

Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus mutans*

Meri Ropiqa^{1*}, Ika Ristia Rahman², Hadi Kurniawan³, Erwan kurnianto⁴

^{1,3} Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura,
Jl. Jl. Prof.Dr.H.Hadari Nawawi / Jendral Ahmad Yani, Pontianak - Kalimantan Barat (78124), Indonesia

^{2,4} Akademi Farmasi Yarsi Pontianak
Jl. Panglima Aim No.2, Kota Pontianak, Kalimantan Barat 78232, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: meriropiqa@pharm.untan.ac.id

ABSTRAK

Agen antibakteri merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan membunuh bakteri penyebab infeksi. Saat ini peningkatan resistensi antibiotik membuka peluang untuk memanfaatkan senyawa bioaktif dari berbagai tumbuhan Indonesia, salah satunya melalui pemanfaatan kulit jeruk pontianak. Berdasarkan beberapa literature telah diklaim bahwa minyak atsiri kulit jeruk pontianak dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Pada penelitian ini dilakukan uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. mutans*. Minyak atsiri kulit jeruk Pontianak terlebih dahulu dilakukan uji skrining fitokimia kemudian dilakukan uji antibakteri pada konsentrasi yang berbeda yaitu 5%, 10%, 25% dan 50%, uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit jeruk pontianak mengandung flavonoid, saponin dan terpenoid. Selain itu, saat diuji terhadap bakteri *S. aerues*, minyak atsiri kulit jeruk memiliki zona hambat 9-11 mm yang termasuk golongan antibakteri kuat, sedangkan *S. mutans* digolongkan pada kategori sedang yaitu pada kisaran 7-10 mm. Uji statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada daya hambat terhadap bakteri *S. mutans* dan *S. aureus* yang ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat pada kelompok perlakuan yang berbeda-beda sesuai konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk.

Kata Kunci:

Minyak atisiri ; kulit jeruk Pontianak ; antibakteri

Diterima:
07-12-2022

Disetujui:
14-01-2023

Online:
20-01-2023

ABSTRACT

Antibacterial is a substance that can inhibit the growth of bacteria and can kill bacteria that cause infection. Currently increasing resistance to antibiotics is an opportunity to utilize bioactive compounds from the diversity of plants in Indonesia, one of which is by utilizing Pontianak orange peels. Based on some literature, it is stated that essential oils from Pontianak orange peels can inhibit the growth of several types of bacteria. In this study, antibacterial tests were carried out on *S.aureus* and *S.mutans* bacteria. The essential oil of Pontianak orange peel was first tested for phytochemical screening and then an antibacterial test was carried out with several concentrations of 5%, 10%, 25%, and 50%, the antibacterial activity test was carried out using the disc diffusion method. The results of the phytochemical screening test showed that the essential oil of Pontianak orange peel contains flavonoids, saponins, and terpenoids. Furthermore, in testing the *S.aerues* bacteria, the essential oil of orange peel can have an inhibition zone with a range of 9-11 mm which is included in the strong antibacterial category, while in testing the inhibition of *S. mutans* bacteria, it is included in the moderate category, namely in the range of 7-10 mm. In the statistical test, there was no significant difference in the inhibition of *S. mutans* and *S.aereus* bacteria in inhibiting the growth of the orange peel essential oil as indicated by the diameter of the inhibition zone in the different treatment groups according to the concentration of orange peel essential oil

Copyright © 2023 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Essential oil ; Pontianak orange peel; antibacterial

Received:

2022 -12-07

Accepted:

2023-01-14

Online:

2023 -01-20

1. Pendahuluan

Salah satu tumbuhan khas yang tumbuh di Kalimantan Barat adalah jeruk. Bagian tumbuhan yang dapat dimakan atau diolah langsung adalah buahnya. Buah jeruk adalah salah satu bisnis terbesar Kalimantan Barat, namun limbah kulit jeruk Pontianak belum dimanfaatkan secara optimal. Kandungan yang dominan pada kulit jeruk adalah minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan metabolit sekunder dengan bau khas yang terdapat pada beberapa tanaman yang mudah menguap jika dibiarkan pada suhu kamar [1]. Minyak atsiri kulit jeruk sering digunakan sebagai pereda sakit kepala, meredakan mual dan meredakan gejala flu. Selain itu kulit jeruk dapat dimanfaatkan sebagai aromaterapi yang bekerja dalam memberikan sensasi menenangkan, dapat meningkatkan nafsu makan dan menyembuhkan berbagai penyakit, serta bermanfaat bagi kulit [2]. Minyak atsiri adalah zat alami yang banyak diteliti dan memiliki efek antibakteri [3]. Selain minyak atsiri, kulit jeruk pontianak juga mengandung flavonoid, saponin dan triterpenoid [4].

Antibakteri adalah zat yang dapat membunuh bakteri atau mencegah pertumbuhan bakteri penyebab infeksi. Infeksi adalah invasi jaringan tubuh oleh mikroorganisme atau parasit yang bersifat simptomatik atau asimtomatik dan lokal atau sistemik [5]. Ada beberapa bakteri berbeda yang dapat menyebabkan infeksi termasuk *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*. *Streptococcus mutans* adalah bakteri gram positif yang menyebabkan karang gigi atau plak. *Streptococcus mutans* adalah kelompok besar bakteri karies, yang sebagai zat pembentuk polisakarida ekstraseluler yang stabil, memiliki kemampuan untuk berkolonisasi pada keasaman (pH) permukaan gigi yang relatif rendah, dan karenanya memainkan peran penting dalam pembentukan karies gigi [6]. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif dengan bakteri coliform yang bersifat patogen bagi manusia. *Staphylococcus aureus* menyebabkan 70% infeksi rumah sakit. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak invasif seperti pneumonia, osteomyelitis, meningitis dan endokarditis

[7]. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang resisten terhadap beberapa antibiotik, antara lain antibiotik golongan β -laktamase, methicillin, nafcillin, oxacillin, dan vancomycin [8].

Meningkatnya resistensi antibiotik pada bakteri merupakan peluang yang sangat baik untuk memanfaatkan senyawa bioaktif yang terdapat pada keanekaragaman tumbuhan Indonesia, salah satunya pemanfaatan kulit jeruk Pontianak. Berdasarkan beberapa literatur telah diklaim bahwa minyak atsiri kulit jeruk Pontianak dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri seperti *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk Pontianak terhadap *Staphylococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*.

2. Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: alat destilasi minyak atsiri, cawan petri, neraca analitik, tabung reaksi, inkubator, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), oven pembakar bunsen, rak tabung reaksi. Kulit buah jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa*) segar, Mc. Farland (E Merck®), paperdisk, pereaksi besi (III) klorida 10 % (Merck®), H₂SO₄ pekat, *Mueller-Hinton Agar* (MHA), CH₃COOH, DMSO, Aquades.

Pembuatan Simplisia Minyak Atsiri

Simplisia yang digunakan pada penelitian adalah kulit jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa*) yang telah dikering anginkan. Pembuatan minyak atsiri menggunakan metode destilasi uap.

Uji Skrining Fitokimia

Uji Flavonoid

Minyak atsiri kulit jeruk pontianak dimasukkan ke dalam tabung reaksi 3-7 tetes, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan asam sulfat pekat (H₂SO₄). Diamati perubahan warna yang terjadi, jika larutan berubah warna menjadi merah tua atau kuning menandakan adanya senyawa flavonoid [1].

Uji Saponin

Minyak atsiri dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL air (H₂O). Larutan dikocok selama 30 detik, busa yang terbentuk menunjukkan adanya saponin. Larutan didiamkan beberapa menit, apabila busa masih stabil antara 1-10 cm menunjukkan adanya senyawa saponin [1].

Uji Steroid dan Terpenoid

Minyak atsiri kulit jeruk Pontianak pala sebanyak 3-7 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian 1-2 tetes larutan asam asetat glasial dan 1-2 tetes larutan asam sulfat pekat (H₂SO₄) ditambahkan dalam tabung reaksi tersebut. Warna larutan yang berubah biru atau ungu menunjukkan adanya senyawa steroid, sedangkan perubahan warna larutan menjadi merah atau jingga menandakan adanya senyawa terpenoid [1].

Pembuatan dan Sterilisasi Media

Sebanyak 38 gram MHA dilarutkan dalam 1 L akuades kemudian dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan magnetik stirer sampai homogen, dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit [9].

Pembuatan Suspensi Bakteri

Diambil masing-masing 1 ml hasil peremajaan bakteri biakan bakteri murni *Streptococcus mutan*, *Staphylococcus aureus* (SA), dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 5 ml NaCl fisiologis, homogenkan. Suspensi bakteri dibandingkan dengan standart Mc. Farland dengan kepadatan bakteri 10^8 sel/ml [10].

Penyiapan Sampel Uji

Dibuat dengan masing-masing konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50% b/v dengan pelarut DMSO. Setelah seri konsentrasi dibuat *paperdisk* direndamkan didalam masing masing konsentrasi selama 15 menit [11].

Uji In Vitro Antibakteri

Pengujian daya hambat dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram. Kertas cakram direndam dalam larutan uji pada konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50% b/v. Disiapkan medium MHA (*Mueller hinton agar*) sebanyak 15 ml masukkan kedalam cawan petri biarkan hingga memadat. Masukkan 0,1 ml suspensi biakan bakteri kedalam cawan petri menggunakan mikropipet, masukkan kedalam medium dan ratakan menggunakan batang L dan dibiarkan sampai menyerap. Kemudian letakkan *paper disk* yang sudah direndam dalam sampel diatas medium padat dan diinkubasi didalam inkubator pada suhu 37° C selama 24 jam dengan posisi terbalik [10].

Pengamatan

Penentuan daya hambat pertumbuhan bakteri uji dilakukan dengan mengukur diameter zona bening disekeliling kertas saring. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi didalam inkubator selama 24 jam dengan menggunakan alat jangka sorong [10].

Analisis data

Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat dari tiap konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk . Data diolah dengan *One Way ANOVA* menggunakan program SPSS. Sebelum dilakukan uji ANOVA maka akan dilakukan uji normalitas dan homogenitas.

3. Hasil dan Pembahasan

Uji Skrining Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa secara kualitatif berdasarkan perubahan warna sampel. Hasil uji fitokimia tercantum pada Tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri Kulit Jeruk Pontianak mengandung flavonoid, saponin dan terpenoid yang bermanfaat.

Uji skrining fitokimia flavonoid menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi jingga pada larutan, hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit jeruk Pontianak mengandung flavonoid. Pada uji flavonoid ini terdapat proses dimana asam sulfat pekat ditambahkan untuk membentuk senyawa flavonoid (pembentukan garam flavilium) [12].

Tabel 1. Hasil uji fitokimia minyak atsiri kulit jeruk pontianak

Uji fitokimia	Sampel Minyak atsiri kulit jeruk pontianak
Flavonoid	+
Saponin	+
Terpenoid	+
Steroid	-

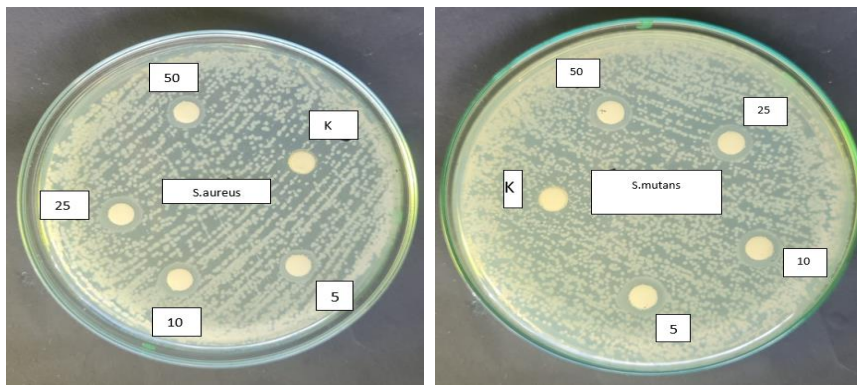
Keterangan : (-) = tidak terdeteksi

(+) = terdeteksi

Uji saponin memberikan hasil positif yang ditunjukkan terbentuknya buih yang stabil setelah dikocok selama beberapa detik. Busa yang terbentuk pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa [13]. Sedangkan minyak atsiri kulit jeruk Pontianak menambahkan asam asetat glasial pada uji kandungan terpenoid, adapun tujuan penambahan asam asetat glasial adalah untuk memutuskan hubungan steroid-terpenoid dengan golongan lain. Selain itu tujuan penambahan asam asetat ini adalah supaya ikatan gula pada senyawa tersebut putus, sehingga gugus gula terpenoid steroid terlepas. Berdasarkan hasil pengujian diketahui minyak atsiri kulit jeruk mengandung senyawa terpenoid yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga dan terbentuknya cincin berwarna merah [1], dalam hal ini uji steroid memberikan hasil negatif karena tidak ada perubahan warna menjadi biru

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk Pontianak dengan metode disk difusion pada media MHA. Bakteri yang diuji dalam pengujian ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus mutans*. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk Pontianak menunjukkan adanya efek penghambatan terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *S. mutans* dengan membentuk zona hambat di sekitar lempeng. Hasil Uji Antibakteri Minyak Kulit Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. Var microcarpa) terhadap *S. aureus* dan *S. mutans* pada konsentrasi berbeda 50%, 25%, 10%, dan 5% yang dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *S. mutans*.



Gambar 1. Aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk Pontianak

Dari hasil Tabel 2 terlihat bahwa minyak atsiri kulit jeruk Pontianak menghasilkan diameter zona hambat pada uji antibakteri terhadap *S. aureus* dan *S. mutans*. Hasil penelitian memberikan kisaran diameter daya hambat sebesar 7-11 mm. Menurut Davis dan Stout [14] daya hambat suatu zat antibakteri diklasifikasikan menjadi beberapa kategori, pada pengujian terhadap bakteri *S.aerues* kategori antibakteri yang dihasilkan digolongkan pada ketegori kuat yaitu pada kisaran 9-11 mm, sedangkan pada uji daya hambat pada bakteri *S. mutans* termasuk dalam kategori sedang yaitu pada kisaran 7-10 mm. Berdasarkan kelompok kriteria potensi antibakteri yang terlihat pada Tabel 3, minyak atsiri kulit jeruk Pontianak memiliki potensi antibakteri yang lebih kuat terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan *S. mutans*.

Tabel 2. Hasil diameter zona hambat

Bakteri Uji	Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)	SD
		I	II	III		
<i>Staphylococcus mutans</i>	5	8,05	7,01	8,00	7,69	0,59
	10	9,00	9,00	9,00	9,01	0,01
	25	9,84	9,01	9,06	9,30	0,47
	50	8,01	9,01	8,00	8,34	0,58
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	9,00	10,00	9,00	9,33	0,57
	10	10,00	11,01	10,00	10,34	0,58
	25	11,00	11,01	11,01	11,00	0,57
	50	10,00	10,00	10,80	10,27	0,46

Selanjutnya dilakukan uji normalitas data dengan uji Shapiro-Wilk, pada konsentrasi 5% - 50% pada bakteri *S. aureus* dan *S. mutans* menunjukkan nilai $p < 0,05$ sehingga data tidak berdistribusi normal. Oleh karena itu, uji hipotesis selanjutnya tidak dapat dilakukan dengan uji parametrik One-Way Anova melainkan menggunakan uji alternatif yaitu uji nonparametrik KruskalWallis. Pada uji statistik Kruskal-Wallis diperoleh nilai ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna minyak atsiri kulit jeruk dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan *S. aureus* yang ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat pada kelompok perlakuan yang berbeda-beda berdasarkan konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk.

Tabel 3. Kriteria pengelompokan potensi antibiotik

Zona hambat	Kriteria
>20mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5mm	Lemah

Kemampuan minyak atsiri kulit jeruk dalam menghambat aktivitas bakteri *S. mutans* dan *S. aureus* dihubungkan dengan senyawa bioaktif yang dikandungnya. Dalam minyak atsiri kulit jeruk mengandung senyawa seperti flavonoid, saponin, dan terpenoid. Senyawa flavonoid yang terdapat dalam minyak atsiri kulit jeruk dapat bertindak sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja membentuk suatu senyawa yang kompleks terhadap protein ekstraseluler sehingga dapat mengganggu membran sel bakteri, atau dengan kata lain senyawa flavonoid akan mendenaturasi atau memecah protein pada sel bakteri [15]. Sedangkan Saponin memiliki mekanisme aksi antibakteri yang meningkatkan permeabilitas membran sel. Peningkatan permeabilitas sel dapat terjadi karena adanya struktur bipolar yang dimiliki oleh saponin yang memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan komponen membran sel dan kemudian dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel [16] [17]. Senyawa terpenoid yang terdapat dalam minyak atsiri kulit jeruk juga dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara menurunkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga senyawa triterpenoid akan bereaksi dengan protein transmembran (porin) pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat dan menyebabkan kerusakan porin [18].

4. Kesimpulan

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit jeruk Pontianak mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan terpenoid yang bersifat sebagai antibakteri. Pengujian terhadap *S.aerues* kategori antibakteri kuat dengan range 9-11 mm, sedangkan pada pengujian daya hambat terhadap bakteri *S. mutans* termasuk dalam kategori sedang yaitu pada range 7-10 mm.

Referensi

- [1] J. B. Harborne, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, 2nd ed. Bandung: Penerbit ITB, 1987.
- [2] R. F. Eza, A. Rizqi, and T. Hidayah, "Uji Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis*) sebagai Alternatif Bahan Pembuatan Masker Wajah," *Jurnal Penelitian Mahasiswa UNY*, vol. VI, no. 2, 2011.
- [3] Depkes RI, *Farmakope Indonesia*, III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979.
- [4] R. Sari, F. N. A. Mustari, and S. Wahdaningsih, "Antibacterial Activity Essentials Oil Pontianak Orange PEELS AGAINST *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*," 2013.
- [5] W. A. N. Dorland, *Kamus Kedokteran Dorland. ed. 31*, 31st ed. Jakarta: EGC2, 2010.
- [6] A. P. Wardani and N. Kusumasari, "Pengaruh Larutan Ekstrak Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap *Streptococcus mutans*: Studi In Vitro dan In Vivo," *Media Medika Indonesiana*, vol. 46, 2012.

- [7] A. H. Bartlett and K. G. Hulten, "Staphylococcus aureus Pathogenesis: Secretion Systems, Adhesins, and Invasins," *Pediatric Infectious Disease Journal*, vol. 29, no. 9, pp. 860–861, Sep. 2010, doi: 10.1097/INF.0b013e3181ef2477.
- [8] Jawetz, Melnick, and Adelberg's, *Mikrobiologi Kedokteran*, 23rd ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2004.
- [9] A. Hudaya, N. Radiastuti, D. Sukandar, and I. Djajanegara, "TERHADAP BAKTERI E. coli DAN S. aureus SEBAGAI".
- [10] E. Kurnianto, I. R. Rahman, Hairunnisa, and D. K. Sari, "Aktivitas Antibakteri Etanol Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*)," *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, vol. 8, no. 2, 2021.
- [11] H. Sujono, S. Rizal, S. Purbaya, and Jasmansyah, "Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Staphylococcus aureus*," *Jurnal Kartika Kimia*, vol. 2, pp. 30–36, 2019.
- [12] O. E. Puspa, I. Syahbanu, and M. A. Wibowo, "UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS MINYAK ATSIRI DAUN PALA (*Myristica fragans* Houtt) DARI PULAU LEMUKUTAN," *JKK*, vol. 6, pp. 1–6, 2017.
- [13] R. Djamal, *Prinsip-Prinsip Dasar Bekerja Dalam Bidang Kimia Bahan Alam*. Padang: universitas Andalas, 1990.
- [14] W. W. Davis and T. R. Stout, "Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay: I. Factors Influencing Variability and Error," *Appl Microbiol*, vol. 22, no. 4, pp. 659–665, Oct. 1971, doi: 10.1128/am.22.4.659-665.1971.
- [15] Y. Xie, W. Yang, F. Tang, X. Chen, and L. Ren, "Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism," *CMC*, vol. 22, no. 1, pp. 132–149, Nov. 2014, doi: 10.2174/0929867321666140916113443.
- [16] S. Madduluri, K. B. Rao, and B. Sitaram, "IN VITRO EVALUATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF FIVE INDIGENOUS PLANTS EXTRACT AGAINST FIVE BACTERIAL PATHOGENS OF HUMAN," vol. 5.
- [17] M. J. Pelczar and E. C. S. Chan, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press, 1986.
- [18] M. Ngajow, J. Abidjulu, and V. S. Kamu, "Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro," *JM*, vol. 2, no. 2, p. 128, Jul. 2013, doi: 10.35799/jm.2.2.2013.3121.