



**DAYA HAMBAT AIR PERASAN JERUK LEMON  
(*Citrus limon* (L.) Burm.f.) TERHADAP PERTUMBUHAN**

*Lactobacillus acidophilus*

**SKRIPSI**

Oleh

**Imaniar Leonita Maulidia**

**NIM. 151610101106**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2019**



**DAYA HAMBAT AIR PERASAN JERUK LEMON  
(*Citrus limon* (L.) Burm.f.) TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Lactobacillus acidophilus***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

oleh

**Imaniar Leonita Maulidia**

**NIM. 151610101106**

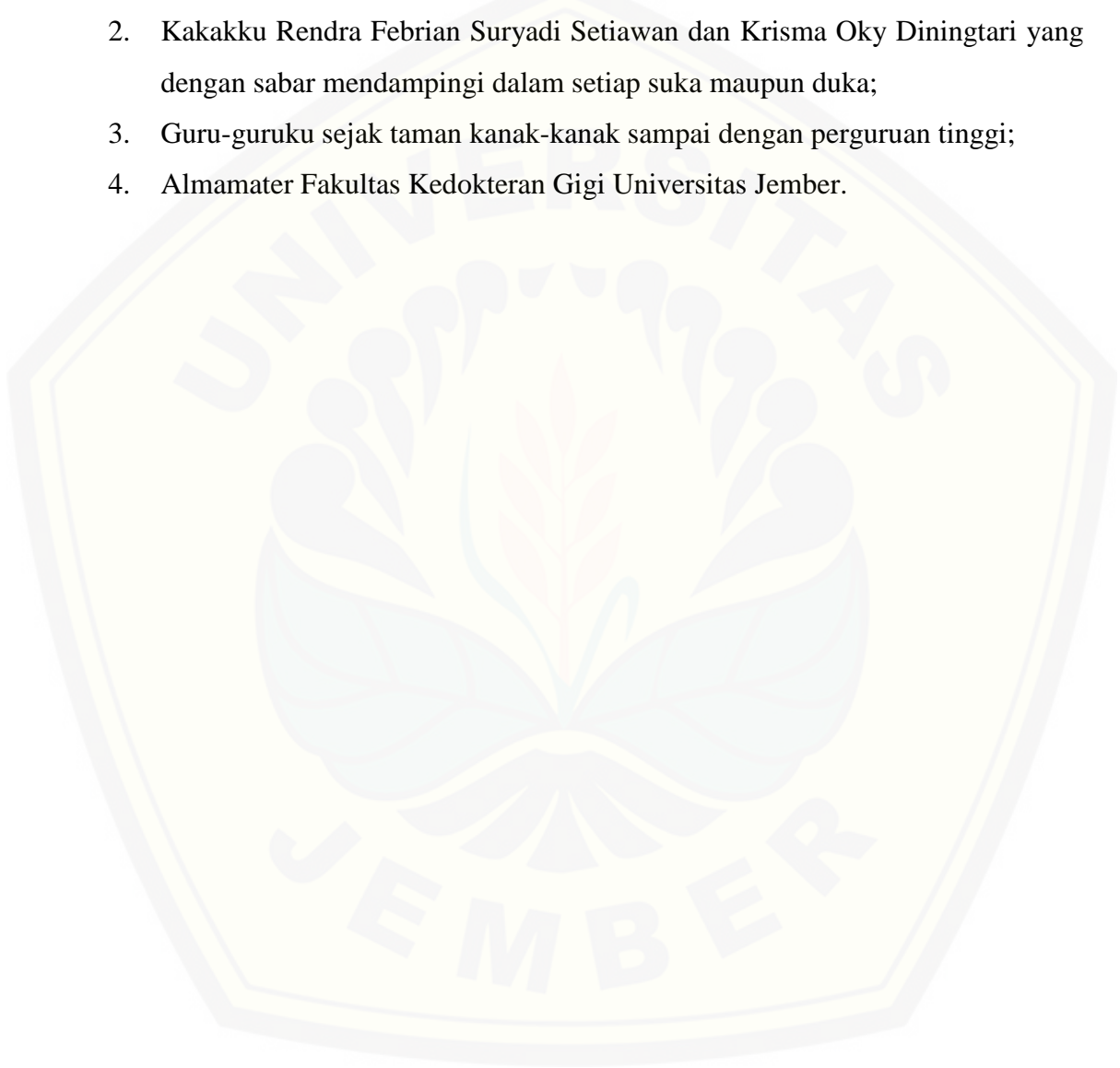
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2019**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Imam Suryadi dan Ibunda Tu'ami Ningsih yang selalu mengalunkan doa tanpa lelah, mengalirkan dukungan tanpa henti, dan memberikan saran-saran yang solutif sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini;
2. Kakakku Rendra Febrian Suryadi Setiawan dan Krisma Oky Dinatingari yang dengan sabar mendampingi dalam setiap suka maupun duka;
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



**MOTO**

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.

Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras  
(untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.

(Q.S. Al Insyirah : 6-8)\*)



\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Solo: PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Imaniar Leonita Maulidia

NIM : 151610101106

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Daya Hambat Air Perasan Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 23 Mei 2019

Yang menyatakan,

Imaniar Leonita Maulidia

NIM 151610101106

**SKRIPSI**

**DAYA HAMBAT AIR PERASAN JERUK LEMON  
(*Citrus limon* (L.) Burm.f.) TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Lactobacillus acidophilus***

Oleh

Imaniar Leonita Maulidia

NIM 151610101106

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Dyah Setyorini, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Amandia Dewi Permana S, M.Biomed

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Daya Hambat Air Perasan Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Kamis, 23 Mei 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Sri Lestari, M.Kes

NIP 196608191996012001

Pembimbing Utama,

drg. Sulistiyani, M.Kes

NIP 196601311996012001

Pembimbing Pendamping.

drg. Dyah Setyorini, M.Kes

NIP 196604012000032001

drg. Amandia D. P. S, M.Biomed

NIP 198006032006042002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prof

NIP 196901121996011001

## RINGKASAN

**Daya Hambat Air Perasan Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*;** Imaniar Leonita Maulidia, 151610101106; 2019: 70 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Karies gigi adalah kerusakan jaringan keras gigi yang disebabkan oleh aktivitas bakteri. Proses karies diawali dengan dekalsifikasi lapisan email gigi, diikuti oleh lisisnya struktur organik secara enzimatik sehingga terbentuk kavitas (lubang). Kavitas tersebut dapat menembus dentin bahkan dapat mengenai bagian pulpa gigi apabila tidak dilakukan perawatan. Karies gigi disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah karbohidrat, mikroorganisme, anatomi gigi dan waktu. Bakteri penyebab karies secara umum adalah *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*). Bakteri *L. acidophilus* diduga merupakan bakteri kedua (sekunder) pada karies, karena ditemukan pada karies yang dalam (karies profunda). Perkembangan bakteri tersebut dapat dicegah dengan menghambat pertumbuhannya.

Bahan antibakteri yang umum digunakan sebagai obat kumur adalah *Chlorhexidine*. Kekurangan *Chlorhexidine* diantaranya adalah menyebabkan iritasi mukosa, diskolorasi pada gigi, erosi mukosa oral dan rasa pahit. Agen antibakteri dapat bersifat kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang disebabkan adanya kekebalan terhadap agen antibakteri dan munculnya berbagai efek samping yang tidak diinginkan. Penggunaan bahan alami dari bahan herbal merupakan alternatif yang akan digunakan sebagai obat kumur untuk mengurangi kekurangan dari bahan antibakteri sintetik. Tanaman herbal yang sering dimanfaatkan yaitu jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.). Buah jeruk lemon dapat diperas dan menghasilkan air perasan jeruk lemon. Air perasan jeruk lemon mengandung banyak senyawa bioaktif seperti flavonoid, tannin, dan asam sitrat. Kandungan senyawa bioaktif dalam jeruk lemon memiliki sifat antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design* menggunakan metode *broth dilution*. Besar sampel pada penelitian ini adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Penelitian ini terdiri dari 7 kelompok penelitian (2 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan). Kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif (*Chlorhexidine* 0,2%) dan kontrol negatif (Aquades steril). Kelompok perlakuan (air perasan jeruk lemon) terdiri dari konsentrasi 100% (P1), 75% (P2), 50% (P3), 25% (P4) dan 12.5% (P5). Media MRS-B dan bakteri *L. acidophilus* dicampur dengan air perasan jeruk lemon (konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12.5%), diambil 1 ml dengan *syringe* kemudian diratakan pada seluruh permukaan media MRS-A menggunakan metode *spread plate* dan ditunggu sampai mengering. *Petridish* diinkubasi selama 48 jam kemudian dihitung jumlah koloni bakteri *L. acidophilus* menggunakan *colony counter*.

Hasil penelitian menunjukkan air perasan jeruk lemon konsentrasi 100%, 75% dan 50% serta *Chlorhexidine* 0.2% tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri *L. acidophilus*. Pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* terdapat pada air perasan jeruk lemon konsentrasi 25%, 12.5% dan aquades steril. Berdasarkan



analisis statistik uji *Mann-Whitney* menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ) pada air perasan jeruk lemon konsentrasi 100%, 75%, dan 50% terhadap *Chlorhexidine* 0.2%, tetapi berbeda bermakna terhadap aquades steril. Terdapat perbedaan bermakna pada air perasan jeruk lemon konsentrasi 25% dan 12.5% terhadap semua kelompok perlakuan.

Kesimpulan pada penelitian ini adalah air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* setara dengan *Chlorhexidine* 0,2%.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul ” Daya Hambat Air Perasan Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT. karena berkat kuasa dan kehendaknya penulis diberi kekuatan jasmani dan rohani, kesabaran, ketabahan, kelancaran, dan kemudahan;
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Dyah Setyorini, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. drg. Sri Lestari, M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Sulistiyani, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. drg. Dyah Setyorini, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam perjalanan studi selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Orang tua tercinta, Ayahanda Imam Suryadi dan Ibunda Tu’ami Ningsih, terima kasih atas cinta yang tak henti mengalir, doa yang terus mengalir, motivasi, dukungan, dan petuah-petuahnya;
7. Kakak tersayang, Rendra Febrian Suryadi Setiawan dan Krisma Oky Dinatingari, yang selalu mendampingi dan memberikan dukungan moril;
8. Staf Laboratorium Tanaman Fakultas Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember, Bapak Ujang, yang telah memberikan waktu dan bantuannya;

9. Staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Ibu Indria Cahyani, A.Md yang telah meluangkan waktu dan bantuannya sehingga penelitian dapat berjalan lancar dan skripsi ini dapat terselesaikan;
10. Muhammad Mahmud Rajab, yang telah menemani pahit manisnya dunia perkuliahan dari nol hingga tahap ini. Terima kasih telah menjadi tempat berkeluh kesah ternyaman dan untuk segala dukungan moril;
11. Teman-teman pejuang Skripsweet: Erryska Wira, Meryam Suvi, Shela Annisa, Rizky Apriliani, Intan Maulia, Mega Sepatikha, dan Leni Damayanti. Terima kasih atas kerja sama, motivasi, dan bantuannya;
12. Teman-teman proyekan sebelah: Firyal, Mia Ayu, Sania Wahyuhanafi, Haifa Azzura, Ari Intan, Iftinan Laily, Hanna Estherita, dan Anjelia Gelli, yang selalu memberikan semangat, doa, dan dukungan;
13. Teman-teman KKN 82: Hiksa, Riche, Bagus, Muthia, Aditya yang telah memberikan doa dan dukungan dalam mengerjakan skripsi ini;
14. Seluruh teman-teman FKG 2015 KAMI, terima kasih atas motivasi, kerja sama, persaudaraan, dan kekompakannya selama ini;
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 23 Mei 2019

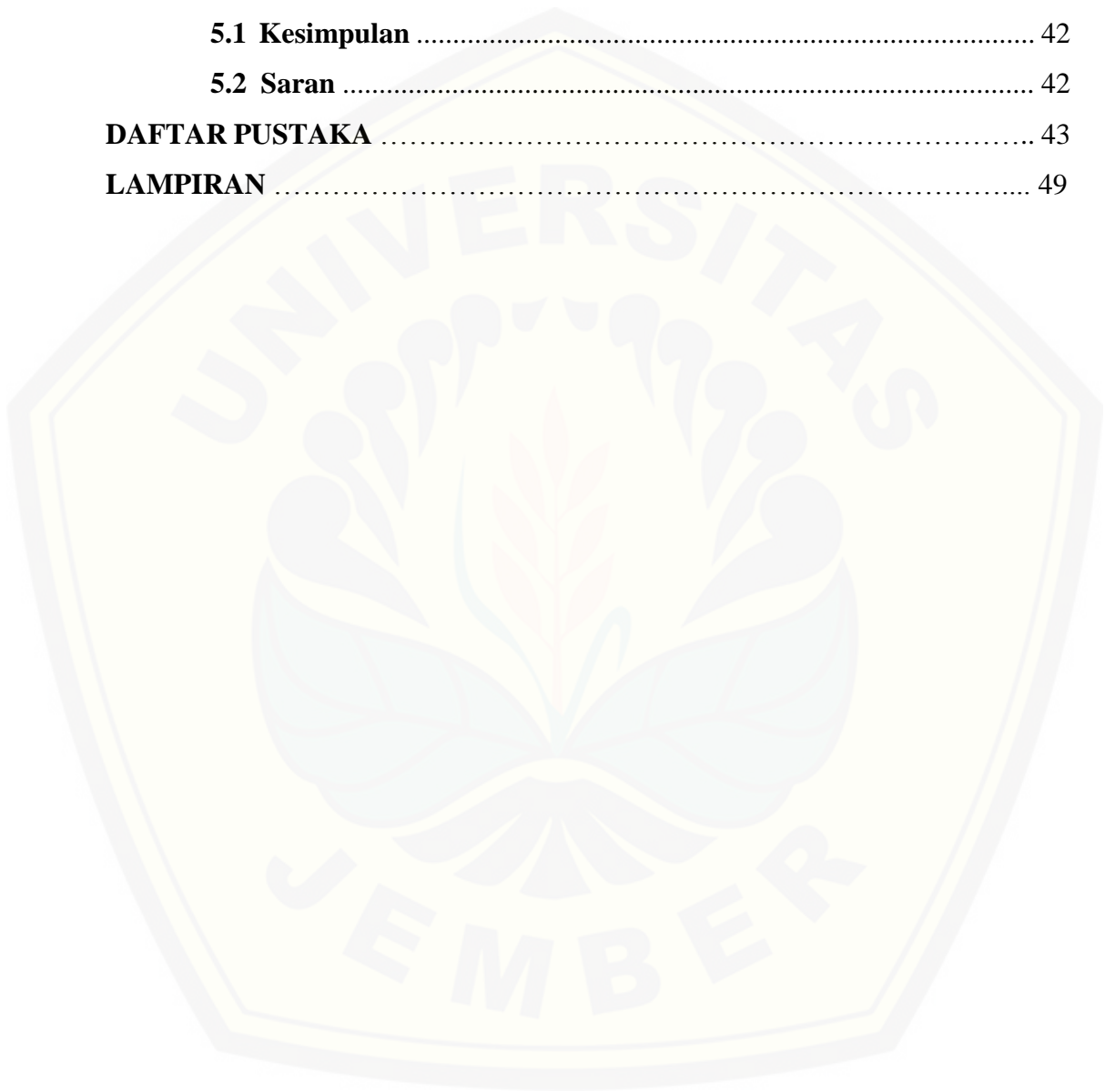
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Jeruk Lemon (<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f.)</b> .....	5
2.1.1 Klasifikasi Jeruk Lemon .....	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Jeruk Lemon .....	6
2.1.3 Komposisi Kandungan Kimia Jeruk Lemon .....	6
<b>2.2 <i>Lactobacillus acidophilus</i></b> .....	9
2.2.1 Taksonomi <i>L. acidophilus</i> .....	9

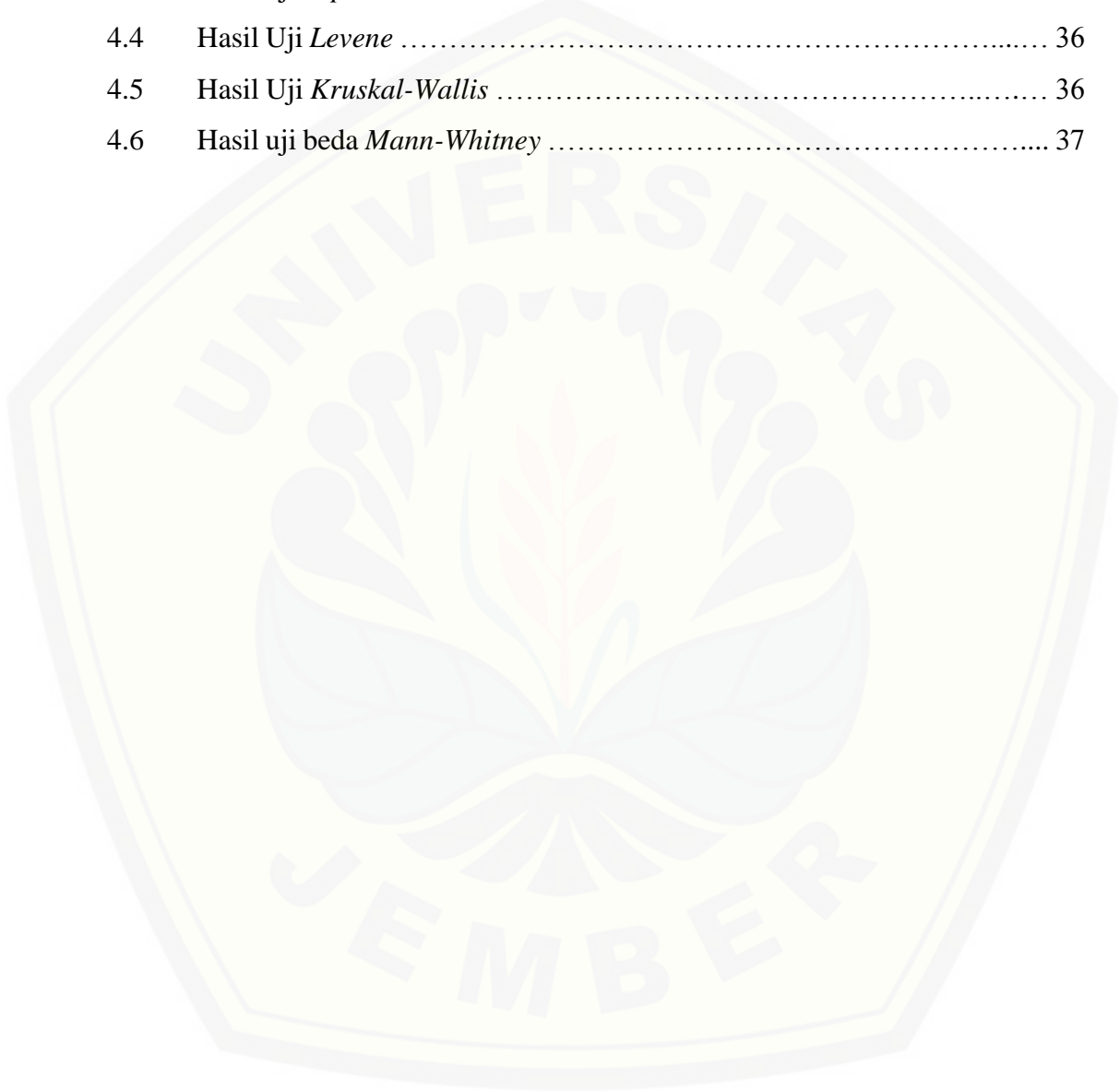
2.2.2	Morfologi dan Sifat <i>L. acidophilus</i> .....	10
<b>2.3</b>	<b><i>Chlorhexidine</i></b> .....	11
2.3.1	Mekanisme Kerja <i>Chlorhexidine</i> .....	12
<b>2.4</b>	<b>Antibakteri</b> .....	13
2.4.1	Uji Antibakteri .....	15
<b>2.5</b>	<b>Kerangka Konsep</b> .....	18
<b>2.6</b>	<b>Hipotesis</b> .....	19
<b>BAB 3.</b>	<b>METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	20
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian</b> .....	20
<b>3.2</b>	<b>Waktu dan Tempat Penelitian</b> .....	20
<b>3.3</b>	<b>Variabel Penelitian</b> .....	20
3.3.1	Variabel Bebas .....	20
3.3.2	Variabel Terikat .....	20
3.3.3	Variabel Kendali .....	20
<b>3.4</b>	<b>Definisi Operasional</b> .....	21
3.4.1	Air perasan Jeruk Lemon .....	21
3.4.2	Daya Hambat terhadap <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	21
3.4.3	<i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	21
<b>3.5</b>	<b>Sampel Penelitian</b> .....	22
3.5.1	Besar Sampel .....	22
3.5.2	Kelompok Penelitian .....	23
<b>3.6</b>	<b>Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	23
3.6.1	Alat Penelitian .....	23
3.6.2	Bahan Penelitian .....	23
<b>3.7</b>	<b>Prosedur Penelitian</b> .....	24
3.7.1	Tahap Persiapan .....	24
3.7.2	Tahap Perlakuan .....	27
3.7.3	Tahap Pengamatan .....	30
<b>3.8</b>	<b>Analisis Data</b> .....	31
<b>3.9</b>	<b>Alur Penelitian</b> .....	32

<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Hasil .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2 Analisis Data .....</b>	<b>35</b>
<b>4.3 Pembahasan .....</b>	<b>37</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>42</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>42</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>42</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>43</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>49</b>



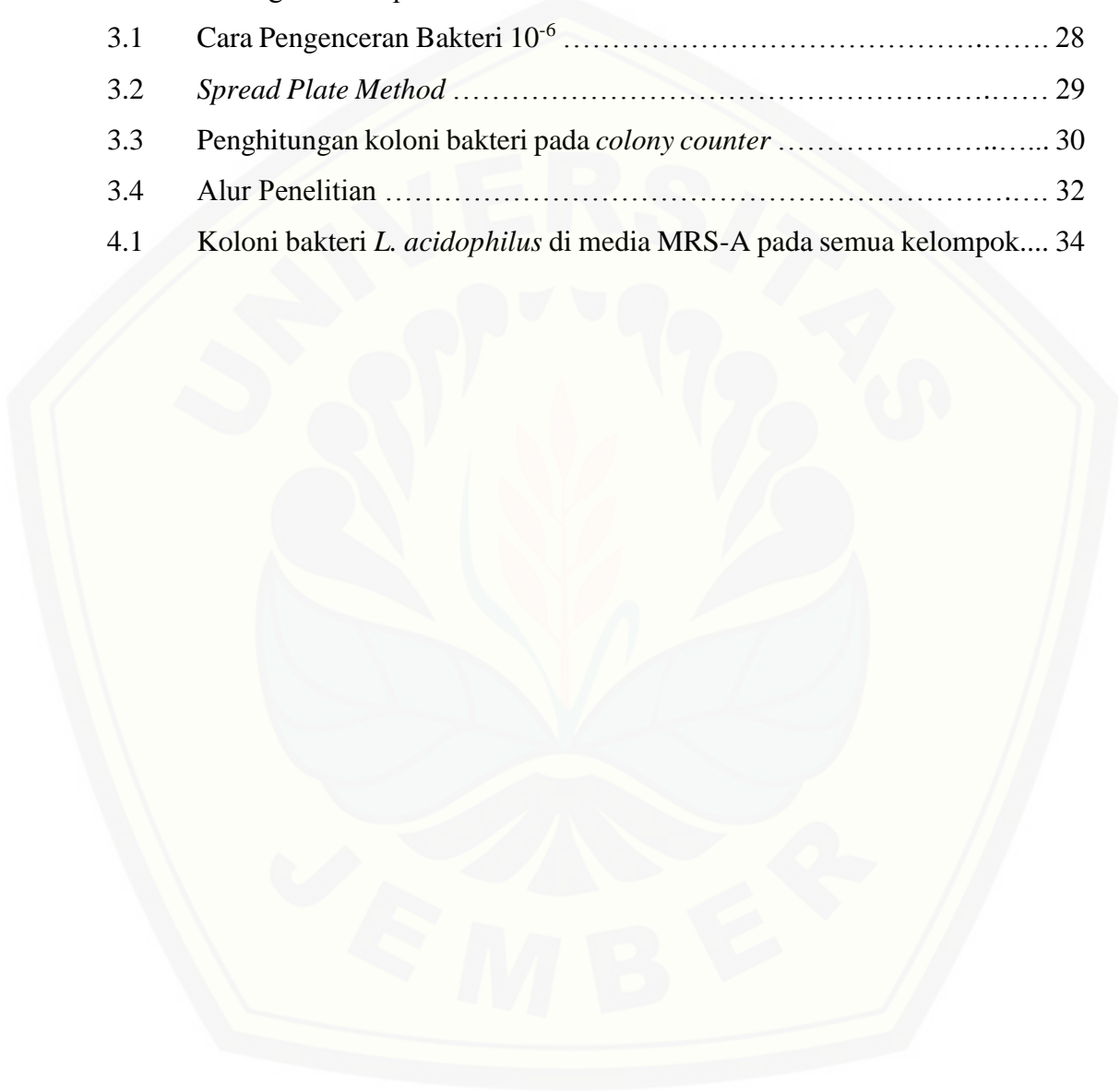
DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rerata jumlah koloni <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	34
4.2 Pengukuran pH Konsentrasi Air Perasan Jeruk Lemon .....	35
4.3 Hasil uji <i>Saphiro-Wilk</i> .....	35
4.4 Hasil Uji <i>Levene</i> .....	36
4.5 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> .....	36
4.6 Hasil uji beda <i>Mann-Whitney</i> .....	37



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Jeruk Lemon ( <i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f.) .....	6
2.2 Morfologi <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	10
2.3 Kerangka Konsep .....	18
3.1 Cara Pengenceran Bakteri $10^{-6}$ .....	28
3.2 <i>Spread Plate Method</i> .....	29
3.3 Penghitungan koloni bakteri pada <i>colony counter</i> .....	30
3.4 Alur Penelitian .....	32
4.1 Koloni bakteri <i>L. acidophilus</i> di media MRS-A pada semua kelompok....	34





DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Pembuatan Air Perasan Jeruk Lemon .....	49
B. Data Hasil Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri .....	49
C. Analisis Data .....	50
C.1 Hasil Uji Normalitas dengan Uji <i>Saphiro-Wilk</i> .....	50
C.2 Hasil Uji Homogenitas dengan Uji <i>Levene</i> .....	50
C.3 Hasil Uji Non-Parametrik <i>Kruskal Wallis</i> .....	50
C.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok <i>Mann-Whitney</i> .....	51
D. Foto Hasil Penelitian .....	61
E. Foto Alat dan Bahan Penelitian .....	65
E.1 Foto Alat Penelitian .....	65
E.2 Foto Bahan Penelitian .....	67
F. Surat Keterangan .....	68
F.1 Surat Keterangan Identifikasi Tanaman .....	68
F.2 Surat Keterangan Identifikasi Bakteri .....	69
F.3 Surat Keterangan Ijin Penelitian .....	70

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hasil Riskesdas 2018 menunjukkan bahwa kondisi kesehatan gigi masyarakat Indonesia cenderung tidak baik. Prevalensi karies gigi meningkat sebesar 35,6% dari 53,2% pada tahun 2013 menjadi 88,8% pada tahun 2018. Prevalensi masalah gigi dan mulut meningkat sebesar 31,7% dari 25,9% pada tahun 2013 menjadi 57,6% pada tahun 2018 dan hanya 10,2% yang mendapat penanganan medis gigi. Provinsi Jawa Timur termasuk salah satu provinsi yang mengalami peningkatan masalah gigi dan mulut di Indonesia, yakni meningkat sebesar 25,6% dari 28,6% pada tahun 2013 menjadi 54,2% pada tahun 2018 (Kemenkes, 2019).

Karies gigi adalah suatu proses penghancuran jaringan kalsifikasi yang dimulai dari bagian permukaan gigi melalui proses dekalsifikasi lapisan email, diikuti lisisnya struktur organik secara enzimatik sehingga terbentuk kavitas (lubang). Kavitas akan menembus email serta dentin bahkan mengenai bagian pulpa apabila tidak dilakukan perawatan (Dorland, 2010). Beberapa faktor penyebab terjadinya karies gigi, diantaranya adalah karbohidrat, mikroorganisme, saliva, permukaan atau anatomi gigi (Tarigan, 2015).

Mikroorganisme penyebab karies yaitu *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*. Bakteri tersebut tahan terhadap asam, oleh karena itu dapat bertahan pada suatu media dengan tingkat keasaman yang kuat. Bakteri tersebut menempel pada permukaan gigi, dapat memetabolisme karbohidrat sehingga memproduksi asam organik yang menyebabkan penurunan pH mulut. Turunnya pH rongga mulut mengakibatkan demineralisasi email gigi (Cura *et al.*, 2012).

Beberapa spesies *Lactobacillus* teridentifikasi pada saliva dari penderita karies dan yang paling banyak ditemukan adalah *Lactobacillus acidophilus* (Badet dan Thebaud, 2008). Bakteri *L. acidophilus* merupakan bakteri Gram positif dan tidak membentuk spora. Bakteri ini berbentuk batang panjang, bersifat anaerob fakultatif dan katalase negatif (Harley dan Prescott, 2002). Mikroorganisme ini merupakan produsen asam laktat yang produktif dan bersifat toleran terhadap asam. Bakteri *L. acidophilus* diduga merupakan bakteri kedua (sekunder) pada karies,

karena ditemukan pada karies yang dalam (karies profunda). Bakteri *L. acidophilus* tidak dapat melekat secara langsung pada enamel gigi, namun bekerjasama dengan *Streptococcus mutans*. Bakteri *L. acidophilus* merupakan pencetus terbentuknya asam laktat yang bertanggung jawab dalam proses demineralisasi enamel gigi (Cura *et al.*, 2012).

Pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* sebaiknya dicegah dengan menggunakan bahan antibakteri dalam bentuk obat kumur. Bahan antibakteri yang umum digunakan sebagai obat kumur adalah *Chlorhexidine*. Kekurangan *Chlorhexidine* adalah menyebabkan iritasi mukosa, diskolorasi pada gigi, erosi mukosa oral dan rasa pahit (Waghmare *et al.*, 2011). Sifat sitotoksis *Chlorhexidine* juga mempunyai efek pada osteoblas yang dapat merusak potensi regeneratif jaringan periapikal (Luddin dan Ahmed, 2013). Agen antibakteri dapat bersifat kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang disebabkan adanya kekebalan terhadap agen antibakteri dan munculnya berbagai efek samping yang tidak diinginkan (Isnarianti *et al.*, 2013).

Suatu alternatif bahan antibakteri dari bahan herbal diperlukan untuk mengurangi efek samping tersebut. Penggunaan bahan alami sebagai obat herbal dinilai lebih aman daripada obat dari bahan sintetik karena efek samping obat herbal relatif kecil jika digunakan secara tepat (Sari, 2013). Salah satu tanaman herbal yang sering dimanfaatkan yaitu jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.). Bagian dari jeruk lemon yang sering digunakan adalah kulit, bunga, daun dan buah. Buah jeruk lemon dapat diperas dan menghasilkan air perasan jeruk lemon. Air perasan jeruk lemon mengandung banyak senyawa bioaktif seperti flavonoid, tannin, dan asam sitrat. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam lemon masing-masing memiliki sifat antibakteri (Russo *et al.*, 2014). Jeruk lemon banyak ditemukan di pasaran dan sering dikonsumsi untuk program diet. Jeruk lemon lebih kaya akan vitamin C dan asam folat dibandingkan jeruk nipis, yaitu 39 mg vitamin C dan 20 µg asam folat dalam 100 gram jus lemon, sedangkan pada 100 gram jeruk nipis terdapat 30 mg vitamin C dan 10 µg asam folat, dimana berfungsi sebagai antioksidan, membantu perkembangan sel darah, serta menetralkan radikal bebas (Penniston *et al.*, 2008).

Kandungan flavonoid pada jeruk lemon memiliki aktivitas biologis yang luas, termasuk sebagai antibakteri, antijamur, antidiabetes, antikanker, dan aktivitas

antivirus. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan langsung dan menangkap radikal bebas, serta memiliki kapasitas dalam memodulasi aktivitas enzim dan menghambat proliferasi sel. Pada tumbuhan, flavonoid berperan dalam menyerang mikroorganisme patogen, seperti bakteri, jamur dan virus (Dhanavade *et al.*, 2011).

Air perasan jeruk lemon mengandung sekitar 5% asam sitrat sebagai pemberi rasa asam pada lemon dan rendahnya pH (2-3) (Dev dan Nidhi, 2016). Konsumsi karbohidrat padat maupun cair dapat menyebabkan terjadinya perubahan pH saliva, karena karbohidrat akan difermentasi oleh bakteri, dan hal ini melekat pada permukaan gigi. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju aliran saliva dapat distimulasi oleh stimulus alami misalnya muntah, merokok, ukuran kelenjar, refleks muntah, stimulus unilateral, asupan makan dan status gizi (Pandey, 2014). Stimulus kimiawi yang bersifat asam merupakan stimulus yang paling kuat dalam meningkatkan sekresi saliva. Substansi kimia yang dapat menimbulkan persepsi pengecap dan menimbulkan rasa asam yang tajam bila diaplikasikan di pangkal lidah (Indriana, 2011).

Uraian diatas menjadi dasar bagi peneliti untuk mengadakan penelitian tentang daya hambat air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* ?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi efektif air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) yang dapat menghambat pertumbuhan *L. acidophilus* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- 1.3.1 Mengetahui daya hambat air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*
- 1.3.1 Mengetahui konsentrasi efektif air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) yang dapat menghambat pertumbuhan *L. acidophilus*

#### 1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Memberikan wawasan ilmu pengetahuan mengenai air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) dalam menghambat pertumbuhan *L. acidophilus*
- 1.4.2 Dapat digunakan sebagai dasar pengembangan dan pemanfaatan air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) dengan berbagai macam sediaan, sehingga dapat lebih optimum pemanfaatannya dalam bidang kedokteran gigi.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.)

Jeruk merupakan tanaman asli dari Benua Asia khususnya dari India sampai Cina. Banyak spesies jeruk yang telah dibudidayakan di daerah subtropis. Jeruk mempunyai 6 genera yaitu: 1) Citrus, 2) Microcitrus, 3) Fortunella, 4) Poncirus, 5) Cymenia, dan 6) Eremocitrus, yang paling banyak dikenal adalah citrus. Salah satunya adalah citrus limon atau jeruk lemon. Jenis jeruk lemon ini berasal dari daerah Birma bagian Utara dan Cina Selatan. Penyebaran jeruk lemon di Indonesia berada di Jawa dan telah dibudidayakan. Jeruk lemon dapat tumbuh baik di dataran rendah hingga ketinggian 800 meter di atas permukaan laut (Indriani *et al.*, 2015). Bagian dari tanaman lemon yang sering digunakan adalah kulit, buah, bunga, daun, dan air perasan (Nurlaely, 2016).

#### 2.1.1 Klasifikasi Jeruk Lemon

Jeruk lemon memiliki nama lain *Citrus limon* (L.) Burm.f. Klasifikasi botani tanaman jeruk lemon adalah sebagai berikut (Martasari dan Mulyanto, 2008) :

Kingdom : *Plantae*

Sub Kingdom : *Tracheobionta*

Super Divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida-Dicotyledons*

Sub Kelas : *Rosidae*

Ordo : *Sapindales*

Famili : *Rutaceae*

Genus : *Citrus*

Spesies : *Citrus limon* (L.) Osbeck

## 2.1.2 Morfologi Tanaman Jeruk Lemon

Struktur morfologi jeruk lemon adalah sebagai berikut :

Jeruk lemon merupakan pohon perdu, batang berduri panjang tetapi tidak rapat, tegak, bulat, percabangan simpodial, berduri (Gambar 2.1.b). Daun berwarna hijau dengan tepi rata, tunggal, berseling, lonjong, ujung dan pangkal meruncing, panjang 7-8 cm, lebar 4-5 cm, tangkai silindris, permukaan licin. Majemuk, diujung batang dan diketiak daun, tangkai segitiga, panjang 1-1,5 cm, hijau, kelopak bentuk bintang, hijau, benang sari panjang  $\pm 1,5$  cm, kepala sari bentuk ginjal, kuning, tangkai putik silindris, panjang  $\pm 1$  cm, kepala putik bulat, kuning, mahkota lima helai, bentuk bintang, putih kekuningan. Buah lemon berkulit kasar, berwarna kuning, bentuknya buni agak bulat dengan panjang 5-8 cm, tebal kulitnya 0,5-0,7 cm dan dasarnya menonjol (Gambar 2.1.a) (Nurlaely, 2016).



a. Buah Lemon



b. Pohon Lemon

**Gambar 2.1 Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) (Mohanapriya *et al.*, 2013)**

## 2.1.3 Komposisi Kandungan Kimia Jeruk Lemon

Jeruk lemon memiliki kandungan vitamin C yang tinggi dibandingkan jeruk nipis serta sebagai sumber vitamin A, B1, B2, fosfor, kalsium, pektin, minyak atsiri 70% limonene, felandren, kumarins bioflavonoid, geranil asetat, asam sitrat, linalil asetat, kalsium, dan serat (Indriani *et al.*, 2015).

Kulit lemon mengandung serat kasar (15,18%), lemak kasar (4,98%), dan protein (9,42%). Kandungan abu kulit lemon adalah 6,26%. Jus lemon mengandung sekitar 5% asam sitrat yang memberi rasa asam lemon dan pH 2 sampai 3 (Dev dan Nidhi, 2016).

Kandungan kimia jeruk lemon yaitu, antara lain :

## a. Senyawa Tannin

Senyawa tannin adalah senyawa astringent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Zat astringent dari tannin menyebabkan rasa kering dan puckery (kerutan) di dalam mulut. Tannin merupakan senyawa phenol yang larut dalam air dan memiliki berat molekul antara 500 dan 3000 Da (Ismarani, 2012).

Sifat utama tannin tumbuh-tumbuhan tergantung pada gugusan phenolik-OH yang terkandung dalam tannin, dan sifat tersebut secara garis besar dapat diuraikan sebagai berikut (Ismarani, 2012) :

### 1. Sifat Kimia Tannin

- a. Tannin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat koloid, sehingga jika terlarut dalam air bersifat koloid dan asam lemah.
- b. Umumnya tannin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar dan akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tannin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya.
- c. Tannin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu 210°F – 215°F (98,89°C – 101,67°C).
- d. Tannin dapat dihidrolisa oleh asam, basa, dan enzim.
- e. Ikatan kimia yang terjadi antara tannin-protein atau polimer-polimer lainnya terdiri dari ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan ikatan kovalen.

### 2. Sifat Fisik Tannin

- a. Umumnya tannin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tannin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh.
- b. Tannin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tannin tersebut.
- c. Tannin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (astrigent).



- d. Warna tannin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka.
- e. Tannin mempunyai sifat atau daya bakterostatik, fungistatik dan merupakan racun.

Tannin bertindak seperti asam ringan berdasarkan banyak gugus -OH fenolik. Asam tannic adalah bentuk yang paling sederhana hydrolysable tannin. Tannin kualitas tinggi mengandung 65-76% asam tannic. Salah satu sifat yang paling penting dari tannin dan asam tannic adalah kemampuannya untuk membentuk kompleks chelat dengan ion logam. Meskipun asam tannin dapat berfungsi sebagai agen antimikroba alami, tetapi tidak aktif terhadap spektrum yang luas dari jamur dan bakteri (Ismarani, 2012).

## b. Senyawa Flavonoid

Efek antibakteri disebabkan oleh adanya kandungan asam sitrat dan turunan fenol yang terkandung dalam air perasan jeruk lemon. Flavonoid merupakan senyawa yang banyak terdapat pada jenis tanaman obat. Flavonoid disintesis tanaman dalam responnya terhadap infeksi mikroba, sehingga secara *in vitro* efektif terhadap mikroorganisme. Senyawa ini merupakan antimikroba karena membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, mengubah sifat fisik dan kimiawi sitoplasma, dan mendenaturasi dinding sel bakteri dengan cara melalui ikatan hidrogen. Aktivitas ini akan mengganggu fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, dan pengendalian susunan protein sehingga menyebabkan kematian pada bakteri (Ramadhinta *et al.*, 2016).

Di samping itu pada dinding sel bakteri Gram positif mengandung polisakarida (asam terikoat) merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transfer ion positif untuk keluar masuk. Sifat larut inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel Gram positif bersifat lebih polar. Flavonoid menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik. Terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel (Ramadhinta *et al.*, 2016).

Flavonoid dalam buah sitrus memiliki spektrum yang luas terhadap aktivitas biologi, termasuk antibakteri, antijamur, antidiabetes, antikanker, dan aktivitas antivirus. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan langsung dan penangkal radikal bebas. Pada tumbuhan, flavonoid berperan dalam melawan invasi patogen, termasuk bakteri, jamur, dan virus (Penniston *et al.*, 2008).

## c. Asam Sitrat

Asam sitrat sebesar 7-7,6% yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara mengacaukan jembatan garam dengan adanya muatan isotonik. Denaturasi ditandai dengan adanya kekeruhan yang meningkat dan timbulnya gumpalan. Mekanisme kerja dari senyawa tersebut yaitu dengan merusak dinding sel bakteri dan masuk ke dalam inti sel bakteri, mengganggu proses respirasi sel, menghambat aktivitas enzim bakteri, dan menekan ترجمahan dari regulasi produk gen tertentu (Ramadhinta *et al.*, 2016).

## 2.2 *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*)

### 2.2.1 Taksonomi *L. acidophilus*

Taksonomi dari *L. acidophilus* adalah sebagai berikut (Samaranayake, 2012) :

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Firmicutes*

Kelas : *Bacilli*

Ordo : *Lactobacillales*

Famili : *Lactobacillaceae*

Genus : *Lactobacillus*

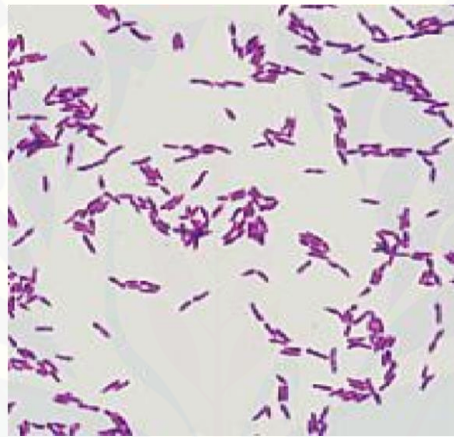
Spesies : *Lactobacillus acidophilus*

### 2.2.2 Morfologi dan Sifat *L. acidophilus*

*Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri Gram positif yang bersifat non hemolitik, berbentuk batang dengan ukuran 2-10  $\mu\text{m}$  dan merupakan bakteri anaerob fakultatif (Gambar 2.2). *L. acidophilus* adalah bakteri kariogenik yang dapat memfermentasikan karbohidrat dan menghasilkan asam. Bakteri ini memiliki sifat-sifat khusus yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Homofermentatif

yaitu memproduksi asam laktat 65% dari fermentasi glukosa, dan heterofermentatif yaitu memproduksi asam laktat serta asetat, etanol, dan karbondioksida (Samaranayake, 2012). Dari golongan *lactobacili*, *L. acidophilus* merupakan jenis yang paling tidak toleran terhadap oksigen (Bull *et al.*, 2013).

Keberadaan *L. acidophilus* dalam rongga mulut dapat ditemukan pada plak, lidah, gingiva, dan saliva. *L. acidophilus* dapat tumbuh secara optimal pada media asam dengan pH 5,5-6 dan suhu 27-42°C. *L. acidophilus* tergolong mikroorganisme autotrof tetapi tidak mampu mensintesis sejumlah kofaktor dan vitamin seperti *riboflavin*, vitamin B6, *nicotinate*, *nictotinamide*, *biotin*, dan *folat* sehingga dalam melakukan kultur terhadap *L. acidophilus* dibutuhkan media yang kaya nutrisi seperti deMan, Rogosa, atau MRS agar (Bull *et al.*, 2013).



**Gambar 2.2** Morfologi *Lactobacillus acidophilus* (Anggraini, 2017)

## 2.3 Chlorhexidine

*Chlorhexidine* termasuk kelompok ikatan kimia bisguanida bersifat fungisida dan bakterisida. *Chlorhexidine* dikembangkan pertama kali oleh pabrik kimia Imperial di Inggris pada tahun 1940. Pada tahun 1950, *Chlorhexidine* dikenal sebagai antiseptik umum dan tahun 1957 diperkenalkan sebagai antiseptik untuk kulit di Britain. Inhibisi plak diinvestigasi pertama kali oleh Schroeder pada tahun 1969. Pada tahun 1972 sebuah studi definitif mengenai inhibisi karies dari plak dental dilakukan oleh Loe dan Schiott (Balagopal dan Arjunker, 2013).

*Chlorhexidine* adalah salah satu zat antimikroba sebagai *gold standard* untuk pencegahan plak gigi (Balagopal dan Arjunker, 2013; Valdes *et al.*, 2016; Simon, 2007). Bentuknya bervariasi seperti diglukonat, asetat, dan *hydrochloride salts*. Strukturnya adalah sebuah molekul simetris yang terdiri dari 4 chlorophenyl rings dan 2 biguanide yang dihubungkan oleh sebuah central *hexamethylene bridge* (Balagopal dan Arjunker, 2013).

*Chlorhexidine* sebagai agen antimikroba menyerang bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, jamur, virus termasuk virus hepatitis B dan HIV. Di dalam rongga mulut, *Chlorhexidine* berguna melawan bakteri *S. mutans*, *S. aureus*, *Porphyromonas gingivalis* dan *Prevotella intermedia* (Balagopal dan Arjunker, 2013). *Chlorhexidine* telah terbukti efektif mengurangi jumlah koloni bakteri pada hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-30 (Valdes *et al.*, 2016).

Bentuk formulasi *Chlorhexidine* adalah sebagai berikut (Balagopal dan Arjunker, 2013) :

### 1. Obat kumur

Obat kumur *Chlorhexidine* tersedia dalam konsentrasi 0,2% dan 0,12%. Waktu berkumur adalah 30-60 detik tergantung nilai adsorpsi antiseptik pada permukaan mulut.

### 2. Gel

Konsentrasi gel yang tersedia bervariasi yakni 1%, 0,2%, dan 0,12%. Aplikasi gel dilakukan sekali sehari untuk memberikan efek terapeutik seperti mengurangi bau mulut dan stain.

### 3. Pasta gigi

Efek antiplak pasta gigi yang sama dengan obat kumur adalah pada konsentrasi 0,12% dengan satu bagian per juta fluor.

### 4. Spray

Inhibisi plak pada obat kumur 0,2% sama dengan 0,1% dan 0,2% spray. Hal ini digunakan pada pasien yang kelainan fisik dan mental.

### 5. Varnish

*Chlorhexidine* varnish digunakan untuk profilaksis karies akar.

### 6. Permen karet bebas gula

Permen karet bebas gula mengandung 20 mg *Chlorhexidine* diacetate dan disarankan mengunyah dua biji dua kali selama 10 menit.

#### 2.3.1 Mekanisme kerja *Chlorhexidine*

*Chlorhexidine* pada pH fisiologis dapat mengikat bakteri di permukaan rongga mulut, disebabkan adanya interaksi antara muatan positif dan molekul-molekul *Chlorhexidine* dengan dinding sel bakteri yang menyebabkan terjadinya penetrasi ke dalam sitoplasma dan pada akhirnya menyebabkan kematian mikroorganisme. *Streptococcus* tertentu dapat terikat oleh *Chlorhexidine* pada media polisakarida diluar sel, sehingga dapat meningkatkan sensitivitas *Streptococcus* dalam rongga mulut terhadap *Chlorhexidine*. Sebagai antiseptik, *Chlorhexidine* dapat melawan aktivitas perkembangan mikroorganisme Gram positif, seperti *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *vancomisin-resistant Enterococcus* (VRE) (Rondhianto *et al.*, 2016).

Mekanisme kerja *Chlorhexidine* adalah adanya ikatan atau interaksi antara muatan positif *Chlorhexidine* dengan muatan negatif partikel fosfat dinding bakteri, yang memungkinkan penetrasi molekul *Chlorhexidine* ke dalam tubuh bakteri dan menimbulkan efek toksik. *Chlorhexidine* tetap efektif walaupun terdapat pus dan darah. Indeks terapeutik obat ini sangat tinggi dengan toksisitas yang cukup rendah (Rondhianto *et al.*, 2016).

Tahapan mekanisme kerja *Chlorhexidine* adalah sebagai berikut (Balagopal dan Arjunker, 2013) :

1. Dinding sel bakteri bermuatan negatif dan mengandung sulfat dan fosfat.

2. Ion bermuatan positif *Chlorhexidine* tertarik dengan ion bermuatan negatif dinding bakteri dengan adsorpsi yang kuat dan spesifik pada kandungan senyawa fosfat.
3. Perubahan integritas membran sel bakteri dan *Chlorhexidine* ditarik oleh membran sel dalam.
4. Konsentrasi *Chlorhexidine* yang meningkat akan menyebabkan kerusakan membran.
5. *Chlorhexidine* mengikat fosfolipid di dalam membran dan ada kebocoran pada senyawa dengan molekul rendah seperti ion potassium.
6. Sitoplasma sel secara kimia mengalami presipitasi.
7. Ada kogulasi dan presipitasi sitoplasma dari pembentukan kompleks fosfat termasuk adenosine triphosphate dan asam nukleat.
8. Tahap bakterisida *irreversibel*.

## 2.4 Antibakteri

Antibakteri adalah bahan atau senyawa yang dapat membasmi bakteri terutama bakteri patogen. Senyawa antibakteri harus mempunyai sifat toksisitas selektif, yaitu berbahaya bagi parasit tetapi tidak berbahaya bagi inangnya (Xia *et al.*, 2010). Antibakteri ada yang mempunyai spektrum luas, artinya antibiotika yang efektif digunakan bagi banyak spesies bakteri, baik kokus, basil, maupun spiril. Ada juga antibakteri berspektrum sempit, artinya hanya efektif digunakan untuk spesies tertentu (Waluyo, 2010). Antibakteri sebaiknya mempunyai sifat-sifat sebagai berikut (Pelczar dan Chan, 2008) :

1. Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak hospes
2. Bersifat bakterisida bukan bakteriostatik
3. Tidak menyebabkan resistensi pada kuman
4. Berspektrum luas
5. Tidak bersifat alergenik atau tidak menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu yang lama
6. Tetap aktif dalam plasma
7. Larut di dalam air dan stabil

8. Kadar bakterisida di dalam tubuh cepat tercapai dan bertahan dalam waktu yang lama.

Mekanisme kerja antibakteri dapat dilakukan dengan empat cara yaitu (Waluyo, 2010; Jawetz *et al.*, 2007) :

1. Penghambatan sintesis dinding sel

Sel bakteri dikelilingi oleh suatu struktur kaku yang disebut dinding sel, yang melindungi protoplasma dibawahnya. Setiap zat yang mampu merusak dinding sel atau mencegah sintesisnya, menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap tekanan osmosis.

2. Penghambatan sintesis protein

Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama, yakni transkripsi (sintesis asam ribonukleat) dan translasi ( sintesis protein yang ARN-dependent). Antibakteri yang dapat menghambat salah satu dari prosestersebut dapat menghambat sintesis protein. Salah satu mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan adalah dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom

3. Pengubahan fungsi membran plasma

Membran sel mempunyai peranan yang penting dalam sel, yaitu sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif, dan mengendalikan susunan dalam sel. Membran sel mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel dan merupakan tempat berlangsungnya pernapasan dan aktivitas biosintetik tertentu. Beberapa zat antibakteri dapat merusak atau melemahkan salah satu atau lebih dari fungsi-fungsi tersebut, akibatnya pertumbuhan sel akan terhambat atau mati.

4. Penghambatan sintesis asam nukleat

DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA Dependent dan RNA Polymerase bakteri sehingga menghambat sintesis RNA bakteri.

## 2.4.1 Uji Antibakteri

Pada uji antibakteri diukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri terdapat beberapa jenis, diantaranya metode difusi, metode dilusi (pengenceran) dan juga metode bioautografi (Rahayu dan Tuti, 2009).

### a. Metode Difusi

Metode difusi didasarkan atas difusi bahan antibakteri pada permukaan media, yang dapat kontak langsung dengan mikroorganisme. Metode difusi ini terbagi menjadi empat antara lain metode *disc diffusion*, difusi *ditch technique*, difusi *cup plate technique* dan difusi metode gores silang. Keempat metode berikut ini dapat digunakan dalam penentuan aktivitas antimikroba (Rahayu dan Tuti, 2009) :

#### 1. Metode *disc diffusion*

Metode *disc diffusion* merupakan metode piringan yang berisi senyawa uji yang diletakkan pada media Agar yang telah ditanami mikroba uji dan akan berdifusi dalam media Agar tersebut. Zona bening mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroba oleh senyawa uji yang ada pada permukaan media Agar.

#### 2. Metode difusi *ditch technique*

Metode difusi *ditch technique* yaitu sampel bahan uji diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media Agar dalam cawan petri di bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi senyawa uji tersebut.

#### 3. Metode *cup plate technique*

Metode *cup plate technique* yaitu pembuatan sumur pada media Agar yang sudah ditanami mikroba uji dan pada sumur tersebut diberi senyawa uji.

#### 4. Metode gores silang

Metode gores silang dilakukan dengan mencelupkan kertas saring ke dalam larutan yang akan diuji kemudian diletakkan diatas lempeng Agar yang telah digores dengan inokulum bakteri. Media Agar tersebut kemudian diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu 24-25°C. Pertumbuhan dari jamur tersebut diamati dan jarak yang tidak ditumbuhi jamur diukur zona hambat.



## b. Metode Dilusi (Pengenceran)

Metode dilusi secara umum digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Keuntungan dari metode ini yaitu dapat menyajikan data dengan hasil kuantitatif, sehingga menunjukkan jumlah zat antimikroba tertentu yang diperlukan untuk menghambat mikroorganisme yang diuji (Jawetz *et al.*, 2007). Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (*broth dilution*) dan dilusi padat (*solid dilution*) :

### 1. Metode dilusi cair

Metode ini dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran senyawa uji pada media cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji senyawa antimikroba pada konsentrasi terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM dan kemudian dilakukan kultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji atau senyawa antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang jernih setelah dilakukan inkubasi maka dapat ditetapkan sebagai KBM (Rahayu dan Tuti, 2009).

### 2. Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair yang membedakan hanyalah media menggunakan padat. Pada metode ini memiliki keuntungan yaitu 1 konsentrasi senyawa uji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Rahayu dan Tuti, 2009).

## c. Metode Bioautografi

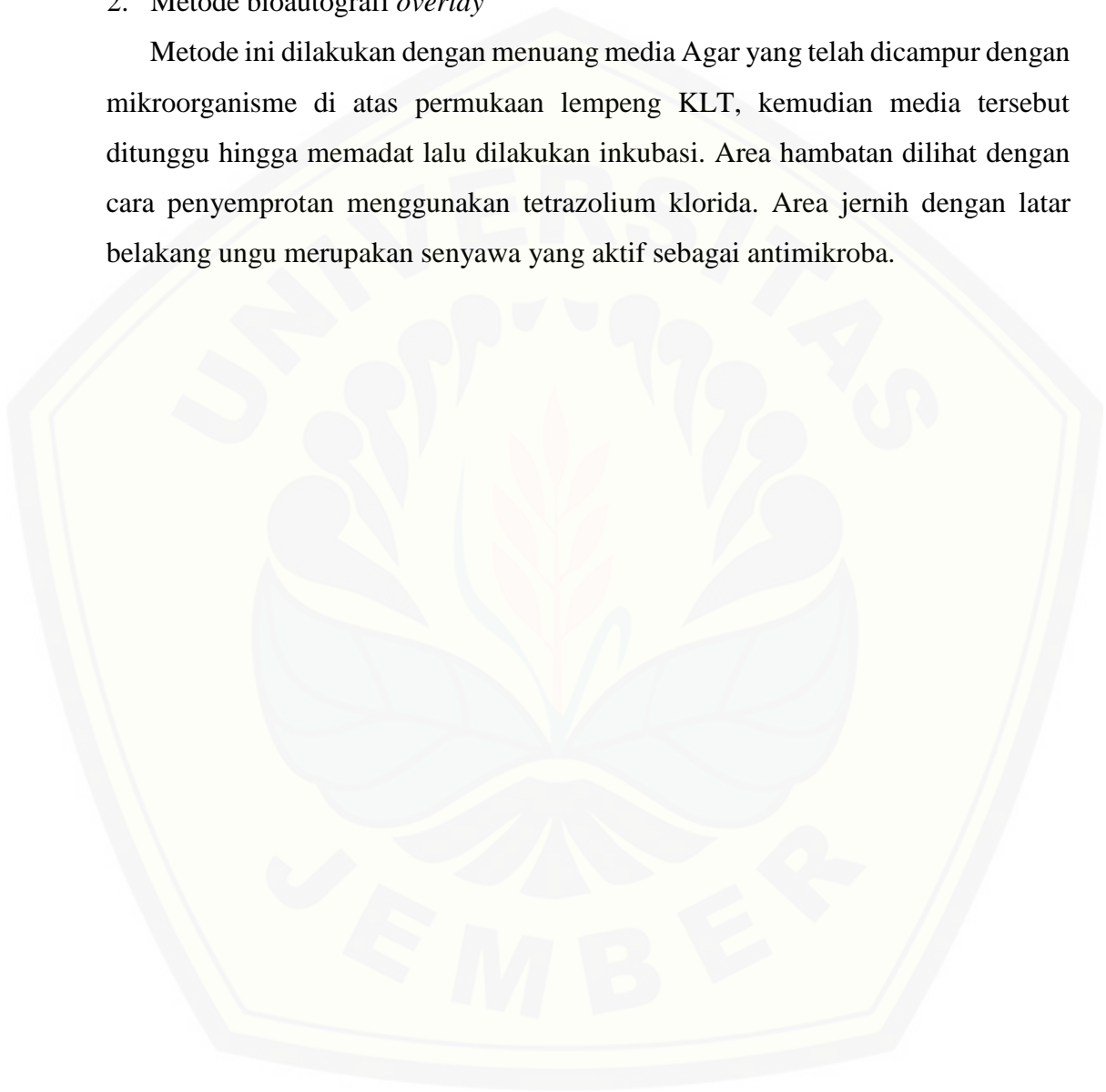
Metode bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram dari hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang memiliki aktivitas antimikroba sehingga mendekati metode separasi dengan uji biologis. Metode ini memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif karena sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks. Akan tetapi, metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM. Metode bioautografi terbagi menjadi dua macam yakni metode bioautografi langsung dan metode bioautografi *overlay* (Rahayu dan Tuti, 2009) :

## 1. Metode bioautografi langsung

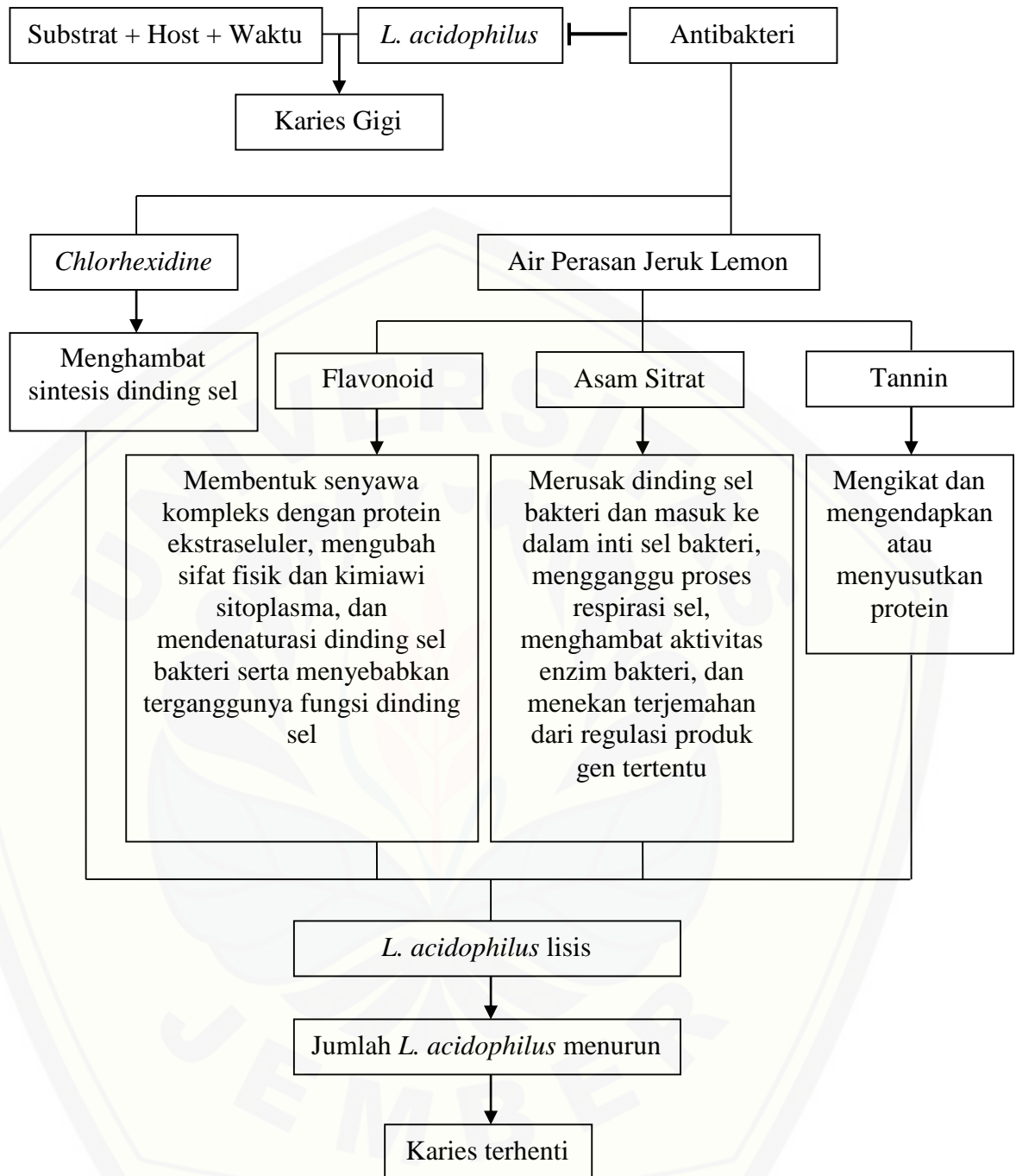
Metode ini dilakukan dengan cara menyemprot lempeng KLT dengan suspensi mikroba uji atau dengan menyentuhkan lempeng KLT pada permukaan media Agar yang telah ditanami mikroba uji. Setelah dilakukan inkubasi dengan rentang waktu tertentu, area jernih dengan latar belakang keruh menunjukkan letak senyawa aktif.

## 2. Metode bioautografi *overlay*

Metode ini dilakukan dengan menuang media Agar yang telah dicampur dengan mikroorganisme di atas permukaan lempeng KLT, kemudian media tersebut ditunggu hingga memadat lalu dilakukan inkubasi. Area hambatan dilihat dengan cara penyemprotan menggunakan tetrazolium klorida. Area jernih dengan latar belakang ungu merupakan senyawa yang aktif sebagai antimikroba.



2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep

Keterangan :

—| : menghambat

## Penjelasan Kerangka Konsep

Karies gigi adalah penyakit jaringan gigi yang dikarenakan berbagai sebab, diantaranya adalah substrat, host dan waktu, serta bakteri yang paling umum bertanggung jawab terhadap karies yaitu *Lactobacillus acidophilus*. Pertumbuhan bakteri ini sebaiknya dicegah dengan menggunakan bahan antibakteri. Bahan antibakteri yang umum digunakan sebagai obat kumur adalah *Chlorhexidine*. Mekanisme kerja *Chlorhexidine* yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri (Rondhianto *et al.*, 2016). *Chlorhexidine* dapat menimbulkan beberapa efek samping, maka dari itu diperlukan alternatif bahan antibakteri dari bahan herbal. Salah satu tanaman herbal yang sering dimanfaatkan yaitu jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.). Bagian dari jeruk lemon yang sering digunakan adalah kulit, buah, bunga, daun, dan air perasan. Air perasan jeruk lemon mengandung banyak senyawa bioaktif seperti flavonoid, asam sitrat dan tannin (Russo *et al.*, 2014). Flavonoid merupakan antimikroba karena membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, mengubah sifat fisik dan kimiawi sitoplasma, dan mendenaturasi dinding sel bakteri serta menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik (Ramadhinta *et al.*, 2016). Asam sitrat dapat merusak dinding sel bakteri dan masuk ke dalam inti sel bakteri, mengganggu proses respirasi sel, menghambat aktivitas enzim bakteri, dan menekan ترجمahan dari regulasi produk gen tertentu (Ramadhinta *et al.*, 2016). Senyawa tannin dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein (Ismarani, 2012). Mekanisme kerja antibakteri yang terdapat pada air perasan jeruk lemon dapat melisis *L. acidophilus* sehingga jumlahnya menurun serta dapat menghentikan karies gigi.

## 2.6 Hipotesis

1. Air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.
2. Air perasan jeruk lemon dengan konsentrasi 100% merupakan konsentrasi efektif yang dapat menghambat pertumbuhan *L. acidophilus*.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris murni dengan rancangan *the post-test only control group design*, yaitu suatu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol dan dilakukan di dalam laboratorium (Notoatmodjo, 2010).

### 3.2 Waktu Penelitian dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November-Desember 2018 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Identifikasi jeruk lemon dilakukan di Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah air perasan jeruk lemon konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%.

#### 3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat terhadap *L. acidophilus*.

#### 3.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah :

- a. Suhu inkubator
- b. Lama inkubasi
- c. Sterilisasi alat
- d. Ketelitian pengukuran
- e. Buah lemon yang sesuai kriteria sampel

Buah lemon yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Citrus limon* (L.) Burm.f. Buah lemon diperoleh dari Malang, Jatim, Indonesia.

Buah lemon yang telah masak dan langsung dipetik dari pohon. Warna kulit buah lemon dominan berwarna kuning tanpa menghitung ukuran diameter buah lemon. Tidak terdapat kerusakan fisik pada buah lemon.

## 3.4 Definisi Operasional Variabel

### 3.4.1 Air Perasan Jeruk Lemon

Air perasan jeruk lemon adalah air yang diperoleh dengan cara memeras jeruk lemon yang sudah matang dan sudah dipisahkan dari bulir dan bijinya. Konsentrasi air perasan jeruk lemon yang digunakan dalam penelitian adalah 100%, 75%, 50%, 25%, 12.5%.

### 3.4.2 Daya Hambat terhadap *Lactobacillus acidophilus*

Daya hambat terhadap *L. acidophilus* adalah kemampuan suatu bahan, dalam hal ini air perasan jeruk lemon dalam menghambat pertumbuhan koloni *L. acidophilus* pada permukaan atau di dalam media padat MRS-A, yang ditandai dengan adanya koloni berbentuk bulat atau oval dengan tepian seperti wol dan berwarna putih susu (Efendi dan Suryadi, 2004). Pengukuran daya hambat air perasan jeruk lemon dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri *L. acidophilus* menggunakan *colony counter*.

### 3.4.3 *Lactobacillus acidophilus*

*L. acidophilus* adalah bakteri Gram positif yang bersifat non hemolitik, berbentuk batang dengan ukuran 2-10  $\mu\text{m}$  dan merupakan bakteri anaerob fakultatif. Bakteri ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Identifikasi bakteri *L. acidophilus* diambil dari koloni yang ada, dilakukan pengecatan Gram kemudian diperiksa dibawah mikroskop.

### 3.5 Sampel Penelitian

#### 3.5.1 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan rumus Federer (Supranto, 2000) sebagai berikut :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :

n : besar sampel tiap kelompok

t : jumlah kelompok perlakuan

Perhitungan besar sampel untuk setiap kelompok penelitian adalah sebagai berikut :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

$$(n-1)6 \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3.5$$

$$n \geq 4$$

Jadi besar sampel berdasarkan rumus tersebut adalah sebesar 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 28 sampel.

#### 3.5.2 Kelompok Penelitian

Kelompok penelitian dibagi menjadi 7, yaitu :

- a. K(-) : kontrol negatif (aquades steril)
- b. K(+) : kontrol positif (*Chlorhexidine* 0,2%)
- c. P1 : air perasan jeruk lemon 100%
- d. P2 : air perasan jeruk lemon 75%
- e. P3 : air perasan jeruk lemon 50%
- f. P4 : air perasan jeruk lemon 25%
- g. P5 : air perasan jeruk lemon 12.5%

### 3.6 Alat-alat dan Bahan-Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *petridish*, *disposable syringe* (Terumo, Japan), *laminar flow cabinet* (Suzhou Antai Air Tech Co. LTD type HF 100, China), *autoclave* (Smic, Korea), *oven* (Memert, Germany), tabung reaksi (Pyrex, Japan), *colony counter* (Bacterial Counter, Taiwan), desikator (Duran, Germany), inkubator (Binder, USA), mikropipet, gelas ukur, *thermolyne* (Maxi Mix II, USA), neraca (Ohaus, Germany), tabung Erlenmayer, kompor (Maspion, Indonesia), pisau steril, pengaduk, ose, alat pemeras jeruk, *spreader*, spektrofotometer dan sarung tangan (Maxter).

#### 3.6.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang diperlukan adalah :

- a. Aquades steril
- b. obat kumur *Chlorhexidine* 0,2%
- c. bubuk MRS-B
- d. bubuk MRS-A
- e. lilin
- f. kultur murni *L. acidophilus*
- g. jeruk lemon



### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Tahap Persiapan

a. Identifikasi bakteri

Kultur murni *L. acidophilus* diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang masih belum dicairkan, diambil contoh koloninya untuk dilakukan pengecatan Gram, selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

b. Identifikasi jeruk lemon

Jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) diambil dari perkebunan di kota Malang, Jawa Timur. Bagian dari tanaman Jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) yaitu akar, batang, daun, bunga, dan buah yang berumur diatas tiga bulan diidentifikasi di Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember.

c. Sterilisasi alat

Semua alat dicuci bersih dan disterilkan dalam oven selama 20 menit pada suhu 110°C.

d. Pembuatan air perasan jeruk lemon

Jeruk lemon yang sudah matang dan segar dicuci dengan menggunakan aquades steril dan dipotong secara melintang menggunakan pisau steril. Potongan jeruk lemon kemudian diperas dengan menggunakan alat pemeras jeruk steril dan airnya ditampung dalam gelas ukur steril. Air hasil perasan kemudian disaring dengan menggunakan saringan untuk memisahkan biji dan bulir lemon. Seluruh tahap pada prosedur penelitian dilakukan di dalam *laminar flow cabinet*.

e. Pembuatan konsentrasi air perasan jeruk lemon

Untuk mendapatkan konsentrasi masing-masing larutan, maka dilakukan pengenceran dengan metode volume per volume (v/v) dengan menggunakan bahan pelarut aquades (Sunarya dan Agus, 2007) sebagai berikut :

$$\text{Persentase volume zat A} = \frac{\text{Volume Zat A}}{\text{Volume total (Pelarut+Terlarut)}} \times 100\%$$

Keterangan :

Volume Zat A : Volume Perasan Jeruk Lemon

1. Air perasan jeruk lemon konsentrasi 100% adalah air perasan jeruk lemon tanpa ditambahkan pelarut aquades. Air perasan jeruk lemon diambil 10 ml untuk keperluan penelitian ini.
2. Air perasan jeruk lemon konsentrasi 75% adalah sebanyak 7,5 ml air perasan jeruk lemon konsentrasi 100% : 2,5 ml aquades.

$$\frac{75}{100} = \frac{V_{pj}}{10} \times 100\%$$

$$V_{pj} = 7,5 \text{ ml}$$

3. Air perasan jeruk lemon konsentrasi 50% adalah sebanyak 5 ml air perasan jeruk lemon konsentrasi 100% : 5 ml aquades.

$$\frac{50}{100} = \frac{V_{pj}}{10} \times 100\%$$

$$V_{pj} = 5 \text{ ml}$$

4. Air perasan jeruk lemon konsentrasi 25% adalah sebanyak 2,5 ml air perasan jeruk lemon konsentrasi 100% : 7,5 ml aquades.

$$\frac{25}{100} = \frac{V_{pj}}{10} \times 100\%$$

$$V_{pj} = 2,5 \text{ ml}$$

5. Air perasan jeruk lemon konsentrasi 12,5% adalah sebanyak 1,25 ml air perasan jeruk lemon konsentrasi 100% : 8,75 ml aquades.

$$\frac{12,5}{100} = \frac{V_{pj}}{10} \times 100\%$$

$$V_{pj} = 1,25 \text{ ml}$$

f. Pembuatan media pertumbuhan *L. acidophilus*

1. Persiapan pembuatan media MRS-B

Sebanyak 5,52 gram bubuk MRS-B dan aquades steril sebanyak 100 ml dimasukkan dalam tabung erlenmeyer, kemudian diaduk dengan pengaduk dan dipanaskan diatas kompor sampai mendidih. Setelah itu disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Untuk meyakinkan bahwa media cair (MRS-B) dalam keadaan steril, maka media tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2 jam.

2. Persiapan pembuatan media MRS-A

Sebanyak 5,79 gram bubuk media MRS-A (ditimbang dengan neraca) dan aquades steril sebanyak 100 ml dimasukkan dalam tabung erlenmeyer, kemudian diaduk dengan pengaduk dan dipanaskan dengan kompor sampai mendidih. Setelah itu disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Siapkan *petridish* yang sudah steril dan tuangkan MRS-A (dalam keadaan cair) ke dalam *petridish* sebanyak 25 ml pada suhu 45°-50°C (diukur dengan termometer) dan didinginkan sampai menjadi padat (Capuccino, 1983; Alcamo, 1983). Jika sudah padat, *petridish* dibalik dan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Hal ini dilakukan untuk meyakinkan bahwa media MRS-A dalam keadaan steril. Pembuatan media MRS-A sebanyak 28 *petridish*.

g. Pembuatan suspensi bakteri *L. acidophilus*

Kultur murni *L. acidophilus* diambil 1 ose kemudian diinokulasikan dalam tabung reaksi yang berisi media MRS-B sebanyak 4 ml. Selanjutnya tabung reaksi dimasukkan ke dalam desikator dengan cara sebagai berikut :

- a. Lilin di dalam desikator dinyalakan
- b. Tabung reaksi dimasukkan ke dalam desikator

- c. Desikator ditutup dengan penutupnya dan ditunggu sampai lilin mati (tidak ada oksigen).

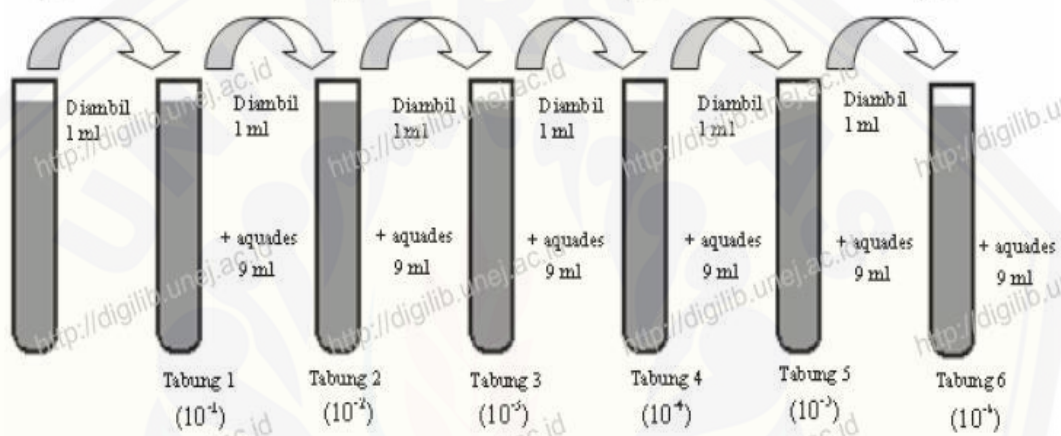
Kemudian desikator dimasukkan dalam inkubator dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 8 jam.

### 3.7.2 Tahap Perlakuan

Uji daya antibakteri yang digunakan adalah metode dilusi cair (*broth dilution*).

- a. Menyiapkan 7 tabung reaksi yang diberi label K(-), K(+), P1, P2, P3, P4, P5 dan masing-masing telah diisi 0,5 ml media MRS-B dan 0,5 ml *L. acidophilus*
  1. tabung K(-) ditambah aquades 0,5 ml
  2. tabung K(+) ditambah obat kumur Chlorhexidine 0,2% 0,5 ml
  3. tabung P1 ditambah air perasan buah lemon 100% 0,5 ml
  4. tabung P2 ditambah air perasan buah lemon 75% 0,5 ml
  5. tabung P3 ditambah air perasan buah lemon 50% 0,5 ml
  6. tabung P4 ditambah air perasan buah lemon 25% 0,5 ml
  7. tabung P5 ditambah air perasan buah lemon 12.5% 0,5 ml
- b. Tabung K(-), K(+), P1, P2, P3, P4, P5 divibrasi dengan *thermolyne*, selanjutnya masing-masing tabung dilakukan pengenceran  $10^{-6}$  dengan cara sebagai berikut (Gambar 3.1) :
  1. diambil 1 ml dari tabung yang akan diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung 1 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-1}$ )
  2. diambil 1 ml dari tabung 1 yang akan diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung 2 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-2}$ )
  3. diambil 1 ml dari tabung 2 yang akan diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung 3 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-3}$ )

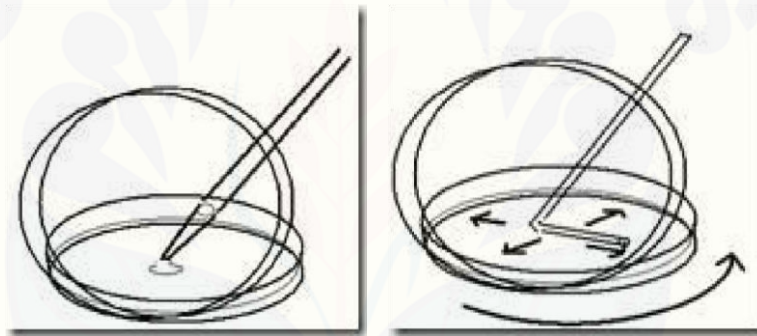
4. diambil 1 ml dari tabung 3 yang akan diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung 4 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-4}$ )
5. diambil 1 ml dari tabung 4 yang akan diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung 5 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-5}$ )
6. diambil 1 ml dari tabung 5 yang akan diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung 6 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-6}$ ) (Alcamo,1983).



**Gambar 3.1 Cara pengenceran bakteri  $10^{-6}$  (Cahyono, 2007)**

Pengenceran bakteri dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Menurut Wasteson and Hornes (2009) tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Perbandingan 1 : 9 digunakan untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisme dari pengenceran sebelumnya (Yunita *et al.*, 2015).

- c. Hasil dari pengenceran masing-masing kelompok (tabung 6) kemudian diinokulasikan menggunakan metode *spread plate* (Gambar 3.2) hanya pada permukaan media lempeng MRS-A yang telah padat dengan cara sebagai berikut :
1. Pindahkan 1 ml kultur bakteri dari masing-masing tabung reaksi secara aseptis ke permukaan media MRS-A pada *petridish* dengan *syringe* sesuai dengan kelompoknya dan diberi kode 1 sampai 4 untuk masing-masing kelompok.
  2. Bakar *spreader* yang sebelumnya telah dicelupkan dalam alkohol, biarkan dingin.
  3. Tebarkan/sebarkan suspensi bakteri dengan *spreader* secara merata dan biarkan sampai permukaan agar mengering (Gambar 3.2).



**Gambar 3.2 Spread Plate Method (Hafsan et al., 2015)**

- d. *Petridish* dibalik, kemudian dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam dengan suhu 37°C.

### 3.7.3 Tahap Pengamatan

Penghitungan jumlah koloni bakteri *L. acidophilus* dilakukan menggunakan *colony counter* setelah 48 jam diinkubasi (Gambar 3.3). Caranya dengan meletakkan *petridish* secara terbalik, kemudian pada *colony counter* tampak kotak-kotak kuadran yang terdiri dari 64 kotak. Tiap-tiap koloni bakteri dihitung pada kotak-kotak tanpa arsiran yang dipilih sebanyak 30 kotak secara acak dari keempat kuadran. Tiap kuadran diambil sebanyak 7 sampai

8 kotak secara merata. Hasil penghitungan pada tiap kuadran kemudian dijumlahkan. Tiap kelompok penelitian diamati sebanyak 3 kali oleh pengamat yang berbeda. Hasil penghitungan dari ketiga pengamat tersebut kemudian dijumlahkan dan diambil rata-ratanya (Alcarno,1983).

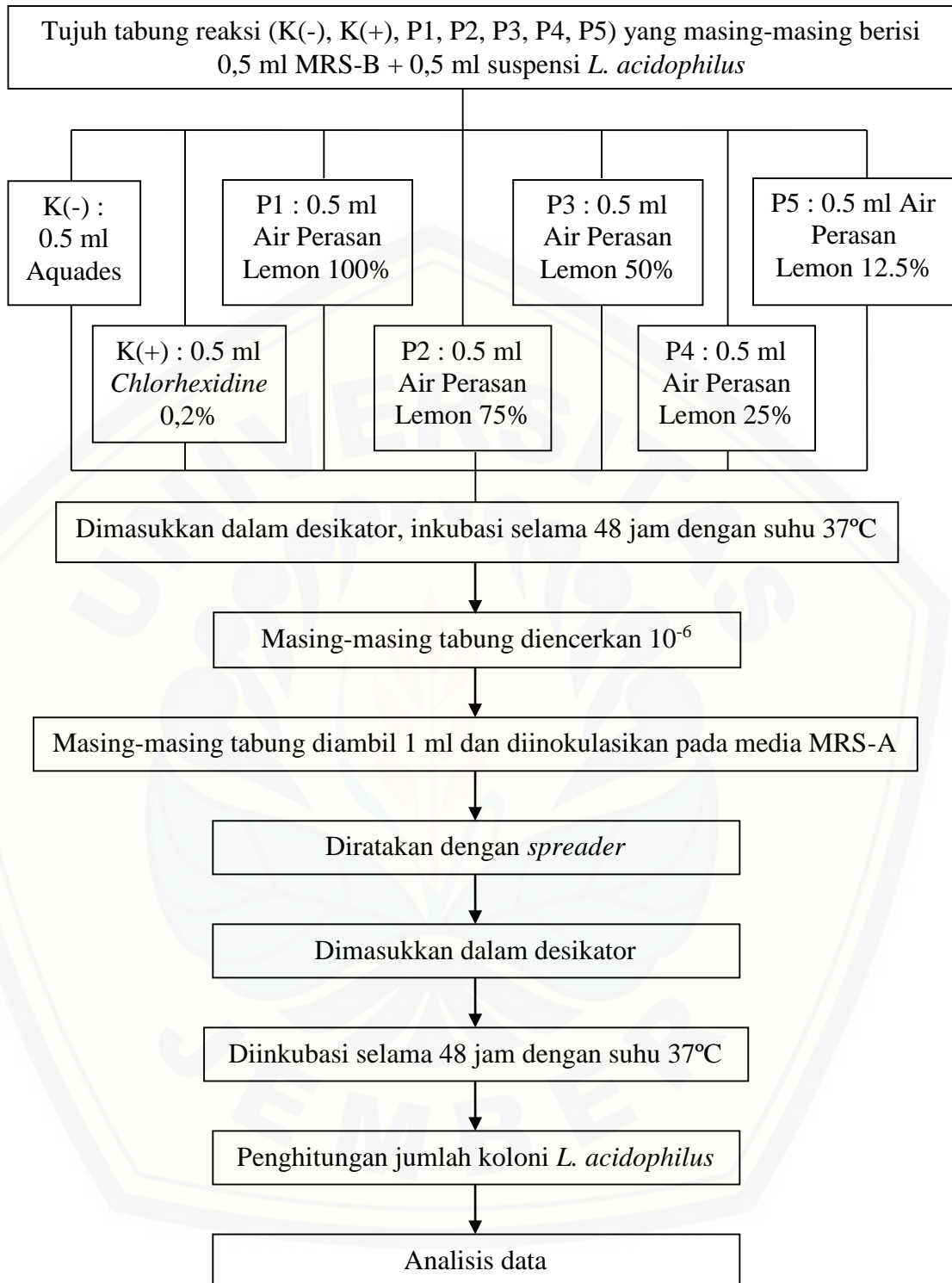
		7	8			
	3	4	5	6		
3		1	2		3	
7	4	1		1	4	7
	5	2		2	5	
	6	1	2		6	
		3	4	5	6	
		7	8			

**Gambar 3.3 Penghitungan koloni bakteri pada *colony counter* (Cahyono, 2007)**

### 3.8 Analisis Data

Data yang terkumpul disusun dalam bentuk tabel, kemudian dianalisis menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Data hasil penelitian dilakukan uji *Saphiro-Wilk* untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak dan uji *Levene* untuk menguji homogenitas data. Hasil analisis data menunjukkan bahwa data terdistribusi normal tetapi tidak homogen, sehingga analisis data dilanjutkan menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* ( $p < 0,05$ ), kemudian dilanjutkan dengan uji statistik *Mann Whitney* ( $p < 0,05$ ).

### 3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.4 Alur Penelitian



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

- a. Air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*.
- b. Air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) konsentrasi 50% merupakan konsentrasi efektif yang dapat menghambat pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat peneliti sampaikan untuk penelitian selanjutnya, antara lain:

- a. Penelitian lebih lanjut mengenai efek air perasan buah jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap jenis bakteri rongga mulut lainnya.
- b. Penelitian lebih lanjut tentang air perasan jeruk lemon terhadap demineralisasi enamel.

DAFTAR PUSTAKA

- Alcamo, E. 1983. *Laboratory Fundamental of Microbiology*. USA: Addison Wesley Publishing Company, Inc.
- Anggraini, I.R. 2017. Kemampuan Inhibisi Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Pelarut Etanol Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*. *Skripsi*. Jember. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Apridani, E., Yusmarini, dan Rahmayuni. 2014. Viabilitas *Lactobacillus plantarum* 1 yang Diisolasi dari Susu Kedelai Terfermentasi Spontan terhadap Asam Klorida dan Garam Empedu. *Jurnal Online Mahasiswa*, 1(1) : 1-8.
- Badet, C., dan Thebaud, N.B. 2008. Ecology of *Lactobacilli* in the Oral Cavity: A Review of Literature. *The Open Microbiology Journal*, 2: 38-48.
- Balagopal S, dan Arjunker R. 2013. Chlorhexidine: the gold antiplaque agent. *J Pharm Sci&Res*, 5(12): 270-4.
- Batubara, N.A. 2017. Efek Air Perasan Buah Jeruk Lemon (*Citrus limon*) Terhadap Laju Aliran, Nilai pH Saliva, dan Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* (*In Vivo*). *Skripsi*. Medan. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara.
- Bull, M., Sue, P., Julian, M., dan Eshwar, M. 2013. The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS Microbiology Letters*, 349 (2): 77-87.
- Cahyono, A. D. 2007. Kemampuan Perasan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus sp.* *Skripsi*. Jember. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Capuccino, J.G. 1983. *Microbiology a Laboratory Manual*. New York: Addison-Wesley Publishing Company, Inc.
- Cura, F., Palmieri, A., Girardi, A., Martinelli, M., Scapoli, L. dan Carinci, F. 2012. Lab-Test 4: Dental Caries and Bacteriological Analysis. *Dent Res J (Isfahan)*, 9 (Suppl 2): 139-41.
- Dev, C., dan Nidhi.S.R. 2016. Basketful benefit of Citrus limon. *Int Res J Pharm*, 7: 1-4.

- Dhanavade MJ, Jalkute CB, Ghosh JS, dan Sonawane KD. 2011 Study antimicrobial activity of lemon (*Citrus lemon L.*) peel extract. *Br J Pharmacol Toxicol*, 2: 119-22.
- Dorland, WA, Newman. 2010. *Kamus Kedokteran Dorland edisi 31*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. p. 702, 1003.
- Efendi, I dan Suryadi, E. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia, Edisi ke 6 vol 2*. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Hafsan, Eka, S., dan Mashuri, M. 2015. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi*. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Harley, J.P., dan Prescott, L.M. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology*, Fifth Edition. USA: The McGraw-Hill Companies.
- Indriana T. 2011. Perbedaan Laju Aliran Saliva dan pH Karena Pengaruh Stimulus Kimiawi dan Mekanis. *J Kedokt Meditek*, 17: 1-5.
- Indriani, Y., Mulqie L, dan Hazar S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Buah Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dan Madu Hutan terhadap *Propionibacterium Acne*. *Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba (Kesehatan dan Farmasi)*. Bandung: 354-61.
- Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*, 3: 46-55.
- Isnarianti, R., Ivan A., Wahyudi, Rini M. dan Puspita, 2013. *Muntingia calabura L.* Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. *J Dent Indonesia*, 20(3): 59-63.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. 2007. *Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23th Ed.* Alih bahasa oleh Hartanto, H., C. Rachman, A. Dimanti, dan A. Diani. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23*. Jakarta: EGC.
- Jay, J.M. 1997. *Modern Food Microbiology. Fifth Ed.* Chapman and Hall. New York.
- Kemenkes RI. 2019. *Laporan Nasional RISKESDAS 2018*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.

- Lopez-Romero, J. C., H. González-Ríos, A. Borges, dan M. Simões. 2015. Research Article Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 795435: 1-9.
- Luddin, N. dan Ahmed, H., M., A. 2013. The Antibacterial Activity of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Against *Enterococcus faecalis* : A Review on Agar Diffusion and Direct Contact Methods. *J Conserv Dent*, p. 9-16.
- Martasari C, dan Mulyanto H. 2008. Teknik Identifikasi Varietas Jeruk. *Iptek Hotikultura*, 4: 6-12.
- Mohanapriya, M., Ramaswamy, L., dan Rajendran, R. 2013. Health and medicinal properties of lemon (*Citrus limon*). *International Journal Of Ayuverdic and Herbal Medicine*, 3(1): 1095-1100.
- Nazzaro, F., F. Fratianni., L. D. Martino, R. Coppola, dan V. D. Feo. 2013. Review: Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. 6: 1451-1474.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metode Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Nurlaely, E. 2016. Uji Efektivitas Air Perasan Jeruk Lemon (*Citrus lemon L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Ciamis. Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Muhammadiyah.
- Oikeh, E.I, Omoregie, E.S, Oviasogie, F.E, dan Oriakhi, K. 2016. Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. *Food Science & Nutrition*, 4 : 103-9.
- Pandey AK. 2014. Physiology of saliva : an oview. *J Dent Ind*, 21: 32-8.
- Pelczar, M.J dan Chan, E.C.S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta : UI Press.
- Penniston, K.L., Nakada SY, Holmes RP, Assimos DG. 2008. Quantitative Assessment of Citric Acid in Lemon Juice, Lime Juice, and Commercially-Available Fruit Juice Products. *J Endourol*, 22: 567-570.
- Rahayu, T., dan R. Tuti. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffe terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10(1): 10-17.

- Ramadhinta TM, Nahzi MYI, dan Budiarti LY. 2016. Uji Efektivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Alami terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* in vitro. *DENTINO (Jur. Ked. Gigi)*, 2: 124-8.
- Ramirez-Chavarin, M.L., C.Wacher, C.A. Eslava-Campos and M.L. Prez-Chabela. 2013. Probiotic Potential of Thermotolerant Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Cooked Meat Products. *Int. Food research Journal*. 20(2) : 991-1000.
- Rezky LK, Handajani J. 2011. Efek Pengunyahan Permen Karet Gula dan Xylitol Terhadap Status Saliva. *Maj Ked Gi*. 18: 21-4.
- Rondhianto, Wantiyah, dan Putra F. M. 2016. Penggunaan Chlorhexidine 0,2% Dengan Povidone Iodine 1% Sebagai Dekontaminasi Mulut Terhadap Kolonisasi *Staphylococcus aureus* Pada Pasien Pasca Operasi Anestesi Umum. *Nurseline Journal*, 1(1): 176-183.
- Russo, M., Bonaccorsi, I., Torre, G., Saro, M., Dugo, P., and Modello, L., 2014. Underestimated Sources of Flavonoids, Limonoids, and Dietary Fibre: Availability in Lemon's by-Products. *J o Funct Foods*, (9): 18-26.
- Samaranayake, L. 2012. *Essential Microbiology for Dentistry*. 4<sup>th</sup> Edition. China: Elsevier.
- Sari, Maria A. N., 2013. Daya Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Jember. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Simon L. 2007. The role of *Streptococcus mutans* and oral ecology in the formation of dental caries. *Journal of Young Investigators: The Undergraduate Research Journal*.
- Sunarya, A. dan Agus, S. 2007. *Mudah dan Aktif Belajar Kimia untuk Kelas X Sekolah Menengah Atas/Madrasah Aliyah*. Bandung: PT. Setia Purna Inves.
- Supranto, J. 2000. *Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Susanti, I., R.W. Kusumaningtyas dan F. Illaningtyas. 2007. Uji Sifat Probiotik Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 18(2): 89-95.

- Sylvester, W. S., R. Son, K. F. Lew, dan Y. Rukayadi. 2015. Antibacterial activity of Java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) extract against *Klebsiella pneumoniae* isolated from several vegetables. *International Food Research Journal*. 22(5): 1770-1776.
- Tarigan, R. 2015. *Karies Gigi*. Jakarta: EGC.
- Valdes, E. N., Carrillo, E. L., Solis, C. E. M., Bermeo, N. L. R., Vilchis, R. J. S., Rosado, J. F. C., Loyola, A. P. P., dan Barrera, M. A. F. 2016. Tooth demineralization and associated factors in patients on fixed orthodontic treatment. *Scientific report*.
- Waghmare, P.F., Chaudhari, A.U., Karhadkar, V.M., Jamkhande, A.S., 2011. Comparative Evaluation of Turmeric and Chlorhexidine Gluconate Mouthwash in Prevention of Plaque Formation and Gingivitis: A Clinical and Microbiological Study. *J Contemp Dent Pract*, 12(4): 221-224.
- Waluyo, L. 2010. *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: UMM Press.
- Wasteson, Y dan Hornes, E. 2009. Pathogenic *Escherichia coli* Found in Food. *International Journal Of Food Microbiology*. 12 (12): 103-114.
- Wijayanto, U. 2009. Analisis *in vitro* Toleransi Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Daging Sapi terhadap pH Lambung dan Garam Empedu sebagai Kandidat Probiotik. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Xia, E., Deng, G., Guo, Y., & Li, H. 2010. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Science*, 11; 622-646.
- Yunita M, Hendrawan Y, Yulianingsih R. 2015 Analisis kuantitatif mikrobiologi pada makanan penerbangan (*aerofood ACS*) Garuda Indonesia berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) dengan metode *pour plate*. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. 3: 237-48.

LAMPIRAN

**A. Penghitungan Air Perasan Jeruk Lemon**

- a. Konsentrasi 75 %

$$\frac{75}{100} = \frac{V_{pj}}{10} \times 100\%$$

$$V_{pj} = 7,5 \text{ ml}$$

- b. Konsentrasi 50%

$$\frac{50}{100} = \frac{V_{pj}}{10} \times 100\%$$

$$V_{pj} = 5 \text{ ml}$$

- c. Konsentrasi 25%

$$\frac{25}{100} = \frac{V_{pj}}{10} \times 100\%$$

$$V_{pj} = 2,5 \text{ ml}$$

- d. Konsentrasi 12.5%

$$\frac{12.5}{100} = \frac{V_{pj}}{10} \times 100\%$$

$$V_{pj} = 1,25 \text{ ml}$$

**B. Data Hasil Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri**

Rerata Jumlah Koloni *L. acidophilus*

<i>Petridish</i>	K-	K+	P1	P2	P3	P4	P5
1	53	0	0	0	0	0	25
2	21	0	0	0	0	5	11
3	148	0	0	0	0	3	23
4	340	0	0	0	0	3	38

**C. Analisis Data**

C.1 Hasil Uji Normalitas dengan Uji *Saphiro-Wilk*

**Tests of Normality<sup>b,c,d,e</sup>**

	KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
RERATA	KONTROL NEGATIF	,229	4	.	,894	4	,402
	25%	,298	4	.	,926	4	,572
	12.5%	,223	4	.	,973	4	,859

C.2 Hasil Uji Homogenitas dengan Uji *Levene*

**Test of Homogeneity of Variances**

RERATA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,573	6	21	,001

C.3 Hasil Uji Non-Parametrik *Kruskal Wallis*

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank
RERATA	KONTROL NEGATIF	4	25,75
	KONTROL POSITIF	4	9,00
	100%	4	9,00
	75%	4	9,00
	50%	4	9,00
	25%	4	16,50
	12.5%	4	23,25
	Total	28	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

RERATA	
Chi-Square	24,982
Df	6
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

KELOMPOK



C.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok *Mann-Whitney*

a. Kontrol Negatif (Aquadres) : Kontrol Positif (*Chlorhexidine*)

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL NEGATIF	4	6,50	26,00
	KONTROL POSITIF	4	2,50	10,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

b. Kontrol Negatif (Aquadres) : Air Perasan Jeruk Lemon 100%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL NEGATIF	4	6,50	26,00
	100%	4	2,50	10,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

c. Kontrol Negatif (Aquadres) : Air Perasan Jeruk Lemon 75%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL NEGATIF	4	6,50	26,00
	75%	4	2,50	10,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

d. Kontrol Negatif (Aquadres) : Air Perasan Jeruk Lemon 50%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL NEGATIF	4	6,50	26,00
	50%	4	2,50	10,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

e. Kontrol Negatif (Aquadres) : Air Perasan Jeruk Lemon 25%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL NEGATIF	4	6,50	26,00
	25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

f. Kontrol Negatif (Aquadres) : Air Perasan Jeruk Lemon 12.5%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL NEGATIF	4	5,75	23,00
	12.5%	4	3,25	13,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	13,000
Z	-1,443
Asymp. Sig. (2-tailed)	,149
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

g. Kontrol Positif (*Chlorhexidine*) : Air Perasan Jeruk Lemon 100%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL POSITIF	4	4,50	18,00
	100%	4	4,50	18,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

h. Kontrol Positif (*Chlorhexidine*) : Air Perasan Jeruk Lemon 75%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL POSITIF	4	4,50	18,00
	75%	4	4,50	18,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

i. Kontrol Positif (*Chlorhexidine*) : Air Perasan Jeruk Lemon 50%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL POSITIF	4	4,50	18,00
	50%	4	4,50	18,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

j. Kontrol Positif (*Chlorhexidine*) : Air Perasan Jeruk Lemon 25%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL POSITIF	4	3,00	12,00
	25%	4	6,00	24,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-2,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

k. Kontrol Positif (*Chlorhexidine*) : Air Perasan Jeruk Lemon 12.5%

Ranks				
	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	KONTROL POSITIF	4	2,50	10,00
	12.5%	4	6,50	26,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

l. Air Perasan Jeruk Lemon 100% : Air Perasan Jeruk Lemon 75%

Ranks				
	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	100%	4	4,50	18,00
	75%	4	4,50	18,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	RERATA
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

m. Air Perasan Jeruk Lemon 100% : Air Perasan Jeruk Lemon 50%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	100%	4	4,50	18,00
	50%	4	4,50	18,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

n. Air Perasan Jeruk Lemon 100% : Air Perasan Jeruk Lemon 25%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	100%	4	3,00	12,00
	25%	4	6,00	24,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-2,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

o. Air Perasan Jeruk Lemon 100% : Air Perasan Jeruk Lemon 12.5%

Ranks				
	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	100%	4	2,50	10,00
	12.5%	4	6,50	26,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

p. Air Perasan Jeruk Lemon 75% : Air Perasan Jeruk Lemon 50%

Ranks				
	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	75%	4	4,50	18,00
	50%	4	4,50	18,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.



q. Air Perasan Jeruk Lemon 75% : Air Perasan Jeruk Lemon 25%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	75%	4	3,00	12,00
	25%	4	6,00	24,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-2,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

r. Air Perasan Jeruk Lemon 75% : Air Perasan Jeruk Lemon 12.5%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	75%	4	2,50	10,00
	12.5%	4	6,50	26,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

s. Air Perasan Jeruk Lemon 50% : Air Perasan Jeruk Lemon 25%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	50%	4	3,00	12,00
	25%	4	6,00	24,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-2,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

t. Air Perasan Jeruk Lemon 50% : Air Perasan Jeruk Lemon 12.5%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	50%	4	2,50	10,00
	12.5%	4	6,50	26,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

RERATA	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

b. Not corrected for ties.

u. Air Perasan Jeruk Lemon 25% : Air Perasan Jeruk Lemon 12.5%

**Ranks**

	KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
RERATA	25%	4	2,50	10,00
	12.5%	4	6,50	26,00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

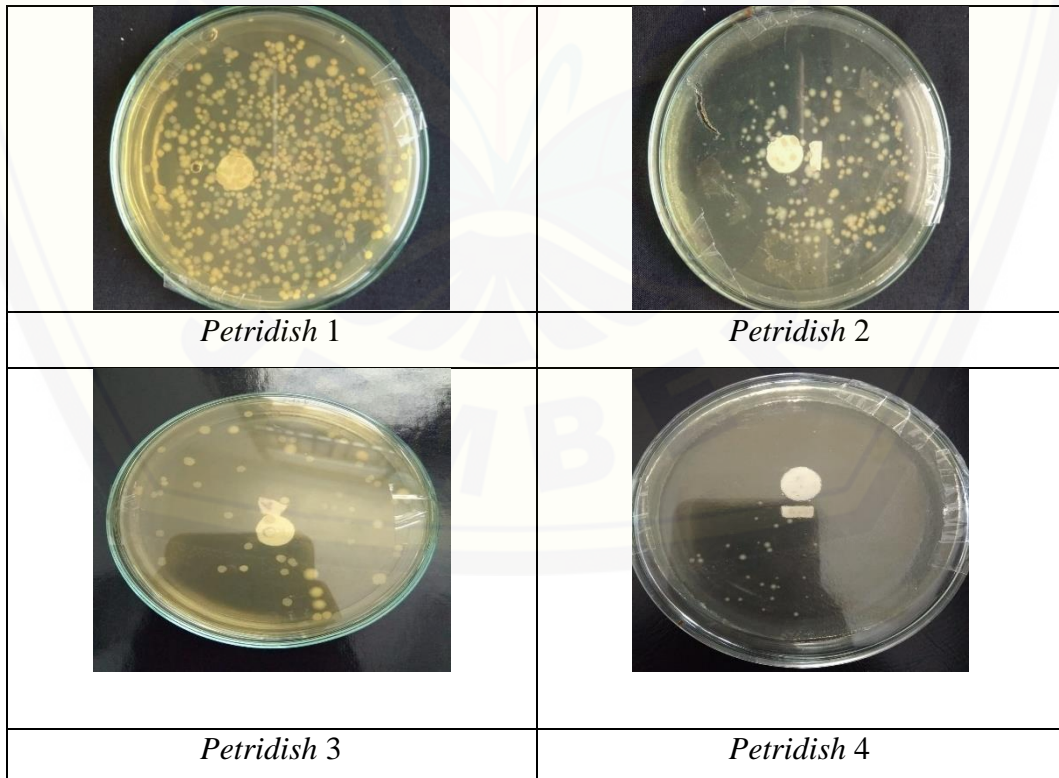
	RERATA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: KELOMPOK

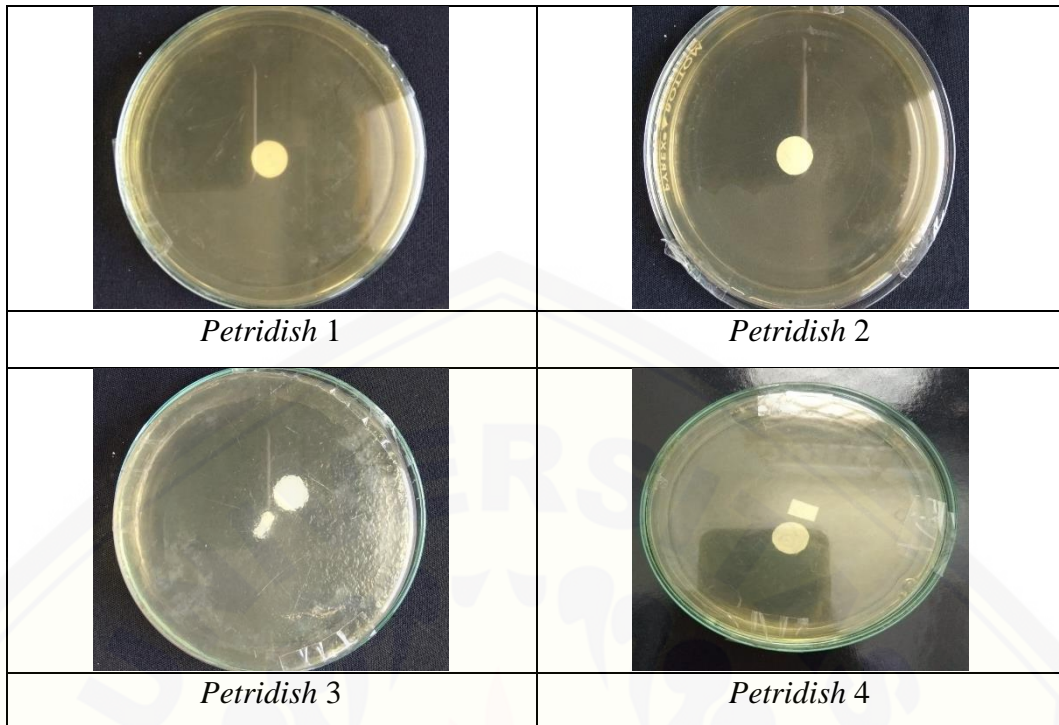
b. Not corrected for ties.

**D. Foto Hasil Penelitian**

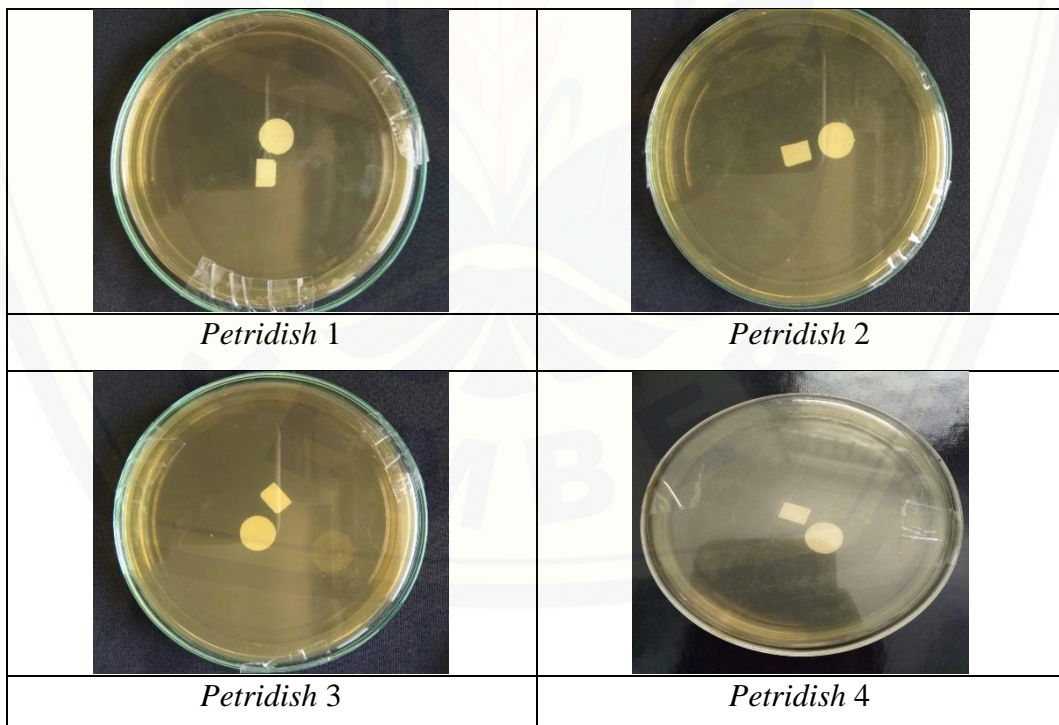
Kelompok K- (Aquades steril)



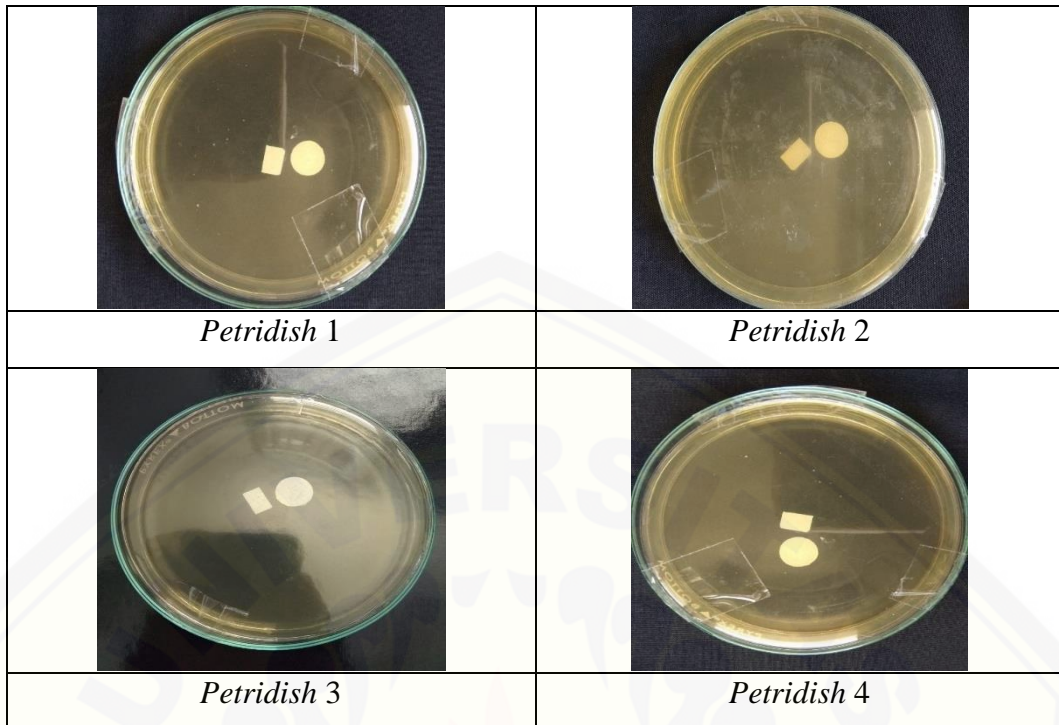
Kelompok K+ (Chlorhexidine)



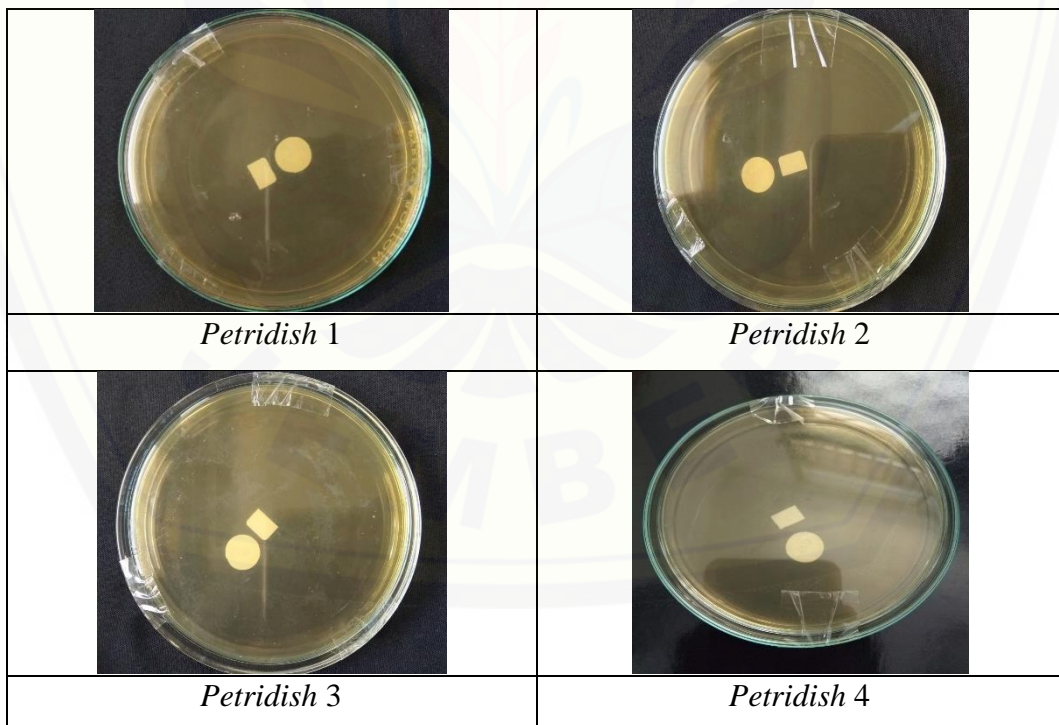
Kelompok P1 (100%)



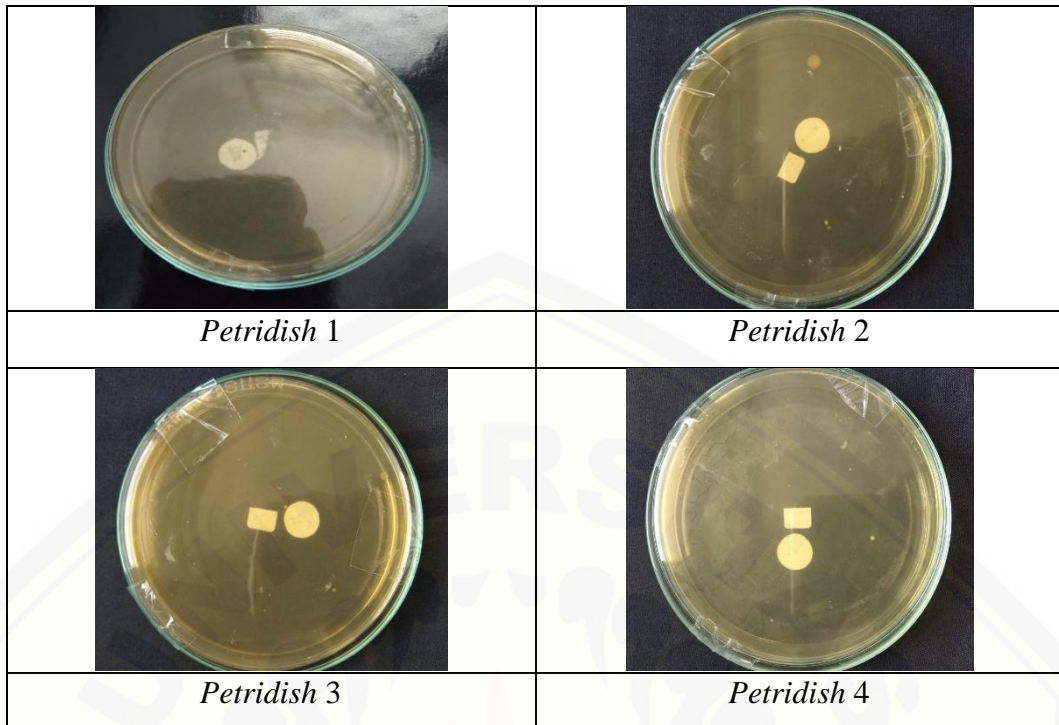
Kelompok P2 (75%)



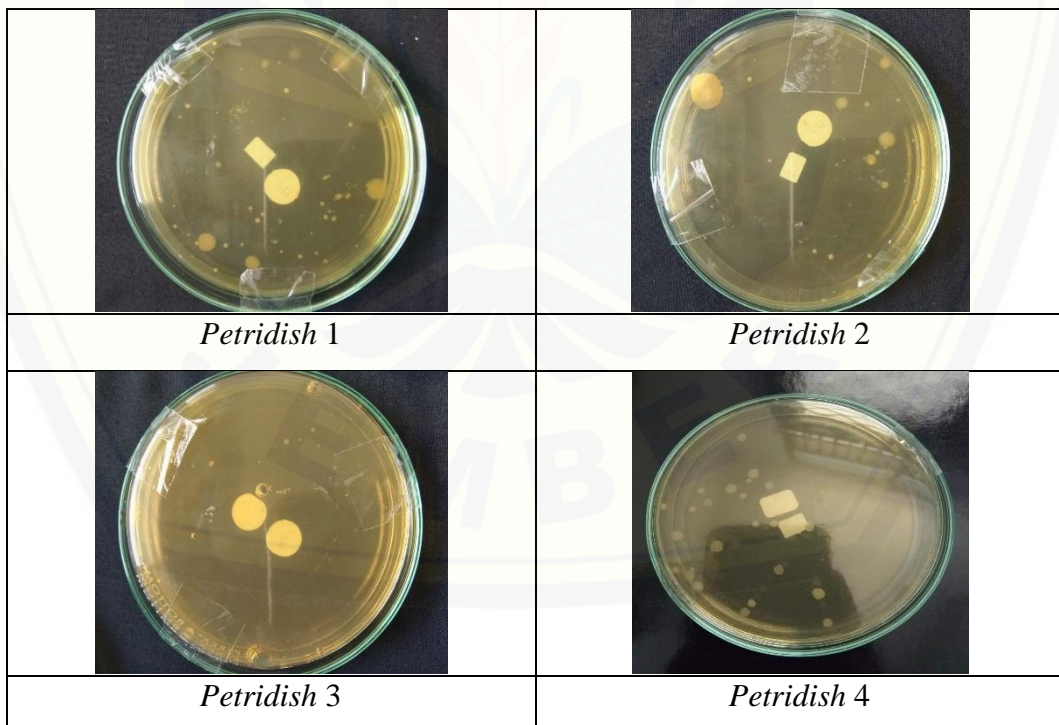
Kelompok P3 (50%)



Kelompok P4 (25%)












Kelompok P5 (12.5%)



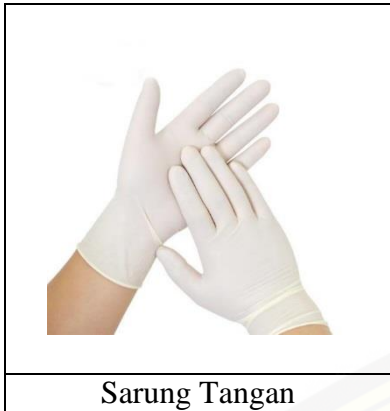
**E. Foto Alat dan Bahan Penelitian**

**E.1 Alat Penelitian**

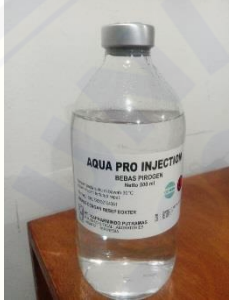

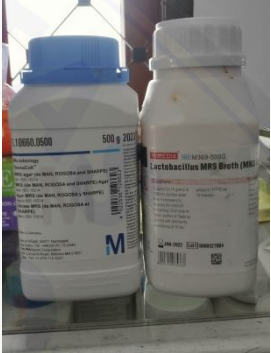


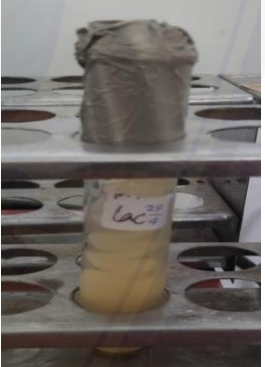
		
<i>Petridish</i>	<i>Disposable syringe</i>	<i>Laminar flow cabinet</i>
		
<i>Autoclave</i>	<i>Oven</i>	<i>Tabung Reaksi</i>
		
<i>Colony counter</i>	<i>Desikator</i>	<i>Inkubator</i>

		
Mikropipet	Gelas Ukur	<i>Thermolyne</i>
		
Neraca	Tabung Erlenmeyer	Kompor
		
Pisau Steril	Pengaduk	Ose
		
Alat Pemas Jeruk	<i>Spreader</i>	Spektrofotometer






E.2 Bahan Penelitian

		
Aquades Steril	Obat Kumur <i>Chlorhexidine 0,2%</i>	Bubuk MRS-A & Bubuk MRS-B
		
Lilin	Jeruk Lemon	Kultur Murni <i>L. acidophilus</i>

## F. Surat Keterangan

### F.1 Surat Keterangan Identifikasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0
---

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**POLITEKNIK NEGERI JEMBER**  
**LABORATORIUM TANAMAN**  
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531  
E-mail : [Polije@polije.ac.id](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

---

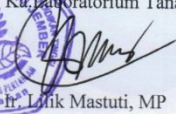
**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**  
No: 67/PL17.3.1.02/LL/2018


Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 5056/UN25.8.TL/2018 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Imaniar Leonita Maulidia  
NIM : 151610101106  
Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:  
*Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Spindales; Famili: Rutaceae; Genus: Citrus; Spesies: Citrus limon (L.)*  
Burm.f.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 17 Desember 2018  
Ks. Laboratorium Tanaman  
  
Ir. Lilik Mastuti, MP  
NIP. 195808201987032001



F.2 Surat Keterangan Identifikasi Bakteri



LABORATORIUM MIKROBIOLOGI  
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER

**SURAT KETERANGAN**  
No. 170 / MIKRO / S.KET / 2019

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Imaniar Leonita Maulidia  
NIM : 151610101106  
Fakultas : Kedokteran Gigi  
Keperluan : Penelitian

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 dengan menggunakan uji pewarnaan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil bacill, Gram positif, dan tidak terkontaminasi.

Jember, 2019

Mengetahui,

Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

(drg. Amandia Dewi Permana S, M.Biomed)  
NIP. 198006032006042002

(drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes)  
NIP. 197608092005012002

F.3 Surat Keterangan Ijin Penelitian

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 375/UN25.8.TL/2018  
Perihal : Ijin Penelitian

01 OCT 2018

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Mikrobiologi  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

1	Nama	: Imaniar Leonita Maulidia
2	NIM	: 151610101106
3	Semester/Tahun	: 2017/2018
4	Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat	: Jl. Mastrip 2 no 73 Jember
6	Judul Penelitian	: Daya Hambat Air Perasan Jeruk Lemon ( <i>Citrus limon</i> ) terhadap Pertumbuhan <i>Lactobacillus acidophilus</i>
7	Lokasi Penelitian	: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8	Data/alat yang dipinjam	: Data identifikasi bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>
9	Waktu	: September 2018 s/d Selesai
10	Tujuan Penelitian	: Untuk Menganalisis Daya Hambat Air Perasan Jeruk Lemon ( <i>Citrus limon</i> ) terhadap Pertumbuhan <i>Lactobacillus acidophilus</i>
11	Dosen Pembimbing	: 1. drg. Dyah Setyorini, M. Kes 2. drg. Amandia Dewi Permana Shita, M. Biomed

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

  
Dr. drg. IDA Susilawati, M. Kes  
NIP. 196109031986022001