

Uji Aktivitas Antibakteri *Mouthwash* dan Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Antioxidant and Antibacterial Activity Test of Lime Essential Oil (Citrus aurantifolia)

Melati Aprilliana Ramadhani⁽¹⁾, M.Ridho Anhuma Turaya⁽²⁾, Maulidahul Aminah⁽³⁾,
Devi Mardiyanti⁽⁴⁾, Rissa Laila Vifta⁽⁵⁾, Sulastri⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo, Kabupaten Semarang

⁽⁵⁾Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung, Semarang

⁽⁶⁾Program Studi S1 Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung

Email Korespondensi : melatiaprilliana@unw.ac.id

ABSTRAK

Antibakteri dan antioksidan adalah dua khasiat farmakologis pada tanaman obat yang sering diteliti. Jeruk nipis adalah tanaman yang memiliki kedua aktivitas tersebut. Salah satu metabolit sekunder yang berpotensi adalah minyak atsiri, yang banyak terkandung pada bagian kulitnya. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis aktivitas *mouthwash* minyak atsiri kulit jeruk nipis (MAKJN) terhadap bakteri *Streptococcus mutan* dan antioksidan MAKJN. Metode penelitian yang digunakan adalah skrining fitokimia MAKJN dengan uji warna dan GCMS, uji antibakteri pada *mouthwash* menggunakan metode kertas cakram dengan konsentrasi MAKJN 1%, 2%, 3%, dan uji antioksidan menggunakan DPPH. Data dianalisis menggunakan SPSS versi 27 dengan metode uji post-hoc LSD. Skrining fitokimia pada MAKJN menunjukkan kandungan flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin, sedangkan hasil GCMS menunjukkan senyawa terbanyak adalah l-Limonene. Uji antibakteri *mouthwash* MAKJN pada konsentrasi 1%, 2%, 3% berturut-turut memiliki zona hambat rata-rata (mm) 3,65; 3,97; dan 5,82. Analisis SPSS menggunakan uji LSD menunjukkan zona hambat F3 memiliki nilai $p < 0,05$ jika dibandingkan dengan F1 dan F2 yang menunjukkan perbedaan yang signifikan. Aktivitas antioksidan MAKJN ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sebesar 80,060 ppm. Simpulan penelitian ini adalah *mouthwash* MAKJN memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutan* pada konsentrasi 3% dengan potensi sedang, dan aktivitas antioksidan MAKJN memiliki potensi yang kuat.

Kata Kunci : Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis, *Mouthwash*, Antibakteri, Antioksidan,

ABSTRACT

Antibacterial and antioxidant activities are two frequently studied pharmacological properties of medicinal plants. Lime is a plant that possesses both of these activities. One potential secondary metabolite is essential oil, which is abundantly found in the peel. The purpose of this study was to analyze the activity of lime peel essential oil (MAKJN) mouthwash against Streptococcus mutans and the antioxidant activity of MAKJN. The research methods used were phytochemical screening of MAKJN using color and GCMS tests, antibacterial testing of the mouthwash using the paper disc method with MAKJN concentrations of 1%, 2%, and 3%, and antioxidant testing using DPPH. Data were analyzed using SPSS version 27 with the LSD post-hoc test method. Phytochemical screening of MAKJN revealed flavonoids, alkaloids, terpenoids, and saponins, while GCMS results indicated the most abundant compound was l-Limonene. The antibacterial test of MAKJN mouthwash at concentrations of 1%, 2%, and 3% respectively had an average inhibition zone (mm) of 3.65; 3.97; and 5.82. SPSS analysis using

the LSD test, namely the F3 inhibition zone had a p value <0.05 when compared with F1 and F2 which showed a significant difference. The antioxidant activity of MAKJN produced an IC50 value of 80.060 ppm. The conclusion of this study is that MAKJN mouthwash has potential as an antibacterial against *Streptococcus mutans* at a concentration of 3% with moderate potential, and MAKJN's antioxidant activity has strong potential.

Keywords : Lime Peel Essential Oil, Mouthwash, Antibacterial, Antioxidants

PENDAHULUAN

Back to Nature merupakan salah satu tren gaya hidup pada masyarakat Indonesia pada masa ini. Indonesia merupakan negara yang dikenal memiliki kekayaan alam yang melimpah, diantaranya memiliki sekitar 30.000 jenis tanaman berkhasiat. Adanya banyak tanaman yang berpotensi dijadikan obat, menyebabkan Indonesia mendapat julukan *live laboratory*. Kekayaan flora tersebut, membuat Indonesia memiliki potensi untuk mengembangkan produk-produk herbal (Adiyasa & Meiyanti, 2021). Sekitar 1200 jenis tanaman berkhasiat yang bermanfaat untuk kesehatan dan sudah banyak dilakukan penelitian untuk pengembangan obat tradisional (Ansyar, 2022). Salah satu tanaman berkhasiat yang memiliki aktivitas farmakologi dan dikenal masyarakat luas adalah jeruk nipis.

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berasal dari famili Rutaceae yang dapat tumbuh di daerah sub tropis dan tropis yang Tanaman ini sudah banyak diteliti dan dimanfaatkan untuk membuat obat herbal dan kosmetik. Masyarakat Indonesia sejauh ini baru memanfaatkan jeruk nipis pada bagian buahnya saja, dan hanya dimanfaatkan sebagai bumbu dapur serta pembuatan minuman (Wibaldus et al., 2016), sedangkan kulitnya hanya terbuang saja, maka peneliti ingin menganalisis efek farmakologis dari kulit jeruk nipis.

Salah satu aktivitas farmakologi dari kulit jeruk nipis adalah antibakteri. Metabolit sekunder minyak atsiri pada jeruk nipis sudah pernah dilakukan oleh Putri et al (2021) terhadap *Streptococcus agalactiae*, pada konsentrasi 0%; 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; 100% dapat

menghasilkan zona hambat berturut-turut rata-rata sebesar 0; 0; 0; 0; 15; 22,25; 22,25 mm. Pada penelitian uji antibakteri ini, dilakukan terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri tersebut dapat menyebabkan terjadinya karies gigi (Rachfa et al., 2021). Karies gigi menyerang pada 60-90% anak-anak dan hampir 100% pada orang dewasa (Damanik et al., 2021). Karies gigi merupakan kerusakan pada struktur gigi yang dapat membuat perlubangan pada gigi karena jaringan keras gigi yang sudah mengalami pelunakkan dan diikuti terbentuknya rongga atau kavitas (Hasiru et al., 2019).

Mouthwash adalah obat yang berfungsi sebagai pelindung kesehatan dan pencegahan infeksi pada mulut (Lestari et al., 2022). *Mouthwash* biasanya mengandung 50-70% alkohol yang bertujuan untuk memberikan khasiat antiseptik. Penggunaan alkohol dalam sediaan *mouthwash* memiliki dampak negatif, diantaranya yaitu nyeri orofasial, perubahan warna gigi, *burning sensation* hingga yang paling parah yaitu terjadinya kanker mulut (Hayati et al, 2025).

Tingginya prevalensi kasus penyakit infeksi pada gigi tersebut menjadi salah satu masalah kesehatan global yang perlu perhatian khusus. Solusi pemecahan permasalahan yaitu perlu adanya pencarian senyawa dari alam untuk menangani kasus tersebut. Senyawa flavonoid dan terpenoid pada kulit jeruk nipis memiliki peran sebagai penghambatan pertumbuhan bakteri karena mampu mencegah produksi toksin. Selain itu senyawa tersebut juga memiliki peran penting untuk mengurangi stress oksidatif yang disebabkan adanya paparan radikal bebas (Veiko et al., 2023).

Rongga mulut dapat terpapar oleh radikal bebas diantaranya seperti produk makanan, tembakau, nikotin, produk dental, dan bakteri yang dapat menyerang pada rongga mulut (Wahyuni, 2017). Paparan radikal bebas tersebut dapat distabilkan dan ditangkal oleh senyawa antioksidan.

Antioksidan berperan dalam menetralkan senyawa radikal bebas dan molekul yang reaktif, sehingga kerusakan sel dapat dicegah (Rahadyana et al., 2024). Berdasarkan penelitian sebelumnya minyak atsiri jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 12,38 ppm yang masuk dalam kategori sangat kuat (Rahmavika et al., 2023).

Berdasarkan latar belakang tersebut, sediaan *mouthwash* dengan bahan aktif dari herbal dapat dapat meminimalisir efek samping yang merugikan dari penggunaan sediaan *mouthwash* beralkohol, sehingga peneliti tertarik untuk meneliti *mouthwash* minyak atsiri jeruk nipis (MAKJN) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan metode kertas cakram dan uji antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat gelas (iwaki), spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu), cawan petri, mikropipet (socorex), autoklaf (Hirayama), jarum ose, oven (binder), inkubator (binder), GCMS (Shimadzu).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah minyak atsiri kulit jeruk nipis (CV. Pavettia Wangi Atsiri), vitamin C (farmasetis), aquadest, H_2SO_4 (p.a. Merck), reagen dragendroff (p.a. Merck), reagen mayer (p.a. Merck), HCl 2 N (p.a. Merck), $FeCl_3$ (p.a. Merck), Eter (p.a. Merck), Etanol 70% (p.a. Merck), asam asetat anhidrat (p.a. Merck), etanol

(p.a. Merck), kertas cakram, NaCl 0,9%, kontrol positif (*Mouthwash Total Care*).

Metode Penelitian

Skrining Fitokimia Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (MAKJN)

Uji Flavonoid

Sebanyak 2 ml MAKJN ditetaskan dengan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Adanya perubahan warna menjadi kuning hingga merah kecoklatan, maka menunjukkan sampel mengandung flavonoid (Pravita & Dhurhanian, 2023).

Uji Alkaloid

Sebanyak 2 ml MAKJN dilarutkan dalam HCl 2N sebanyak 5 ml. Larutan yang terbentuk, kemudian dibagi 2. Tabung pertama diberi reagen dragendrof 3 tetes dan tabung kedua diberi reagen meyer dengan tetesan yang sama. Jika pada tabung pertama terdapat endapan jingga, dan endapan putih kekuningan pada tabung kedua, maka menunjukkan adanya alkaloid (Munadi & Arifin, 2022).

Uji Saponin

Sebanyak 1 ml MAKJN ditambahkan aquadest 10 ml kemudian dipanaskan, setelah itu campuran dikocok dan dibiarkan 15 menit. Selanjutnya ditambahkan HCl 2 N 2 tetes. Adanya busa yang stabil menunjukkan adanya kandungan saponin pada sampel (A. P. Putri & Nasution, 2022)

Uji Tanin

Sebanyak 1 ml MAKJN ditambahkan 20 ml aquadest, dipanaskan, kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan $FeCl_3$ 1% sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif jika terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman (Ikalinus et al., 2015).

Uji Fenol

Sebanyak 2 ml MAKJN ditambahkan 10 tetes eter, kemudian direaksikan dengan $FeCl_3$. Perubahan warna yang terjadi adalah hitam kebiruan jika sampel positif fenol (Bawekes et al, 2023).

Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 1 mL MAKJN ditambahkan 3 mL etanol 70%, 2 mL H₂SO₄ pekat, dan 2 mL asam asetat anhidrat. Perubahan warna dari ungu menjadi biru, yang menandakan adanya steroid. Jika terbentuk warna merah kecoklatan di permukaan, menunjukkan adanya keberadaan triterpene.

Analisis Komponen MAKJN dengan GC-MS

Sebanyak 0,10 µL MAKJN diinjeksikan dengan menggunakan syringe ke dalam GC-MS dengan kondisi operasional sebagai berikut: suhu kolom 50°C, suhu injeksi 280°C, mode split 1.00, jenis kolom SH-Rxi-5Sil MS (Crossbond, 5% diphenyl/95% dimethyl polysiloxane, penyangga fused silica), panjang kolom 30 m, tekanan 26,7 kPa, total aliran 72,1 mL/min, laju alir kolom 0,68 mL/min, kecepatan linier 30.0 cm/sec, aliran tusukan 3.0 mL/min, suhu kolom 50-280°C dengan kenaikan suhu 3°C/menit, suhu sumber ion 220 °C, suhu antarmuka 250°C, jenis pengionan Elecron Impact (EI), dan gas pembawa yang berupa Helium.

Formulasi Mouthwash MAKJN

MAKJN pada penelitian ini, diformulasikan menjadi sediaan *mouthwash*. Formulasi *mouthwash* terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi Mouthwash MAKJN

| Bahan | Konsentrasi (%) | | |
|-------------|-----------------|--------|--------|
| | F1 | F2 | F3 |
| MAKJN | 1 | 2 | 3 |
| Tween 80 | 7,5 | 7,5 | 7,5 |
| Gliserin | 5 | 5 | 5 |
| Na. | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| Benzoat | | | |
| Na. Sakarin | 1 | 1 | 1 |
| Aquadest | ad 100 | ad 100 | ad 100 |

Bahan yang larut air (Na. Benzoat, Na. sakarin, tween 80, serta gliserin) dan bahan yang tidak larut air (MAKJN)

masing-masing disiapkan, kemudian dicampurkan bersama sambil diaduk hingga larut dan homogen, lalu disaring, serta dimasukkan dalam botol dengan volume akhir sediaan 100 mL.

Uji Aktivitas Antibakteri Mouthwash MAKJN

Pembuatan media Mueller Hinton Agar (MHA)

Sebanyak 3,8 gram media MHA dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, dilarutkan dengan 100 mL air suling yang diikuti dengan pemanasan dan pengadukan lalu disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Handayani et al., 2017).

Uji Aktivitas Antibakteri

Cawan petri diisi 1 mL suspensi bakteri yang telah sesuai dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland 0,5 menggunakan mikropipet. Setelah itu masing-masing cawan petri diisi media MHA tunggu sampai memadat. *Paper disc* direndam ke dalam setiap sampel uji yaitu F1, F2, F3, kontrol negatif (formula tanpa MAKJN) dan kontrol positif (*mouthwash* komersial), Kertas cakram yang sudah direndam diletakkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media MHA dan suspensi bakteri,

Cawan petri ditutup dan diinkubasi menggunakan inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi 24 jam pada masing-masing sampel menggunakan jangka sorong lalu catat hasil pengukurannya

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 10 mL larutan DPPH dengan konsentrasi 100 ppm dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a, kemudian diinkubasi selama 30 menit di tempat yang gelap, terlindung dari cahaya. Diukur pada panjang gelombang 450-550 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Amara et al., 2024).

Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

10 mg vitamin C dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 100 mL sampai tanda batas. Pembuatan seri konsentrasi vitamin C dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm.

Pengukuran Operating Time

Sebanyak 3 mL larutan DPPH 40 ppm dicampurkan dengan 1 mL vitamin C konsentrasi 5 ppm, lalu diukur absorbansinya tiap menit selama 30 menit pada panjang gelombang maksimum (Amara et al., 2024)

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan MAKJN

3 mL larutan DPPH kemudian tambahkan 1 mL larutan vitamin C dari masing-masing seri konsentrasi 1, 2 3, 4, dan 5 ppm. Campuran diinkubasi selama operating time yang diperoleh, lalu absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan MAKJN yaitu dengan membuat konsentrasi 1000 ppm, kemudian diencerkan pada konsentrasi 60, 80, 100, 120 dan 140 ppm. 3 mL larutan DPPH kemudian tambahkan 1 mL MAKJN. Inkubasi selama operating time pada suhu kamar, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan SPSS Versi 27 dengan uji homogenitas menggunakan Levene test dan

uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Jika data yang diperoleh normal dan homogen, dilakukan uji parametrik (ANOVA) dengan uji pos-hoc LSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Skrining Fitokimia MAKJN

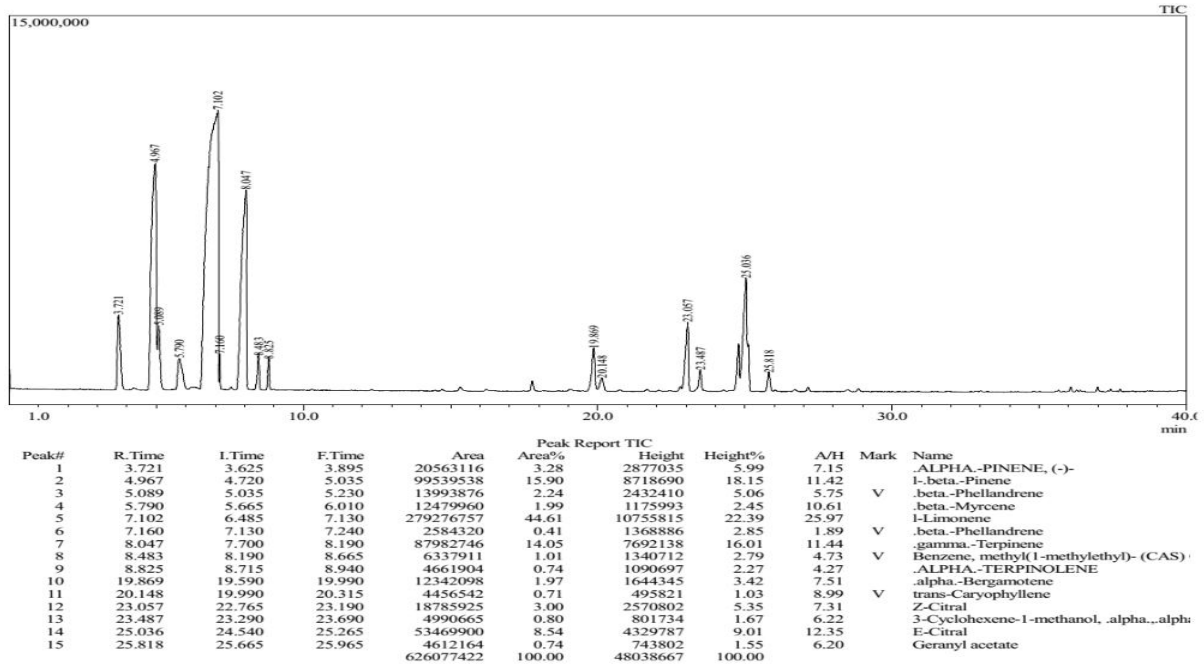
Skrining fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada MAKJN. Hasil skrining fitokimia pada MAKJN terdapat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia MAKJN

| Kandungan senyawa | Hasil Pengujian | Ket. |
|-------------------|------------------|------|
| Flavonoid | Kecoklatan | + |
| Alkaloid | Endapan putih | + |
| Tanin | Putih kekuningan | - |
| Fenol | Endapan kuning | - |
| Terpenoid | Coklat kemerahan | + |
| Saponin | Busa stabil | + |

Analisis Komponen MAKJN dengan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*)

Analisis komponen MAKJN dengan metode GCMS tujuannya adalah untuk mrngidentifikasi dan mengetahui komposisi senyawa dalam sampel, khususnya untuk senyawa organik yang mudah menguap. Hasil analisa komponen minyak atsiri jeruk nipis pada penelitian ini terdapat pada gambar 1 dan 2



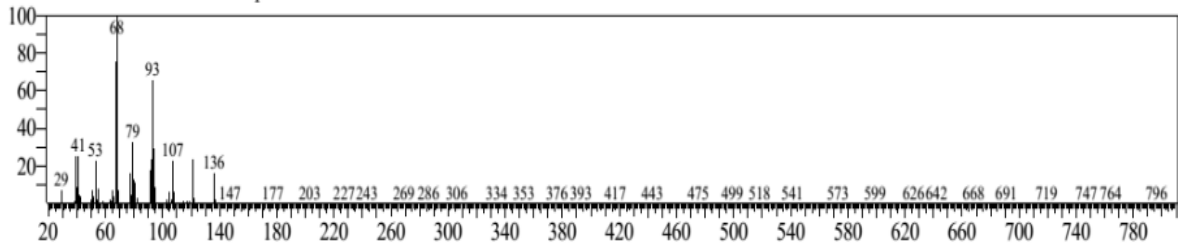
Gambar 1. Kromatogram MAKJN

<< Target >>

Line#:5 R.Time:7.100(Scan#:1421) MassPeaks:458

RawMode:Averaged 7.095-7.105(1420-1422) BasePeak:68.10(1705005)

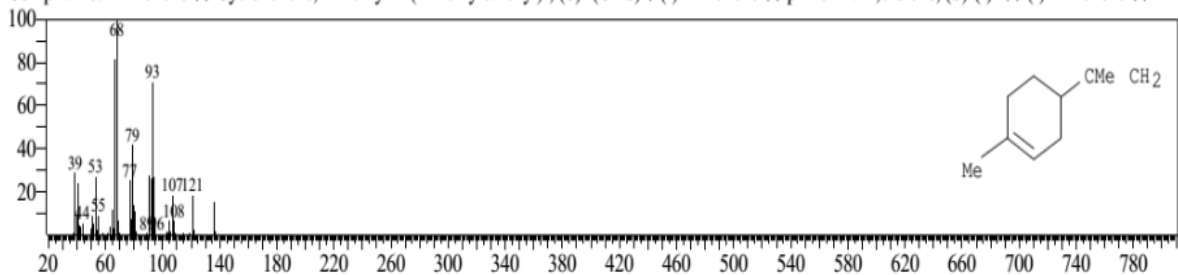
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:26325 Library:WILEY7.LIB

SI:95 Formula:C10 H16 CAS:5989-54-8 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:l-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)- (CAS) \$ (-)-Limonene \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (S)-(-)- \$\$ (-)-Limonene \$\$ Lin



Gambar 2. Spektrum Massa Senyawa Limonen

Hasil yang terdapat pada gambar 1, terlihat bahwa senyawa yang paling banyak terkandung pada minyak atsiri jeruk nipis adalah l-Limonene.

Uji Aktivitas Antibakteri Mouthwash MAKJN

Uji aktivitas antibakteri mouthwash MAKJN terlihat dengan adanya zona bening di sekitaran *paper disc* Hasil uji

aktivitas antibakteri *Mouthwash* MAKJN terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Antibakteri *Mouthwash* MAKJN

| Kelompok | Rerata Zona Hambat±SD (mm) | Respon Hambatan |
|-------------|----------------------------|-----------------|
| Kontrol (+) | 6,85±0,77 ^b | Sedang |
| Kontrol (-) | 0,00±0,00 ^a | Lemah |
| F1 | 3,65±0,48 ^{a,c} | Lemah |
| F2 | 3,97±0,77 ^a | Lemah |
| F3 | 5,82±0,77 | Sedang |

p-value dianalisis dengan post hoc test (ANOVA) menggunakan LSD :

| Sampel | Konsentrasi (ppm) | Rerata Absorbansi | % Inhibisi | IC ₅₀ | Kategori |
|-----------|-------------------|-------------------|------------|------------------|-------------|
| Vitamin C | 1 | 0,469 | 23,366 | 4,219 | Sangat Kuat |
| | 2 | 0,418 | 31,699 | | |
| | 3 | 0,363 | 40,686 | | |
| | 4 | 0,318 | 48,039 | | |
| | 5 | 0,268 | 56,209 | | |
| MAKJN | 60 | 0,342 | 44,118 | 80,060 | Kuat |
| | 80 | 0,301 | 50,817 | | |
| | 100 | 0,273 | 55,392 | | |
| | 120 | 0,244 | 60,131 | | |
| | 140 | 0,218 | 64,379 | | |

Pembahasan

Skrining Fitokimia MAKJN

Hasil skrining fitokimia sampel MAKJN pada Tabel 2 menunjukkan adanya kandungan flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Keberadaan flavonoid pada MAKJN ditandai dengan adanya perubahan warna setelah bereaksi dengan H₂SO₄ menjadi warna merah bata atau kecoklatan akibat terbentuknya sistem konjugasi pada gugus khalkon (Pravita & Dhurhania, 2023).

Metabolit sekunder alkaloid menghasilkan endapan putih dengan adanya penambahan reagen Mayer. Adanya endapan ini dikarenakan akibat pergantian ligan, dimana atom nitrogen yang terdapat pada struktur alkaloid menggantikan ion

^aData berbeda signifikan terhadap F3, nilai p<0,05,

^bData tidak berbeda signifikan terhadap F3, nilai p>0,05,

^cData tidak berbeda signifikan dengan F2, nilai p>0,05

Uji Aktivitas Antioksidan MAKJN

Uji aktivitas antioksidan menggunakan uji DPPH, dengan kontrol positif menggunakan vitamin C. Hasil uji aktivitas antioksidan terdapat pada tabel 4.

Tabel 4. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan MAKJN

iodo dan terbentuk ikatan kovalen yang terikat dengan ion logam. Begitupula dengan hasil positif pada saponin yang ditandai dengan adanya busa yang stabil selama kurang dari 10 cm dengan ketinggian busa 1-10 cm, karena sifat saponin yang mudah larut dalam air dan menghasilkan busa yang stabil pada saat dikocok (Bawekes et al., 2023).

Sampel MKJN mengandung senyawa terpenoid, karena terdapat kandungan minyak atsiri. Minyak atsiri tergolong dalam kelompok terpenoid. Pada uji terpenoid, sampel diberi pereaksi etanol 70%, asam sulfat pekat, dan asam asetat anhidrat, sehingga terbentuk perubahan warna dari kuning menjadi merah kecoklatan. Hal ini disebabkan ketika bereaksi dengan asam sulfat pekat,

kemudian molekul asam asetat anhidrat dan dietil eter akan bereaksi dengan senyawa terpenoid yang terdapat pada sampel (Muaja et al., 2017).

Metabolit sekunder tanin tidak terdeteksi pada sampel MAKJN di penelitian ini. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bawekes et al (2023), sampel dinyatakan positif tanin jika adanya perubahan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman setelah ditambahkan FeCl_3 , karena terjadi pembentukan kompleks dengan ion Fe^{3+} .

Analisis Komponen MAKJN dengan GC-MS

Data kromatogram GC-MS pada Gambar 1 menunjukkan adanya senyawa limonene pada puncak/peak Nomor 5, yang dominan dengan persentase luas area 44,61% dalam waktu retensi 7,102 menit. Adapun perbandingan data target dari spektrum massa limonene pada Gambar 2 menunjukkan kemungkinan senyawa yang mendekati kemiripan sebesar 95% sesuai dengan library data WILEY7.LIB. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ulandari et al (2022), bahwa senyawa yang dominan pada minyak atsiri adalah limonene dengan persentase 36,32%.

Aktivitas Antibakteri Mouthwash MAKJN

Uji aktivitas antibakteri *mouthwash* MAKJN dilakukan pada 3 formula dengan replikasi 3 kali menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Metode difusi cakram dipilih karena mudah dilakukan dan tidak memerlukan peralatan khusus (Goetie et al., 2022). Adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram yang menandakan adanya efek penghambatan pada bakteri (Katrin et al., 2015).

Hasil pengukuran bakteri yang terdapat pada Tabel 3, menggambarkan bahwa semakin bertambahnya konsentrasi minyak atsiri semakin besar daya hambatnya, dikarenakan adanya

peningkatan aktivitas bakteriostatik kandungan metabolit sekunder yang semakin banyak, sehingga senyawa metabolit sekunder dalam sediaan *mouthwash* akan berdifusi masuk ke dalam sel bakteri. Formula 3 memiliki nilai zona hambat yang berbeda signifikan dengan formula yang lain dikarenakan nilai $p < 0,05$.

Aktivitas antibakteri pada MAKJN, dikarenakan adanya metabolit sekunder golongan terpenoid yaitu limonene yang terdapat pada minyak atsiri kulit jeruk nipis. Mekanisme kerja limonene sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak dinding sel bakteri, mengubah permeabilitas membrane, mengganggu sintesis protein bakteri, serta menghambat kerja enzim (Pradita & Wahyuni, 2023).

Alkaloid yang teridentifikasi secara kualitatif pada minyak atsiri kulit jeruk nipis, memiliki mekanisme kerja yaitu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dinding sel bakteri menjadi ruak dan terjadilah kematian sel bakteri (Indriani et al., 2025). Senyawa flavonoid dapat menembus peptidoglikan sel bakteri yang menyebabkan lapisan sel tidak dapat terbentuk secara utuh, dan juga flavonoid dapat menyebabkan membrane sel bakteri mengalami kerusakan yang terjadi karena adanya senyawa kompleks antara flavonoid dan protein ekstraseluler (Sari & Asri, 2022).

Uji Antioksidan MAKJN

Metode uji antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH karena merupakan metode yang sensitif, dimana radikal dapat langsung direaksikan dengan antioksidan (Aryanti et al., 2021). Alasan lainnya yaitu metode DPPH hanya membutuhkan sedikit sampel dalam pengujian, sederhana, mudah, dan cepat (Hartanto, 2018). Hasil IC_{50} MAKJN menunjukkan bahwa minyak ini memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 80,060 ppm. Penelitian lain yang telah dilakukan oleh Murdiana et al

(2023), bahwa nilai IC_{50} minyak atsiri kulit jeruk nipis yaitu 12,38 ppm, yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada minyak atsiri kulit jeruk nipis sangat kuat. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh variasi kadar senyawa bioaktif seperti flavonoid dan limonen, serta faktor lingkungan, cara dan kondisi pengujian yang digunakan (Rizqullah et al., 2023). Mekanisme kerja limonen dan flavonoid sebagai antioksidan adalah gugus OH yang terdapat pada struktur cincin aromatik, elektron tak berpasangan yang mengelilingi cincin dalam senyawa ini dapat menghilangkan radikal bebas (Sitio et al., 2024).

SIMPULAN

Formula *mouthwash* MAKJN memiliki potensi sebagai antibakteri dan MAKJN antioksidan. Formula *mouthwash* konsentrasi 3% (F3) memiliki kemampuan menghambat *Streptococcus mutan* dengan potensi sedang, dengan hasil uji LSD $p < 0,05$ yang berbeda signifikan terhadap F1 dan F2. Aktivitas antioksidan MAKJN menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 80,060 ppm yang memiliki potensi kuat

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyasa, M. R., & Meiyanti, M. (2021). Pemanfaatan obat tradisional di Indonesia: distribusi dan faktor demografis yang berpengaruh. *Jurnal Biomedika Dan Kesehatan*, 4(3), 130–138. <https://doi.org/10.18051/jbiomedke.s.2021.v4.130-138>
- Amara, R., Sari, W., & Saputri, R. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96 % Daun Tigaron (*Crateva religiosa* G. Forst.) Asal Kalimantan Selatan Menggunakan Metode. 08(02), 186–193.
- Ansyar, D. I. (2022). Tanaman Obat Keluarga (TOGA) Percontohan sebagai Edukasi Pemanfaatan Pada Masyarakat Dusun Jambua. *Journal*

of Public Health Service, 1(1), 80–84.

- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. (2021). Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 15–24. <https://doi.org/10.33084/jsm.v7i1.2024>
- BAWEKES, S. M., Yudistira, A., & Rumondor, E. M. (2023). Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Kimia Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Pharmakon*, 12(3), 373–377. <https://doi.org/10.35799/pha.12.2023.49269>
- Damanik, D. H., Kep, S., & Kes, M. (2021). Dengan Status Kesehatan Gigi Pada Pasien Di Poli Gigi RSUD Kota Tanjungbalai Tahun 2021. 19–26.
- Goetie, I. H., Sundu, R., & Supriningrum, R. (2022). Antibacterial Activity of The Extract of The Bark Extract The Sekilang (*Embelia Borneensis* Scheff) Against *Escherichia Coli* And *Staphylococcus Aureus* Using Disc Diffusion Method. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 144–155.
- 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), 422–433. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i8.62>
- Hartanto, H. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Dpph Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* (L.) Merr) Serta Uji Stabilitas Pengaruh Konsentrasi Emulgator Asam Stearat Dan

- Trietanolamin Terhadap Formulasi Krim Antioxidant Activities Test With Dpph Method Katuk L. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), 2502–8421.
- Hasiru, F., Engkeng, S., & Asrifuddin, A. (2019). Hubungan Perilaku Kesehatan Menggosok Gigi Dengan Karies Gigi Pada Anak Di SD Inpres Winangun Kota Manado. *Jurnal KESMAS*, 8(6), 255–262.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 77.
- Ilmiah, J., Farmasi, B., Indriani, S., Susanty, D., Nurhayati, L., Kimia, P. S., Nusa, U., Telang, B., & Kumur, O. (2025). *Formula Dan Aktivitas Antibakteri Sediaan Obat Kumur Ekstrak Bunga Telang (Clitoria Ternatea L.) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans. I*, 7–17.
- Katrin, D., Idiawati, N., Sitorus, B., & Hadari Nawawi, J. H. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea graciae* Vidal) Terhadap Bakteri *Stapylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1), 7–12.
- Keperawatan, J. (2025). *Jurnal Keperawatan dan Kebidanan, Volume 17 Nomor 1 Januari 2025 Halaman | 74*. 17(15 mm), 74–87.
- Lestari, D., Melania, I. N., Eliyana, Y., Savitri, E. D., Insani, L. I. N., Subekti, M. S. F., Sya'baniyah, N. H., Fadhilah, N., Nursyabania, L., Balbeid, S. U., & Sukorini, A. I. (2022). Identifikasi Pengetahuan dan Penggunaan Mouthwash Antiseptik Herbal pada Remaja Usia 15-24 Tahun di Pulau Jawa-Madura. *Jurnal Farmasi Komunitas*, 9(1), 87–93. <https://doi.org/10.20473/jfk.v9i1.24164>
- Muaja, M. G. D., Runtuwene, M. R. J., & Kamu, V. S. (2017). Dari Daun Soyogik (*Saurauia Bracteosa* Dc.) Antioxidant Activity Of Methanol Extract From Soyogik (*Saurauia Bracteosa* Dc.). *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 68–72.
- Munadi, R., & Arifin, L. (2022). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jahe Putih (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) How to Cite. *Spin*, 4(2), 163–174. <https://doi.org/10.20414/spin.v4i2.5420>
- Murdiana, H. E., Rahmavika, T., & Rawar, E. A. (2023). Formulasi Dan Uji Antioksidan Serum Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Variasi Vitamin E Metode Dpph. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 8(2), 209–219. <https://doi.org/10.47219/ath.v8i2.294>
- Pradita, E. Y., & Wahyuni, S. (2023). Synthesis Of Chitosan-Alginate-Siam Orange (*Citrus nobilis* Lour) Extract and Its Antibacterial Activity. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 12(1), 58–69.
- Pravita, C. S., & Dhurhanian, C. E. (2023). Penetapan kadar flavonoid total perasan lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) secara spektrofotometri UV-Vis. *Health Sciences and Pharmacy Journal*, 7(1), 175–183. <https://doi.org/10.32504/hspj.v7i1.653>
- Putri, A. P., & Nasution, M. P. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus Roseus* L.) Dengan Metode Brine Shrimp

- Lethality Test (BSLT). *Journal of Health and Medical Science*, 1(2), 203–219. <https://pusdikra-publishing.com/index.php/jkes/home>
- Putri, A. S. S., AS, N., & Novita, K. D. (2021). Uji In Vitro Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus agalactiae*. *Majalah Kesehatan*, 8(4), 199–205. <https://doi.org/10.21776/ub.majalah.kesehatan.2021.008.04.3>
- Rachfa, M. A. F., Tri Putri, D. K., & Dewi, R. K. (2021). Uji Kitosan Sisik Ikan Haruan (*Channa Striata*) Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. *Dentin*, 5(2), 87–91. <https://doi.org/10.20527/dentin.v5i2.3794>
- Rahadyana, R. Z., Artini, K. S., & Wardani, T. S. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Bunga Matahari (*Helianthus Annuus L*) Dengan Menggunakan Metode. 5(September), 8049–8056.
- Rizqullah, M. A., Purba, F. F., Kusuma, I. W., & Kuspradini, H. (2023). Karakteristik dan Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri Daun *Actinodaphne borneensis* Terhadap Mikroorganise Penyebab Karies Gigi. *Teknotan*, 17(2), 123. <https://doi.org/10.24198/jtvoll7n2.6>
- Sari, A. N., & Asri, M. T. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. *LenteraBio*, 11(3), 441–448.
- Sitio, R., Akmal, M., Marlina, & Gholib. (2024). Phytochemical screening of ethanolic extract of local Aceh lime (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) peels. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1356(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1356/1/012080>
- Ulandari, A. S., Ningrum, D. M., & Permana, D. A. S. (2022). Identifikasi Kandungan Senyawa Minyak Jeruk Nipus (*Citrus aurantifolia*) Dan Minyak Nilam (*Pogostemon cablin B.*) Sebagai Anti Repellent Dengan Metode GC-MS. *Jurnal Etnofarmasi*, 1(1), 1–9.
- Veiko, A. G., Olchowik-grabarek, E., Sekowski, S., Roszkowska, A., Lapshina, E. A., Dobrzynska, I., Zamaraeva, M., & Zavodnik, I. B. (2023). and Modify Membranes of Bacteria and Erythrocytes. *Molecules*, 28, 1252–1271. <https://www.mdpi.com/journal/molecules%0A>
- Wahyuni, I. S. (2017). Radikal Bebas dan Lesi Mukosa Mulut: Tinjauan Pustaka. *Introduction: The Oral Cavity Is Always Exposed to Foods, or Other Substances Such as Alcohol, Tobacco, Nicotine, Dental Materials, and Various Microorganisms. Oral Mucosal Tissue Is Very Susceptible to Damage Caused by a Free Radical That Can Be Found In, 2013(November 2020)*. <https://www.researchgate.net/publication/346306083>
- Wibaldus, Jayuska, A., & Ardiningsih, P. (2016). Bioaktivitas Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Rayap Tanah (*Coptotermes sp.*). *Jkk*, 5(1), 44–51.