

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit Limau Kuit (*Citrus Sp.*)

2.1.1 Definisi

Limau kuit merupakan salah satu anggota suku jeruk jerukan, *Rutacea*, dari jenis *Citrus*. Nama latinnya adalah *Citrus Sp.*, buah tersebut mempunyai tinggi pohon antara 2-12 meter. Buahnya kecil mempunyai bentuk seperti buah pir, memiliki banyak tonjolan dan berbintil. Rasa buah sangat asam dan agak pahit. Kulit buah berwarna hijau tebal, mempunyai batang yang kecil, bengkok dan mempunyai cabang yang rendah. Batangnya ketika sudah tua berbentuk bulat, berwarna hijau tua polos atau berbintik-bintik. Daunnya berwarna hijau kekuningan mempunyai bau yang sedap, bentuknya bulat dengan ujung tumpul dan bertangkai. Tangkai daun bersayap lebar, hampir menyerupai daun (Wangsa dan Nuryati, 2009).



Gambar 2.1 Tanaman Limau kuit

Sumber: tanobat.com

2.1.2 Klasifikasi dan deskripsi

Klasifikasi *Citrus Sp.* menurut USDA (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi	: Spermatophyta (Menghasil biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan Berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Rosidae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Rutaceae (suku jeruk-jerukan)
Marga	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus Sp.</i>

Limau kuit memiliki daun majemuk menyirip beranak daun satu dan tangkai daun sebagian melebar menyerupai anak daun. Helaian anak daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal membundar atau tumpul, ujung tumpul sampai meruncing, tepi beringgit, panjang 8 – 15 cm, lebar 2 – 6 cm, kedua permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih, permukaan atas warnanya hijau tua agak mengkilap, permukaan bawah hijau muda atau hijau kekuningan, buram, dan jika diremas baunya harum. Bunganya berbentuk bintang dan berwarna putih kemerah-merahan atau putih kekuning-kuningan. Bentuk buahnya bulat telur, kulitnya hijau berkerut, berbenjol-benjol, dan rasanya asam agak pahit (Soepomo, 2012).

2.1.3 Morfologi Limau kuit (*Citrus sp.*)

Limau kuit merupakan tanaman perdu. Tinggi tanaman ini berkisar antara 3-5 m, tetapi jika dibiarkan tumbuh liar bisa mencapai tinggi hingga 12 m dengan tajuk yang tidak beraturan. Tanaman ini memiliki nama ilmiah *Citrus Sp.*, yang berarti “jeruk landak”. Pemberian nama ini mengacu pada duri-duri yang banyak terdapat pada batang tanaman

ini. Di setiap ketiak daun pada tanaman ini memang selalu terdapat duri sepanjang 0,5-1 cm (Hardiman, 2014).

Dilihat dari bentuk daun dan buahnya, tanaman limau kuit sangat mudah dibedakan dari jenis jeruk lainnya. Bentuk daunnya sangat khas, yaitu seperti terbagi menjadi dua bagian dan berbentuk seperti angka 8. Dua bagian daun itu sama-sama berbentuk bulat telur, tetapi bagian yang di ujung berukuran lebih besar. Permukaan daun limau kuit licin dan mengkilap. Daun muda berwarna ungu dan berangsur menjadi hijau setelah tua. Daun tumbuh berhadap-hadapan di 10 sepanjang ranting tanaman, tetapi posisinya tidak sejajar. Daun limau kuit memiliki aroma yang khas dan tajam (Haryadi, 2013).

Tanaman limau kuit dapat berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Bunga pada limau kuit tumbuh di ujung ranting membentuk malai. Bunga berbentuk bintang dengan mahkota berwarna putih. Dalam satu malai, umur bunga tidak seragam – makin ke ujung makin muda, sehingga mekarnya tidak bersamaan. Hal ini berdampak pada tingkat kematangan buah dalam satu malai yang juga tidak bersamaan (Haryadi, 2013).

Buah limau kuit juga mudah dibedakan dari jeruk lainnya. Permukaan kulit limau kuit ini sangat kasar karena terdapat banyak tonjolan. Ini jauh berbeda dengan jenis jeruk lainnya, yang umumnya memiliki permukaan kulit buah yang halus. Buah jeruk ini berbentuk membulat dan berukuran kecil, umumnya berdiameter antara 4-5 cm. Bila dibelah, terlihat kulit buah jeruk purut cukup tebal. Buah limau kuit berwarna hijau tua dan menjadi kuning setelah masak (Nur, 2013).

Daging buah limau kuit berwarna hijau keputihan dengan kandungan air berwarna bening. Terdapat cukup banyak biji di dalam daging buah

itu. Biji ini bisa tumbuh ketika disemai, tetapi pertumbuhannya lambat dan kadang malah mati. Oleh karenanya, perbanyak tanaman ini banyak dilakukan dengan teknik okulasi atau sambung pucuk dengan batang bawah dari varietas jeruk lain (Kholis, 2013).

Limau kuit termasuk tanaman yang lambat pertumbuhannya terutama pada masa awal penanaman. Namun, tanaman ini tidak banyak membutuhkan perawatan. Setelah tanaman berumur lebih dari lima tahun, petani tinggal menikmati hasil tanpa harus mengeluarkan banyak uang untuk biaya perawatan (Haryadi, 2013).

Sitrus atau yang dikenal dengan jeruk adalah salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomi tinggi karena mengandung vitamin C dan digunakan sebagai penyedap masakan. Terdapat senyawa bioaktif seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan steroid dalam daun jeruk (Hebert dkk, 2014). Bahan aktif yang penting bagi kesehatan yang terdapat dalam daun jeruk adalah vitamin C, flavonoid, karotenoid, limonoid, dan mineral. Flavonoid merupakan bahan antioksidan yang mampu menetralkan oksigen reaktif dan berkontribusi terhadap pencegahan penyakit kronis seperti kanker (Devy, 2010).

Daun limau kuit merupakan daun mejemuk yang menyirip beranak daun satu. Tangkai daun sebagian melebar menyerupai daun sebagian melebar menyerupai anak daun. Helaian anak daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal membundar atau tumpul, ujung tumpul sampai runcing, permukaan kecil dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih, permukaan atas warnanya hijau muda atau hijau kekuningan, buram, jika diremas baunya harum. Ciri khas daun kulit limau kuit adalah terdiri dari dua bagian, dengan lekukan ditengahnya, hingga sebatas daun limau kuit tampak seperti dari dua daun. Di atas daun pertama tumbuh daun kedua yang berada dibagian atasnya. Warna daun

limau kuit hijau tua, dengan aroma harum dan tajam (Suryaningrum, 2009).

Daun limau kuit memiliki beberapa komponen kimia yaitu sitronellal, sitronelol, linalol, geraniol dan komponen lain. Berikut komponen minyak daun limau kuit.

Tabel 2.1 Komponen Minyak daun limau kuit

Komponen	Persentase
Sitronellal	81,49 %
Sitronelol	4,22 %
Linalol	3,69 %
Geraniol	0,31 %
Komponen lain	6,29%

Sumber: (Koswara, 2009).

Penelitian yang dilakukan Warsito (2017) menyatakan bahwa minyak atsiri kulit buah limau kuit mengandung komponen utama β -pinen (21,44%), sitronelal (20,91%), limonen (12,59%) dan terpinen-4-ol (11,93%), sedangkan pada minyak atsiri ranting limau kuit komponen utamanya tersusun atas sitronelal (81,52%), linalol (6,10%), dan sitronelil asetat (3,62%). Pada minyak atsiri daun limau kuit memiliki komponen utama sitronelal (85,07%), linalol (3,46%) dan sabinen (2,79%). Senyawa sitronelal merupakan senyawa aldehid yang memiliki potensi anti bakteri kuat persen minyak atsiri kulit limau kuit. Kandungan minyak atsiri daun limau kuit sebesar 2-2,5% (Salman dkk, 2015).

2.1.4 Kandungan Kimia limau kuit

Di dunia ini banyak sekali tanaman yang sangat berguna sebagai obat-obatan dan lama digunakan secara turun-temurun berdasarkan pengalaman, salah satu tanaman yang mudah ditemukan yaitu limau kuit (*Citrus Sp.*). Kandungan senyawa kimia pada limau kuit diantaranya flavonoid, tannin, minyak atsiri, alkaloid quonolona yang berpotensi berkhasiat antioksidan, antivirus HIV, antibakteri, steroid triterpenoid dan sitrat (Hardiman, 2014).

2.1.4.1 Alkaloid

Limau kuit memiliki kandungan alkaloid yang berpotensi sebagai antioksidan. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Febriana, 2015).

Alkaloid mempunyai efek farmakologis tertentu untuk kesehatan. Umumnya senyawa alkaloid ini terdapat pada semua bagian tumbuhan. Senyawa alkaloid pada tumbuhan, mulai akar, kulit kayu, daun, biji hingga bunga. Senyawa alkaloid pada dasarnya beracun bagi makhluk hidup. Contoh senyawa alkaloid, antara lain nikotin pada daun tembakau. Nikotin bertindak sebagai stimulan pada saraf autonom sehingga akan menyebabkan kecanduan. Senyawa lain pada alkaloid yaitu morfin yang bekerja langsung pada susunan saraf pusat (Handoyo, 2014).

2.1.4.2 Flavonoid

Flavonoid memiliki efek farmakologis untuk tubuh manusia, diantaranya berfungsi anti-oksidan, antiinflamasi, dan antibakteri. Oleh karena manfaatnya, tumbuhan yaang

mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional (Febriani, 2015). Senyawa flavonoid pada parasit berperan dalam menghambat proses pernafasan sehingga berakibat pada kematian parasit. Menurut (Handoyo, 2014) efek farmakologis dari senyawa flavonoid antara lain sebagai inhibitor pernafasan, sebagai anti oksidan, mengurangi pembekuan darah dan dapat digunakan untuk memperbaiki fungsi organ hati.

2.1.4.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa fenol bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat. Kerusakan dan peningkatan permeabilitas sel bakteri menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (Mifta, 2014). Iritasi akibat gigitan *Pediculus humanus capitis* akan menimbulkan rasa gatal pada kulit kepala. Garukan akibat rasa gatal akan mempermudah terjadinya infeksi sehingga jamur dan bakteri berkembangbiak di kulit kepala. Khasiat senyawa tannin mampu mencegah perkembangbiakan jamur dan bakteri di kulit kepala (Febriani, 2015).

2.1.4.4 Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah istilah yang digunakan untuk minyak yang bersifat mudah menguap, yang terdiri dari campuran zat yang mudah menguap, dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda. Minyak atsiri yang mudah menguap terdapat di dalam kelenjar minyak yang harus dibebaskan sebelum disuling yaitu dengan merajang atau memotong jaringan tanaman sehingga minyaknya dapat dengan mudah diuapkan. Minyak atsiri banyak digunakan dalam industri sebagai pemberi aroma dan rasa. Nilai jual dari minyak atsiri sangat ditentukan oleh

kualitas minyak dan kadar komponen utamanya (Munawaroh, 2010). Nilai bobot jenis minyak atsiri berkisar antara 0,696-1,188 pada suhu 15°C dan pada umumnya nilai tersebut lebih kecil dari 1.000 (Guenther,2006).

Minyak atsiri ini dapat bersumber dari bagian daun, bunga, buah, biji, batang, kulit, dan akar. Berbagai macam tumbuhan di berbagai daerah memiliki aktivitas yang besar untuk diolah menjadi minyak atsiri, diantaranya adalah dapat memberikan beberapa aktivitas seperti anti kanker, anti virus, antiphloistik, *penetration enhancement activities*, dan antioksidan (Baser, 2010).

2.1.5 Senyawa Aktif

Tanaman limau kuit memiliki metabolit sekunder yang berupa senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif dapat diartikan sebagai metabolit sekunder yang memiliki efek farmakologis dan/atau toksikologis pada manusia dan hewan, tidak termasuk nutrien yang berada pada tumbuhan (seperti vitamin dan mineral). Metabolit sekunder tidak digunakan tumbuhan sebagai bahan utama dalam proses pertumbuhan dan perkembangan, akan tetapi sebagai senyawa yang sifatnya melindungi tanaman. Oleh karena itu, produk metabolit sekunder memiliki kuantitas yang lebih sedikit dibandingkan dengan produk metabolit primer dan merupakan hasil sampingan dari biosintesis primer (Bernhoft, 2010).

Limau kuit mengandung zat seperti naringenin dan hesperidin yang digolongkan sebagai flavonoid (Han dkk, 2012). Penelitian telah menunjukkan bahwa hasil ekstraksi senyawa aktif tertinggi terdapat pada kulit buah (Ampasavate dkk, 2010). Sifat antioksidan dan antiradikal bebas pada naringenin dan hesperidin telah diteliti dengan menggunakan hewan uji (Jayraman dkk, 2011). Minyak atsiri limau

kuit hasil destilasi kulit limau kuit memiliki bobot jenis 0,8766 g/cm³, indeks bias 1,4730, angka asam 0,8275, dan kadar minyak 2,13% (Mardyati dan Siti Yayak , 2010).

2.1.6 Khasiat limau kuit

Secara tradisional, jeruk digunakan untuk mengobati pilek dan asma, rileksasi otot yang tegang karena kelelahan atau mengurangi pembekakan otot dan sendi, mewangikan rambut kepala (Hardiman, 2014). Menurut Sicilia (2015) buah limau kuit digunakan untuk perawatan gigi dan gusi, perawatan tubuh, dan perawatan wajah. Buah limau kuit juga biasa digunakan untuk penghilang amis pada ikan. Rasanya yang masam membuat buah limau kuit tidak biasa dikonsumsi sebagai jeruk buah. Dengan aroma dan rasanya yang kuat, air perasan buah jeruk ini biasa digunakan untuk menetralkan bau amis pada daging dan ikan (Haryadi, 2013).

Di Thailand, daun dan buah limau kuit yang berukuran kecil dan berpenampilan kurang menarik tidak dipasarkan dalam bentuk segar, tetapi disuling untuk diambil minyaknya. Destilasi daun dan kulit buah limau kuit harus dipisahkan karena kualitas dan harga minyaknya berbeda. Buah didestilasi kulitnya, jadi daging buahnya dibuang. Daging buah itu bisa diambil airnya untuk bumbu masakan (Nur Kholis, 2013).

2.1.7 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang digunakan untuk membasmi bakteri khususnya yang merugikan manusia. Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia harus memiliki sifat toksisitas selektif. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya dikenal sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM). Antibakteri tertentu aktivitasnya

dapat meningkat dari bakteristatik menjadi bakteriosid bila kadar antibakterinya ditingkatkan. Mekanisme senyawa antibakteri diantaranya adalah mencegah sintesis dinding sel, mempengaruhi fungsi membran, mempengaruhi sintesis protein, dan mengganggu metabolisme asam nukleat. Senyawa antibakteri merusak dinding sel akan menyebabkan terjadinya tekanan osmotik yang lebih tinggi didalam sel daripada lingkungan luar sel sehingga sel akan mengalami lisis. Melemahnya fungsi membran sel akan menyebabkan komponen penting dari dalam sel bakteri akan keluar seperti protein, asam nukleat dan nukleotida (Zain, 2012).

2.2 Rongga Mulut

Rongga mulut merupakan tempat yang paling kompleks dan yang mudah untuk mikroba dapat berkolonisasi pada tubuh manusia. Gigi, gingiva, lidah dan mukosa bukal mempunyai permukaan yang berbeda untuk kolonisasi mikroba. Produksi saliva yang konstan dan tersedianya gula dan asam amino dari makanan yang dimakan menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan mikroba. Bakteri merupakan mikroba yang paling banyak ditemukan pada rongga mulut manusia. Rongga mulut manusia merupakan tempat bagi sekitar 700 spesies bakteri yang teridentifikasi salah satunya streptokokus (Yanti dan lilianti, 2016).

Rongga mulut mempunyai berbagai fungsi, yaitu sebagai mastikasi, fonetik, dan juga estetik. Hal tersebut mengakibatkan rongga mulut merupakan tempat paling rawan dari tubuh karena merupakan pintu masuk berbagai agen berbahaya, seperti produk mikroorganisme, agen karsinogen, selain rentan terhadap trauma fisik, kimiawi, dan mekanis. Makanan dan minuman akan diproses di dalam mulut dengan bantuan gigi- geligi, lidah, saliva, dan otot. Pemeliharaan kebersihan gigi dan mulut merupakan salah satu upaya meningkatkan kesehatan. Mulut bukan sekedar pintu masuk makanan dan

minuman, tetapi fungsi mulut lebih dari itu dan tidak banyak orang menyadari besarnya peranan mulut bagi kesehatan dan kesejahteraan seseorang. Masyarakat akan sadar pentingnya kesehatan gigi dan mulut ketika terjadi masalah atau ketika terkena penyakit. Oleh karena itu kesehatan gigi dan mulut sangat berperan dalam menunjang kesehatan seseorang (Zarco dkk, 2011; Afrina, 2007).

Kesehatan rongga mulut merupakan bagian integral dari kesehatan tubuh dan tidak dapat dipisahkan dengan kesehatan tubuh secara umum karena saling terkait antara satu sama lain. Menurut WHO kesehatan rongga mulut adalah keadaan bebas dari nyeri wajah dan mulut, kanker oral dan tenggorokan, infeksi dan luka oral, penyakit periodontal, karies gigi, kehilangan gigi dan penyakit-penyakit serta gangguan oral lain yang membatasi kapasitas individu untuk menggigit, mengunyah, tersenyum, berbicara dan kesejahteraan psikososial. Rongga mulut merupakan pintu gerbang pertama di dalam sistem pencernaan sebagai jalan masuknya berbagai macam mikroorganisme ke dalam tubuh, mikroorganisme tersebut masuk bersama makanan atau minuman, namun tidak semua mikroorganisme tersebut bersifat patogen, di dalam rongga mulut mikroorganisme yang masuk akan dinetralisir oleh zat anti mikroba yang dihasilkan oleh kelenjar ludah dan mikroflora normal (Gade, 2012; Chetan dkk, 2011).

2.2.1 Mikroflora Normal Rongga Mulut

Dalam rongga mulut manusia terdapat banyak mikroflora normal. Mikroflora normal adalah sekumpulan mikroorganisme yang hidup pada kulit dan selaput lendir/mukosa manusia yang sehat maupun sakit. Mikroflora normal tersebut dalam keadaan normal tidak menimbulkan penyakit, namun bila terjadi gangguan sistem imun maupun perubahan keseimbangan mikroflora normal rongga mulut, maka mikroflora normal tersebut dapat menjadi patogen karena adanya faktor predisposisi yaitu kebersihan rongga mulut. Pertumbuhan mikroflora normal pada bagian tubuh tertentu dipengaruhi oleh suhu, kelembaban,

nutrisi dan adanya zat penghambat. Keberadaan mikroflora normal pada bagian tubuh tertentu mempunyai peranan penting dalam pertahanan tubuh karena menghasilkan suatu zat yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Adanya mikroflora normal pada bagian tubuh tidak selalu menguntungkan, dalam kondisi tertentu mikroflora normal dapat menimbulkan penyakit, misalnya bila terjadi perubahan substrat atau berpindah dari habitat yang semestinya (Afrina dkk, 2011; Bhat dkk, 2013).

Menurut Afrina (2007) Mikroflora normal di rongga mulut terdiri dari: Gram positif yaitu (*Streptococci*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Rothia*, *Bifidobacterium*). Gram negatif yaitu (*Neisseria*, *Veillonella*, *Actinobacillus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacteria*, *Haemophilus*, *Treponema*, *Eikenella*). Dari Yeast yaitu (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida guilliermonax*, *Candida parapsilosis*).

Kunci kesehatan rongga mulut adalah keseimbangan ekologi dan keanekaragaman mikroflora komensal dan interaksinya terhadap sel inang. Rongga mulut secara terus menerus akan dibasahi oleh saliva, dan hal tersebut memberikan pengaruh yang signifikan pada ekologi di rongga mulut. pH normal saliva antara 6.75–7.25, yang mendukung pertumbuhan mikroflora dan komposisi ion saliva yang menetralkan pH saliva dan kemampuan untuk melakukan remineralisasi enamel. Unsur organik saliva adalah protein dan glikoprotein seperti amilase, musin, imunoglobulin, lisosim, laktoferin dan sialoperoksidase. Unsur organik tersebut dapat mempengaruhi mikroflora normal rongga mulut dengan cara (Zarco dkk, 2011; Maller dkk, 2010):

- a. Menyerap ke permukaan jaringan di rongga mulut, terutama pada gigi, untuk membentuk sebuah lapisan (yang diperoleh dari pelikel) yang dapat menjadi tempat melekatnya mikroorganisme. Perlekatan tersebut melibatkan interaksi antarmolekul antara adhesi

mikroorganisme dan reseptor pada pelikel. Mikroorganisme di rongga mulut tidak terdistribusi secara acak tetapi biasanya berdasarkan tropisme jaringan, yaitu mikroorganisme tersebut selektif melekat dan hidup pada permukaan tertentu.

- b. Berperan sebagai sumber utama nutrisi (karbohidrat dan protein) yang mendorong pertumbuhan mikroflora tanpa menginduksi pH.
- c. Melekat ke permukaan mikroorganisme untuk menutupi antigen mikroorganisme, sehingga membuat mikroorganisme terlihat seperti sel inang.
- d. Menggabungkan seluruh mikroorganisme, kemudian memfasilitasi desinfeksi mikroorganisme tersebut dari rongga mulut dengan cara penelanan, aliran saliva juga akan membersihkan sel-sel lemah yang melekat.
- e. Menghambat perlekatan dan pertumbuhan beberapa mikroorganisme eksogen, dengan peranan sebagai komponen pertahanan sel inang. Seiring dengan waktu, aktivitas metabolisme mikroorganisme komensal dapat dimodifikasi oleh perubahan lingkungan sehingga memberikan kondisi, hal tersebut dapat dikarenakan (Zarco dkk, 2011; Maller dkk, 2010):
 - 1) Perubahan pH normal saliva.
 - 2) Modifikasi atau paparan reseptor baru pada permukaan perlekatan.
 - 3) Menghasilkan nutrisi baru, misalnya, sebagai produk akhir metabolisme (laktat, suksinat) atau sebagai produk pemecah (peptida, hemin) yang dapat digunakan sebagai nutrisi utama oleh mikroorganisme lain sebagai bagian dari rantai makanan.
 - 4) Aktivitas antimikroba
 - 5) Perubahan temperatur rongga mulut
 - 6) Pertahanan sel inang yang menurun karena adanya infeksi

Rongga mulut terdiri dari beragam organisme termasuk *Eubacteria*, *Archaea*, *Fungi*, *Mycoplasmas*, *Protozoa* dan mungkin flora virus yang dapat bertahan dari waktu ke waktu. Terdapat 500 sampai 700 spesies pada rongga mulut atau *Phylotypes* yang hanya 50 sampai 60% yang diolah. Sisanya flora yang belum dibiakkan saat ini sedang diidentifikasi dengan menggunakan teknik molekuler. Bakteri di dalam rongga mulut diklasifikasikan sebagai organisme gram positif dan organisme gram negatif, dan yang kedua menurut kebutuhan oksigen yaitu anaerobik atau anaerob fakultatif (Samarayanake, 2012).

Bakteri yang dapat menjadi pencetus terjadinya karies yaitu *Streptococcus mutan* dan *Lactobacillus* yang dapat membuat asam dari karbohidrat. Bakteri tersebut memiliki kemampuan membuat polisakarida ekstra seluler yang membantu bakteri melekat pada gigi dan satu sama lain di dalam plak (Kidd dan Bechal, 2013). Awal pembentukan plak bakteri kokus gram positif banyak ditemukan seperti *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* dan *Streptococcus salivarius* adalah yang paling banyak ditemukan. Penelitian lain juga mengemukakan bahwa *Lactobacillus* 10 ditemukan pada plak gigi penderita karies aktif dengan jumlah berkisar 10⁴ - 10⁵ sel/mg plak (Pintauli dan Hamada, 2008). Adesi dan kolonisasi *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi melalui mekanisme *sucrose-independent* terhadap saliva dalam *acquired enamel pellicle* menyebabkan adanya perlekatan awal. Dilanjutkan pembentukan kolonisasi pada permukaan gigi melalui mekanisme *sucrose-dependent* (Fatmawati, 2011).

2.3 Penyarisan

Penyarisan adalah peristiwa terjadinya perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel yang kemudian ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Penyarisan

akan bertambah baik apabila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas (Yuwanti, 2010). Menurut Apriani (2015) terdapat beberapa metode ekstraksi seperti maserasi, sokletasi, perkolasi, dan refluks.

2.3.1 Maserasi

Metode penyarian sederhana, yaitu dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Metode ini digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari (Apriani, 2015). Kelebihan metode maserasi adalah unit alat yang dipakai sederhana, biaya operasionalnya relatif rendah dan dapat digunakan untuk zat yang tahan dan tidak tahan pemanasan, sedangkan kelemahan dari metode maserasi adalah banyak pelarut yang dipakai dan waktu yang dibutuhkan cukup lama (Monica, 2016).

Pada proses maserasi, cairan penyari akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Dalam proses maserasi diperlukan dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk simplisia, sehingga tetap terjaga derajat konsentrasi yang sekecil – kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Yuwanti, 2010). Menurut Pratiwi (2010), maserat yang diperoleh dari hasil maserasi selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya.

2.3.2 Perkolasi

Cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip ekstraksi dengan metode perkolasi yaitu serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori dan kemudian penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk tersebut, sehingga zat aktif sel – sel yang dilalui pelarut akan terlarut hingga mencapai keadaan jenuh (Apriani, 2015).

2.3.3 Sokletasi

Penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul – molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari uap dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu penampung setelah melewati sifon (Apriani, 2015).

2.3.4 Refluks

Metode ekstraksi yang dilakukan dengan merendam tumbuhan menggunakan pelarut tertentu dalam labu bulat yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut kemudian dipanaskan hingga mencapai titik didih dan uap akan terkondensasi sehingga pelarut akan kembali ke labu ekstraksi. Kelemahan dari metode ini adalah senyawa yang sensitif dengan suhu tinggi dapat terdegradasi (Seidel, 2006).

Menurut Yuwanti (2010), cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria seperti murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat yang berkhasiat yang dikehendaki, tidak memengaruhi zat yang berkhasiat, dan diperbolehkan oleh peraturan.

2.4 Destilasi (penyulingan)

Prinsip dasar destilasi adalah pemisahan komponen berdasarkan titik didih. Destilasi tanaman secara sederhana menggunakan penguapan atau

membebaskan minyak dari membran sel tanaman dengan adanya kelembaban, dengan menerapkan suhu tinggi dan kemudian mendinginkan campuran uap untuk memisahkan minyak dari air berdasarkan ketidakcampuran dan densitas minyak atsiri dengan air. Minyak atsiri daun limau kuit komponen utama penyusun aromanya adalah sitronelal. Oleh karena itu untuk meningkatkan kualitas minyak atsiri perlu dilakukan upaya untuk merusak kelenjar minyak sehingga minyak atsiri mudah terekstrak (Wulandari dan Mustofa, 2017). Dilatar belakangi hal inilah maka dalam penelitian ini akan dikaji pengaruh perlakuan pendahuluan terhadap kulit, yaitu dengan perajangan terhadap kualitas minyak atsiri kulit limau kuit dengan metode destilasi etanol.

2.5 Metode Perhitungan Koloni Bakteri

Ada banyaknya metode yang digunakan dalam menghitung jumlah bakteri secara kuantitatif dari suatu populasi bakteri. Ada 2 cara perhitungan jumlah mikrobial yaitu perhitungan secara langsung (*direct method*) dan secara tidak langsung (*indirect method*) (Yulia dan Anis, 2012).

2.5.1 Perhitungan secara langsung

Perhitungan jumlah mikrobial secara langsung, dipakai untuk menentukan jumlah mikrobial keseluruhan baik yang mati maupun yang hidup. Ada beberapa cara perhitungan antara lain:

2.5.1.1 Menggunakan cara pengecatan dan pengamatan mikroskopis

Pada cara ini mula-mula dibuat preparat mikroskopik pada gelas benda, suspensi bahan atau biakan mikrobial yang telah diketahui volumenya diratakan di atas gelas benda pada suatu luas tertentu setelah itu preparat dicat dan dihitung jumlah rata-rata sel tiap petak atau tiap bidang pandangan mikroskop. Luas bidang pandangan mikroskop dihitung dengan mengukur garis tengahnya. Jadi jumlah mikrobial yang terdapat pada gelas benda seluruhnya dapat dihitung, sehingga dapat diperoleh jumlah

mikrobia tiap cc bahan atau cairan yang diperiksa (Yulia dan Anis, 2012).

2.5.1.2 Menggunakan filter membran (*milipore filter*)

Suspensi bahan mula-mula disaring sejumlah volume tertentu kemudian disaring dengan filter membrane yang telah disterilkan terlebih dahulu. Dengan menghitung jumlah sel rata-rata tiap kesatuan luas pada filter membran dapat dihitung jumlah sel dari volume suspensi yang disaring (Yulia dan Anis, 2012).

2.5.1.3 Menggunakan counting chamber

Perhitungan ini dapat menggunakan haemocytometer, Petroff Hausser Bacteria Counter, dan alat-alat lainnya yang sejenis. Dasar perhitungannya ialah dengan menempatkan 1 tetes suspensi bahan atau biakan mikrobia pada alat tersebut, ditutup dengan gelas penutup kemudian diamati dengan mikroskop dengan perbesaran sesuai besar kecilnya mikrobia. Dengan menentukan jumlah sel rata-rata tiap petak (ruangan) yang telah diketahui volumenya dan alat tersebut dapat ditentukan jumlah sel mikrobia tiap cc (Yulia dan Anis, 2012). Perhitungan jumlah organisme uniseluler dalam suspensi dapat ditentukan secara mikroskopik dengan menghitung individu sel dalam volume yang sangat kecil secara akurat. Seperti perhitungan yang biasanya dilakukan dengan mikroskop khusus (*slide*) yang dikenal dengan *counting chamber*. *Counting chamber* terdiri dari kotak-kotak teratur yang telah diketahui areanya, yang disusun dari liquid film dimana telah diketahui kedalamannya dan dapat dibedakan antara *slide* dan *cover slip*. Akibatnya volume dari cairan yang dituangkan tiap kotak dengan pasti volumenya dapat diketahui. Seperti perhitungan langsung yang dikenal dengan *total cell count* merupakan perhitungan yang meliputi sel hidup dan sel yang tidak hidup, sejak ini pada kasus

bacteria yang tidak dibedakan dengan pengamatan mikroskopik (Irianto, 2007).

2.5.2 Perhitungan secara tidak langsung

Perhitungan mikrobial secara tidak langsung, dipakai untuk menentukan jumlah mikrobial keseluruhan baik yang mati maupun yang hidup atau hanya menentukan jumlah mikrobial yang hidup saja. Untuk menentukan jumlah mikrobial yang hidup dapat dilakukan setelah suspensi bahan atau biakan mikrobial diencerkan beberapa kali dan ditumbuhkan dalam medium dengan cara tertentu tergantung dari macamnya bahan dan sifat mikrobialnya (Yulia dan Anis, 2012). Ada beberapa cara perhitungan antara lain:

2.5.2.1 Menggunakan sentrifuge

Caranya ialah 10 cc biakan cair mikrobial disentrifuge dengan menggunakan sentrifuge yang biasa digunakan untuk menentukan jumlah butir-butir darah. Kecapatan dan waktu sentrifugasi harus diperhatikan. Setelah ditentukan volume mikrobial keseluruhan maka dapat dipakai untuk menentukan jumlah sel-sel mikrobial tiap cc, yaitu dengan membagi volume mikrobial keseluruhan dengan volume rata-rata tiap sel mikrobial (Suriawiria, 2005).

2.5.2.2 Berdasarkan kekeruhan

Dasar penentuan cara ini ialah jika seberkas sinar dilakukan pada suatu suspensi mikrobial maka makin pekat (keruh) suspensi tersebut, makin besar intensitas sinar yang diabsorpsi sehingga intensitas sinar yang diteruskan makin kecil (Yulia dan Anis, 2012). Untuk perhitungan jumlah bakteri berdasarkan kekeruhan digunakan alat-alat seperti photoelectric turbidimeter, electrophotometer, spectrophotometer, nephelometer, dan alat-alat lain yang sejenis. Alat-alat ini menggunakan sinar monokromatik dengan panjang gelombang tertentu (Dwijoseputro, 2010).

2.5.2.3 Menggunakan perhitungan elektronik (*electronic counter*)

Alat ini dapat untuk menentukan beribu-ribu sel tiap detik secara tepat. Prinsip kerjanya alat ini adanya gangguan-gangguan pada aliran ion-ion yang bergerak diantara 2 elektroda. Penyumbatan sementara oleh sel mikrobial pada pori sekat yang terdapat diantara kedua elektroda sehingga terputusnya aliran listrik. Jumlah pemutusan aliran tiap satuan waktu dihubungkan dengan kecepatan aliran cairan yang mengandung mikrobial adalah ukuran jumlah mikrobial dalam cairan tersebut (Yulia dan Anis, 2012).

2.5.2.4 Berdasarkan jumlah koloni (*Total Plate Count*)

TPC (*Total Plate Count*) merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah mikroba. Metode hitungan cawan (TPC) merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam analisa, karena koloni dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Nurhayati dan Samallo, 2013).

Cara ini yang paling umum digunakan untuk perhitungan jumlah mikrobial. Dasarnya ialah membuat suatu seri pengenceran bahan dengan kelipatan 10 (Yulia dan Anis, 2012). Tidak semua jumlah bakteri dapat dihitung. Ada beberapa syarat perhitungan yang harus dipenuhi, yaitu :

- a. Jumlah koloni tiap petridish antara 30-300 koloni, jika memang tidak ada yang memenuhi syarat dipilih yang jumlahnya mendekati 300.
- b. Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas petridish, koloni tersebut dikenal sebagai spreader.
- c. Perbandingan jumlah bakteri dari hasil pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya, jika sama atau lebih kecil dari 2

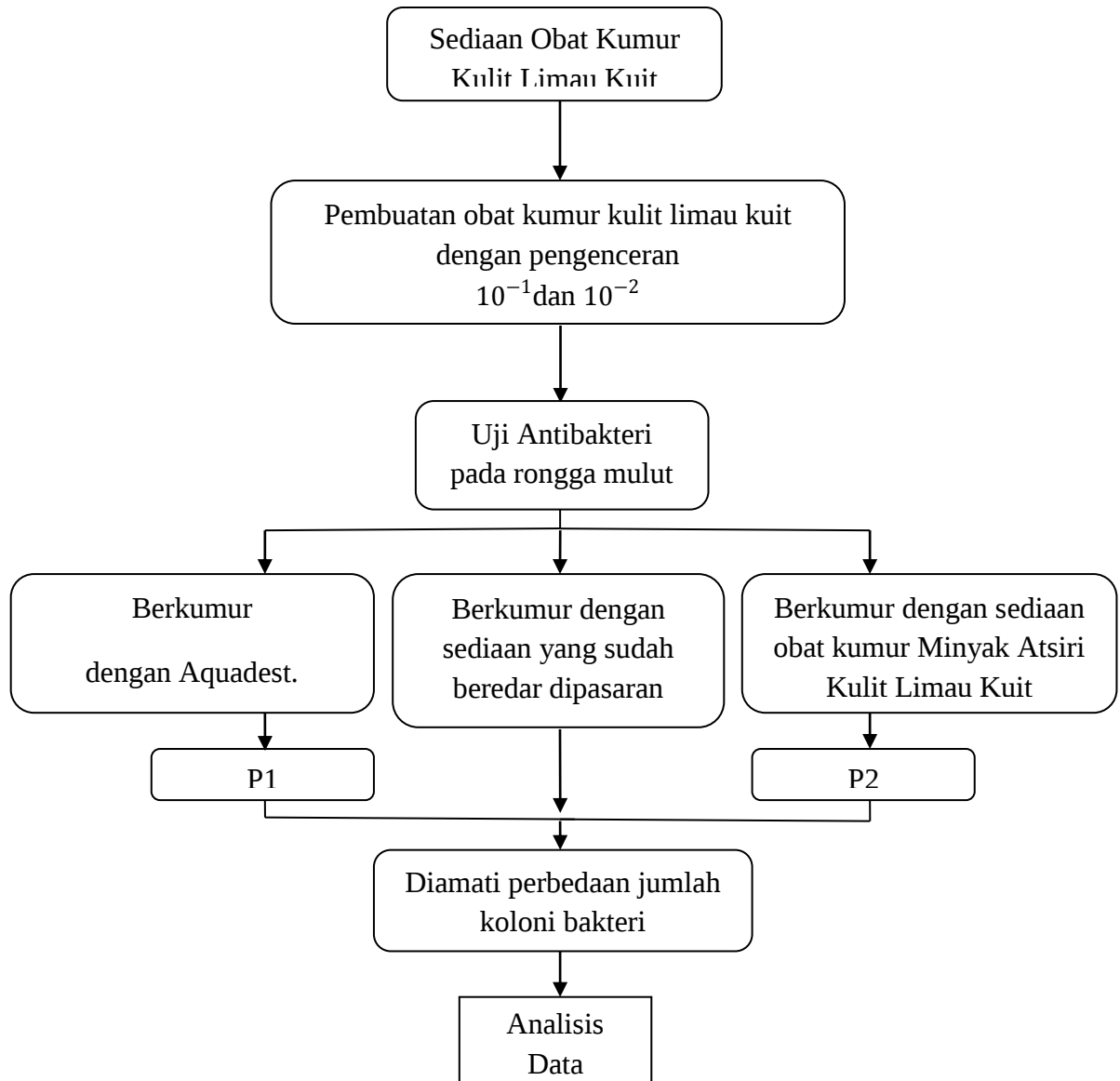
hasilnya dirata-rata, tetapi jika lebih besar dari 2 yang dipakai jumlah mikroba dari hasil pengenceran sebelumnya. Pengenceran dilakukan agar setelah inkubasi, koloni yang terbentuk pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung. Dimana jumlah terbaik adalah antara 30 sampai 300 sel mikrobial per ml, per gr, atau per cm permukaan (Dwijoseputro, 2010).

2.6 Obat Kumur (*Mouthwash*)

Salah satu cara untuk mengatasi terbentuknya plak gigi yaitu dengan menggunakan obat kumur (*mouthwash*) yang mengandung bahan antibakteri. *Mouthwash* (obat kumur) adalah formula berupa larutan, umumnya dalam bentuk pekat yang harus diencerkan dahulu sebelum digunakan, dimaksudkan untuk digunakan sebagai pencegahan atau pengobatan infeksi tenggorok. Menurut definisi yang lain, *mouthwash* adalah larutan yang biasanya mengandung bahan penyegar nafas, astringen, demulsen, atau surfaktan, atau antibakteri untuk menyegarkan dan membersihkan saluran pernafasan yang pemakaiannya dengan berkumur (Akarina, 2011).

Obat kumur sering digunakan untuk menjaga kebersihan dan kesehatan gigi dan mulut. Kegiatan menyikat gigi dua kali sehari dan penggunaan dental floss merupakan rekomendasi standar untuk menjaga kebersihan serta kesegaran mulut dan mencegah berbagai penyakit gigi dan mulut (Tao-He dkk, 2010).

2.7 Kerangka konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep

Keterangan:

- P1 : Jumlah koloni bakteri sebelum berkumur dengan sediaan obat kumur minyak atsiri kulit limau kuit
- P2 : Jumlah koloni bakteri setelah berkumur dengan sediaan obat kumur minyak atsiri kulit limau kuit.