaitu tanaman stevia dan jeruk nipis. Stevia selain bermanfaat sebagai pemanis rendah kalori juga mempunyai kemampuan antibakteri karena mengandung senyawa steviosida dan rebaudiosida. Sedangkan jeruk nipis mengandung flavonoid yang mempunyai kemampuan dapat menurunkan indeks plak pada gigi. Tujuan dari penelitian ini adalah memformulasikan ekstrak daun stevia dan jeruk nipis menjadi sediaan obat kumur non etanol yang memenuhi persyaratan pH dan menguji perbedaan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap satu faktor yaitu variasi ekstrak daun stevia (F1= 40, F2= 50 dan F3= 60 bagian) dan menambahkan ekstrak jeruk nipis. Uji pH menggunakan pH meter Ohaus sedangkan uji antibakteri menggunakan metode difusi dari Kirby-Bauer tes sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan obat kumur ekstrak daun stevia dan jeruk nipis mempunyai pH yang masuk dalam range pH obat kumur herbal yaitu 5-7. Aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* pada F1 menghasilkan zona hambat sebesar 1,20 mm, F2= 2,00 mm dan F3= 3,10 mm. Dapat disimpulkan bahwa sediaan obat kumur jeruk nipis dan ekstrak stevia memenuhi persyaratan fisik dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Semakin banyak ekstrak daun stevia yang ditambahkan maka semakin besar zona hambatnya.

Kata Kunci: antibakteri, jeruk nipis, obat kumur, *Streptococcus mutans*, stevia

1. PENDAHULUAN

Obat kumur merupakan suatu produk yang digunakan untuk meningkatkan kebersihan rongga mulut. Mulut yang dibiarkan dalam keadaan kotor memungkinkan menjadi tempat berkembangbiaknya bakteri penyebab bau mulut hingga karies gigi (Talumewo dkk, 2015). Ada beberapa cara yang digunakan untuk mengontrol plak dalam kehidupan sehari-hari, salah satunya dengan obat kumur (Supriyana dkk, 2019). *Streptococcus mutans* adalah salah satu mikroorganisme yang banyak ditemukan pada rongga mulut dan juga menjadi penyebab utama terjadinya karies gigi dan penyakit gigi lainnya (Manikam dkk, 2017). Kemampuan *Streptococcus mutans* menempel pada sel inang disebut *adhesin* atau faktor virulensi oleh bakteri yang berpotensi imunogenik (Supriyana dkk, 2019). Bakteri *Streptococcus mutans* juga memiliki biofilm yang rumit sehingga membutuhkan usaha lebih dalam membersihkan area pada gigi tertentu selama menyikat gigi. Maka dari itu, digunakan metode yang lebih udah dalam menghilangkan plak selain dengan menyikat gigi yaitu dengan menggunakan obat kumur. Obat kumur juga terbukti efektif dalam mengendalikan dan mengobati penyakit periodontitis (Kerdar et al., 2019).

Obat kumur dapat terbuat dari bahan kimia atau herbal yaitu dari bahan alam. Obat kumur herbal atau bebas alkohol terdiri dari natrium klorida, natrium bikarbonat, zat penyedap kemudian digunakan polisorbat sebagai agen penyedap dan air (Chowdurry et al., 2013). Namun kenyataannya, produk obat kumur yang tersebar di pasaran banyak yang mengandung alkohol. Obat kumur yang mengandung alkohol sebesar 25% atau bahkan lebih mempunyai resiko penyakit kanker mulut sebesar 50%. Oleh karena itu penggunaan obat kumur dengan

menggunakan bahan herbal lebih disarankan karena memiliki efek samping yang rendah sehingga aman untuk digunakan (Pertiwi dkk, 2017).

Penambahan bahan berkhasiat pada obat kumur diharapkan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu bahan herbal yang dapat ditambahkan pada obat kumur non etanol adalah stevia dan jeruk nipis. Zat *stevioside* yang terkandung dalam daun *Stevia rebaudiana* memiliki enzim yang berfungsi untuk menginaktivasi dekstran sukrosa sehingga dapat menghambat kerja fermentasi bakteri kariogenik. Zat tersebut juga tidak dapat difermentasi oleh bakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Zat aktif lainnya pada daun *Stevia rebaudiana* seperti alkaloid, tannin dan flavonoid juga memiliki efek antibakteri sehingga dapat menghambat mekanisme pertumbuhan bakteri (Putri dkk, 2017). Tingkat kemanisan dari ekstraksi daun *Stevia Rebaudiana* terbukti lebih tinggi daripada gula tebu yaitu 200-300 kali namun tetap rendah kalori, sehingga tidak menyebabkan kanker dan karies gigi dan sangat cocok digunakan sebagai bahan pemanis dalam pembuatan obat kumur herbal antiseptik (Setiawan dkk, 2018). Daun *Stevia rebaudiana* juga mengandung bioaktif yang signifikan sehingga dapat digunakan untuk pengobatan diabetes dan penuaan (Harismah et al., 2018).

Sedangkan ekstrak dari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mampu menghambat pertumbuhan *planktonik*, dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai inhibitor plak gigi karena memiliki aktivitas anti bakteri. Keasaman yang tinggi pada ekstrak jeruk nipis juga terbukti dapat menghancurkan sel-sel HIV. Telah dilakukan studi mengenai evaluasi fitokimia dan aktivitas antibakteri dari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) pada beberapa mikroorganisme yang diisolasi dari gigi manusia (Nata'ala et al., 2018). Berdasarkan penelitian Ladytama dkk pada tahun 2014 pemberian larutan ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) pada sediaan obat kumur dengan menggunakan konsentrasi 20%, 40% dan 60% menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar konsentrasinya, maka semakin besar penurunan plak pada gigi (Ladytama dkk, 2014).

Selain itu, terdapat spesies tanaman berbunga lainnya yaitu keluarga *Scrophulariaceae* atau biasa dikenal *Scrophularia striata* yang berasal dari Iran dan efektif dalam mengobati penyakit periodontitis kronis atau peradangan pada gusi dan mulut (Kerdar et al., 2019).

2. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Universitas Muhammadiyah Surakarta. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris. Penelitian ini menggunakan metode difusi agar (difusi Kirby dan Bauer) dan media yang digunakan adalah media *Nutrient Agar* (NA) dengan tiga perlakuan terdiri dari ekstrak daun stevia 40 ml, 50 ml dan 60 ml. Bakteri uji yang digunakan adalah *Streptococcus mutans*.

2.1. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari autoklaf, batang pengaduk, botol kaca, cawan petri, corong kaca, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, hot plate, inkubator, kawat ose, kaca arloji, kertas saring, labu ukur, magnetic stirer, mikro pipet, neraca analitik, oven, pembakar bunsen, penangas, pH meter, piknometer, pisau, saringan, tabung reaksi, termometer, yellow tip. Sedangkan bahan yang digunakan adalah aluminium foil, akuades, bakteri *Streptococcus mutans*, daun stevia, jeruk nipis, Nutrient Agar (NA).

2.2. Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi Daun Stevia

Daun stevia dikeringkan dengan bantuan sinar matahari agar kadar airnya berkurang, kemudian dipisahkan dari batangnya. Setelah itu dimasukkan ke dalam penangas kemudian ditambahkan akuades secukupnya hingga penangas terendam sebagian. Selanjutnya dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit sambil diaduk kemudian di saring menggunakan kertas saring.

2. Pembuatan Obat Kumur

Penelitian ini dilakukan dengan metode infundasi karena kandungan yang terdapat di dalam bahan cukup sederhana dan membutuhkan pengerjaan yang mudah. Penelitian ini menggunakan variasi massa ekstrak stevia. Formulasi sediaan obat kumur dapat dilihat pada Tabel 1, dengan modifikasi dari formula Rasyadi (Rasyadi, 2018).

Tabel 1. Formulasi sediaan obat kumur

Bahan	F1	F2	F3
Ekstrak Stevia (mL)	40	50	60
Larutan Ekstrak Jeruk Nipis (mL)	2	2	2
Akuades (g)	58	48	38
Total	100	100	100

Pembuatan obat kumur formula 1 diawali dengan memotong jeruk nipis untuk diambil ekstraknya kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 250 ml untuk diambil sebanyak 2 ml. Pindahkan ke dalam wadah yaitu botol kaca. Kemudian dimasukkan juga ke dalam botol kaca yaitu ekstrak daun stevia yang telah dilarutkan terlebih dahulu dalam 250 ml aquadest. Kemudian larutan ekstrak jeruk nipis dan ekstrak daun stevia dicampur hingga larut dan ditambahkan aquadest hingga total larutan mencapai 100 ml. Perlakuan ini diulang untuk formula 2-3 dengan penambahan ekstrak stevia sesuai variasi yang di uji.

3. Evaluasi Formula Obat Kumur

a. Uji pH (Derajat Keasaman)

Pemeriksaan pH dilakukan dengan menggunakan pH meter Ohaus yang telah dikalibrasi dengan menggunakan larutan *buffer* standar dan pH 7. pH meter dicelupkan ke dalam obat kumur selama beberapa menit. Pengukuran dilakukan pada suhu ruangan.

b. Uji Efektivitas Antibakteri

1) Sterilisasi

Pada uji antibakteri perlakuan harus dalam keadaan steril, untuk itu semua alat dan bahan yang digunakan harus dalam keadaan steril. Alat-alat seperti botol kaca, corong kaca, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit. Sedangkan cawan petri dan tabung reaksi terlebih dahulu dibungkus menggunakan kertas selanjutnya disterilisasi menggunakan oven selama 15 menit. Tujuan dari sterilisasi yaitu untuk membunuh mikroorganisme yang ada pada alat, karena dikhawatirkan akan mengganggu jalannya penelitian.

2) Pengenceran Bakteri *Streptococcus mutans*

Bakteri *Streptococcus mutans* yang telah didapatkan diambil dengan kawat ose steril lalu di pindahkan ke dalam tabung reaksi yang sudah terdapat aquadest steril.

3) Pembuatan Media

Dimasukkan 1,35 gram media agar *Nutrient Agar* (NA) ke dalam erlenmeyer, dilarutkan dengan 45 ml aquadest yang diikuti dengan pemanasan dan pengadukan.

4) Uji Efektivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran

Siapkan 3 cawan petri, dituang medium NA sebanyak 15 ml kedalam masing- masing cawan petri. Kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Dicelupkan kapas lidi steril kedalam suspensi bakteri *Streptococcus mutans*, ditunggu sebentar supaya cairan dapat meresap kedalam kapas, kemudian lidi diangkat dan diperas dengan menekankan pada dinding tabung bagian dalam sambil diputar-putar. Diusapkan pada permukaan medium NA sampai seluruh permukaan tertutup rapat, diinkubasi selama 15 menit supaya suspensi bakteri meresap kedalam agar. Kemudian cawan petri dilubangi menggunakan yellow tip sebanyak 3 sumuran, pada masing-masing cawan petri lalu dimasukkan larutan uji sediaan obat kumur sebanyak 10 μ mL dan diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menghitung diameter zona hambat pada setiap formula.

4. Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis data kualitatif berupa data deskriptif dan diaplikasikan dalam bentuk tabel dan grafik yang diperoleh dari pengamatan langsung oleh peneliti terhadap uji pH (derajat keasaman) dan uji efektivitas antibakteri.

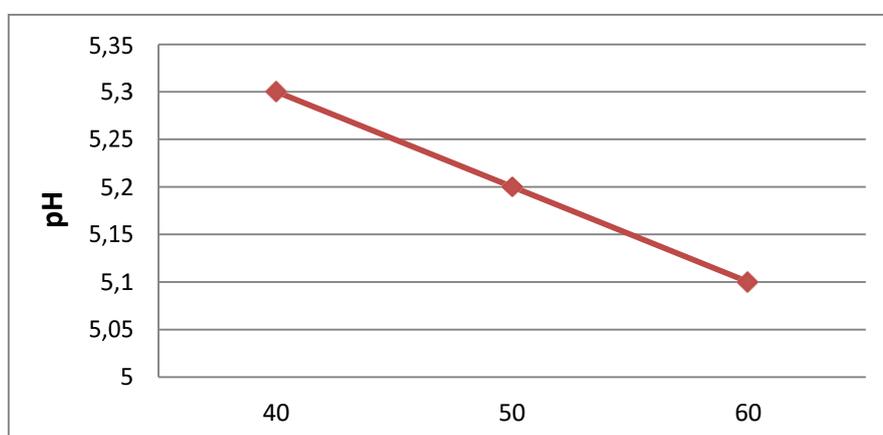
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil pH Obat Kumur

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya perbedaan nilai pH pada tiap-tiap formula obat kumur. Nilai pH sangat mempengaruhi jenis bakteri yang dapat tumbuh, kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum yaitu sekitar 6,5-7,5. Oleh karena itu, nilai pH dari formula obat kumur harus berada diluar range nilai pH optimum pertumbuhan bakteri, mengingat sifat formula obat kumur yang diinginkan bersifat antibakteri. Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh pada semua sampel berkisar antara 5,1- 5,3.

Tabel 2. Nilai pengukuran derajat keasaman (pH) obat kumur

Stevia (mL)	pH
40	5,3
50	5,2
60	5,1



Gambar 1. Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) obat kumur

Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa pH pada sediaan obat kumur ekstrak jeruk nipis dan stevia cenderung asam. Hal ini dipengaruhi oleh kandungan asam sitrat dalam jeruk nipis yang memiliki pH asam berkisar antara 2,48-2,5 (Rochmah dkk, 2014). Selain itu dapat juga dipengaruhi oleh pH dari stevia yaitu berkisar antara 5-6, sehingga semakin banyak konsentrasi ekstrak stevia yang diberikan maka semakin turun nilai pH dari formula obat kumur. Dari hasil analisis nilai pH pada sediaan diketahui bahwa nilai pH berada diluar range pH optimum pertumbuhan bakteri, sehingga formula sediaan obat kumur ekstrak jeruk nipis dan stevia dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ada di rongga mulut yaitu bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan bakteri utama penyebab karies gigi.

3.2. Hasil Uji Efektivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan cara mengukur zona hambat yang dapat dilakukan oleh obat kumur terhadap perkembang biakkan bakteri *Streptococcus mutans*. Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa formula obat kumur stevia dengan variasi konsentrasi secara berurutan sebesar 40 mL, 50 mL, dan 60 mL menghasilkan diameter hambat antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Tabel 3. Zona Hambat Bakteri Obat Kumur Stevia

Stevia (mL)	X' (mm)
40	1,20
50	2,00
60	3,10

Hasil pengujian menunjukkan terjadi perbedaan kemampuan daya hambat terhadap bakteri antar formula karena dipengaruhi adanya perbedaan dalam penambahan larutan infusa daun stevia. Hal tersebut dikarenakan terdapat kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak stevia seperti steviosida, terpenoid, alkaloid, dan flavanoid yang semakin tinggi sehingga mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans*. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Supriyana dkk (2019) mengenai kandungan flavanoid pada sediaan obat kumur jinten hitam. Dikatakan bahwa flavanoid jinten hitam memiliki aktivitas antibakteri yaitu *Streptococcus mutans*. Dimana senyawa flavanoid akan mengikat protein membran sel bakteri, sehingga bakteri tidak mampu menghasilkan energi untuk aktivasi sel dan kemudian bakteri akan mati.

Lain lagi dengan penelitian yang dilakukan oleh Handayani dkk (2017). Yang menggunakan ekstrak daun jambu biji sebagai formula obat kumur. Hasil fitokimia ekstrak daun jambu biji juga terbukti mengandung senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri seperti tanin, flavanoid, steroid dan saponin. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan 3 formula obat kumur yang berbeda. Pada F1 dengan konsentrasi ekstrak daun jambu biji 2,5% menghasilkan daya hambat sebesar 3,15 mm, pada F2 dengan konsentrasi ekstrak 3% menghasilkan daya hambat 3,83 mm, dan pada F3 dengan konsentrasi ekstrak 3,5% menghasilkan daya hambat 4,32 mm.

Penelitian lain juga dilakukan oleh Mustafa et al (2019). Yang membuat obat kumur dengan bahan alami yaitu kuyit (*Curcuma longa* Linn). Diformulasikan menggunakan kitosan dan polietilen glikol yang kemudian dibandingkan dengan obat kumur yang mengandung chlorhexidine. Kitosan sendiri terbukti memiliki kemampuan bioadhesif yang sangat menguntungkan dalam mempertahankan konsentrasi curcuminoids dalam rongga mulut. Tidak adanya penggunaan alkohol juga merupakan salah satu cara untuk menghindari pelarutan

kandungan *curcuminoids* dalam sediaan obat kumur yang mana dapat memperburuk penyakit mulut.

4. SIMPULAN DAN SARAN

Infusa daun stevia memiliki khasiat sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun stevia pada formula obat kumur, diameter hambat bakteri juga akan semakin besar. Formula yang mengandung ekstrak daun stevia yang banyak menghasilkan antibakteri paling baik yaitu pada formula ke-3 sebesar 3,10 mm. Pada uji pH didapatkan pH formula obat kumur pada semua sampel berkisar antara 5,1-5,3 dan diluar range nilai pH optimum pertumbuhan bakteri. Dari penelitian ini dapat disarankan :

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daun stevia dan jeruk nipis
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat ekstrak daun stevia dan jeruk nipis terhadap bakteri lain pada rongga mulut
- c. Perlu dilakukan sosialisasi pada masyarakat mengenai tanaman stevia dan jeruk nipis terutama manfaatnya bagi kesehatan

5. DAFTAR PUSTAKA

- Chowdhury, B. R., Bhattacharya, S., Deb, M., Garai, A. (2013). Development of Alcohol-free Herbal Mouthwash Having Anticancer Property. *Journal of Herbal.* 2(1), 2278-2257.
- Handayani, F., Sundu, R., Sari, R. M. (2017). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan.* 1(8).
- Harismah, K., Mirzaei, M., Fuadi, A. M. (2018). *Stevia rebaudiana* in Food and Beverage Applications and Its Potential Antioxidant and Antidiabetic: Mini Review. *Adv. Sci. Lett.* 24(12).
- Kerdar, T., Rabienejad, N., Alikhani, Y., Moradkhani, S., Dastan, D. (2019). Clinical, *in vitro* and Phytochemical, Studies of *Scrophularia striata* Mouthwash on Chronic Periodontitis Disease. *Journal of Ethnopharmacology.* 239, 111872.
- Ladytama, Rr. S., Nurhapsari, A., Baehaqi, M. (2014). Efektivitas Larutan Ekstrak jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Obat Kumur Terhadap Penurunan Indeks Plak Pada Remaja usia 12-15 Tahun – Studi di SMP Nurul Islami, Mijen, Semarang. *ODONTO Dental Journal.* 1(1).
- Manikam, A. S., Pertiwi, W. S., Hidayanto, A., Harismah, K. (2017). Potensi Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Pada Formulasi Obat Kumur Terhadap Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans*. *Universitas Muhammadiyah Surakarta.*
- Mustafa, M. W., Ungphaiboon, S., Phadoongsombut, N., Pangsombon, K., Chelae, S., Mahattanadul, S. (2019). Effectiveness of an Alcohol-Free Chitosan-Curcuminoid Mouthwash Compared with Chlorhexidine Mouthwash in Denture Stomatitis Treatment: A Randomized Trial. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 1-7.
- Nata'ala, M. K., Dalhat, M. H., Omoye, B. S., Isah, A. A., Kabiru, S., Bashiru, I., Umar, F. A. (2018). Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Citrus sinensis* (L.) Osbek [Orange] and *Citrus aurantifolia* (Cristm.) Swingle [Lime] Stem from Bactreia Associated with Dental Caries. *Journal of Advances in Microbiology.* 8(4), 1-9.
- Pertiwi, W. S., Manikam, A. S., Hidayanto, A., Harismah, K. (2017). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) dan Minyak Cengkeh Sebagai Obat Kumur Herbal Alami Menggunakan Metode Infundasi. *Universitas Muhammadiyah Surakarta.*
- Putri, A. V. A A., Hafida, N., Megawati, V. (2017). Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Pada Konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% Dan 80% Terhadap *Streptococcus Mutans* (In Vitro). *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi.* 1(1), 9-14.
- Rasyadi, Y. (2018). Formulasi Sediaan Obat Kumur Dari Ekstrak Daun Sukun *Artocarpus atilis* (Parkinson ex F.A.Zorn) Fosberg. *Chempublish Journal.* 3(2), 76-84.