
Antibacterial Activity Test Of Siam Orang Peel Varieties Ethanol Extract

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Varietas Kulit Jeruk Siam

Monicha Yhuyhen Safiti, Azwir Anhar, Irdawati, Dwi Hilda Putri*

¹ Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: dwihildaputri.08@gmail.com

Abstract

Infectious disease is a problem in the health sector that continues to increase from time to time and is a major cause of disease in society, especially in the tropics. One of the bacteria that causes infection that is often found is *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* which are pathogenic bacteria in humans. This study aims to determine the antimicrobial activity test of the ethanol extract of Siamese orange peel varieties. This research was conducted using a completely randomized design (Factorial CRD) with 4 treatments. The treatments given were: the concentration of Mount Omeh ethanol extract and pasaman orange peel 6.25%, 12.5%, 25% and 50%. The data obtained were analyzed using ANOVA with a confidence level of $\alpha = 0.05$ and tested further with DNMRT. Antimicrobial testing was carried out using the disc diffusion method to determine the inhibition zones formed. The results of the research that has been done indicate that the ethanol extract of Siamese orange peel varieties cannot inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* but can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria. At a concentration of 6.25% for the Siam Gunung Omeh variety and a concentration of 25%, 50% for the Pasaman variety. The inhibition zone formed on *Escherichia coli* has very strong antimicrobial activity.

Keywords: Antibacterial, siam orange, inhibition zone.

Abstrak

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus mengalami peningkatan dan menjadi penyebab utama penyakit di masyarakat terutama pada daerah tropis. Salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi yang sering ditemukan adalah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* yang merupakan bakteri patogen pada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji aktivitas anti mikroba ekstrak etanol varietas kulit jeruk siam. Penelitian ini dilakukan dengan metode rancangan acak lengkap faktorial (RAL faktorial) dengan 4 perlakuan. Perlakuan yang dilakukan yaitu: konsentrasi ekstra ketanol kulit jeruk siam Gunung Omeh dan Pasaman 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA dengan taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$ dan diuji lanjut dengan DNMRT. Pengujian anti mikroba dilakukan dengan metode difusikram untuk mengetahui zona hambat yang terbentuk. Hasil penelitian yang telah dilaksanakan didapatkan bahwa ekstra ketanol varietas kulit jeruk siam tidak dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* akan tetapi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Pada Konsentrasi 6,25% untuk varietas jeruk siam Gunung Omeh dan konsentrasi 25%, 50% pada varietas Pasaman. Zona hambat yang terbentuk pada *Escherichia coli* memiliki aktivitas anti mikroba yang sangat kuat.

Kata kunci: Antibakteri, jeruk siam, zona hambat

Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus mengalami peningkatan dan menjadi penyebab utama penyakit di masyarakat terutama pada daerah tropis. Tubuh manusia merupakan inang paling disukai oleh berbagai jenis mikroorganisme yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi pada tubuh manusia terutama disebabkan oleh bakteri bersifat patogen seperti *S.aureus*, *E.coli* dan pada jamur seperti *C.albicans*. Infeksi pada tubuh manusia dapat diatasi dengan zat antibakteri. Antibakteri merupakan antimikroba dan antibiotik yang dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen pada manusia (Rachmatiah et al., 2020).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang bersifat patogen dapat diatasi dengan cara mencari senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antibiotik dari tumbuhan yang memiliki khasiat obat. Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh mikroba adalah jeruk. Jeruk sudah tumbuh di Indonesia sejak ratusan tahun lalu, jeruk yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia salah satunya adalah jeruk siam. Di Provinsi Sumatera Barat terdapat beberapa sentra produksi jeruk siam seperti Kecamatan Gunung Omeh dan Kabupaten Pasaman (Dinas Pertanian Tanaman Pangan Sumatera Barat, 2014).

Jeruk siam merupakan buah yang mengandung banyak zat gizi, vitamin dan mineral. Selama ini jeruk terkenal sebagai sumber vitamin C. Jeruk siam memiliki kulit buah yang berwarna hijau sampai kuning mengkilat. Kulit jeruk kaya akan flavanon dan banyak flavon polimetoksilat, yang sangat jarang ditemukan pada tanaman lain. Senyawa ini, tidak hanya memainkan peran penting dalam proses fisiologis dan ekologis, tetapi juga menarik secara komersial karena banyak aplikasinya dalam industri makanan dan farmasi (Saramanda & Kaparapu, 2017).

Menurut (Anagnostopoulou et al., 2006) melaporkan adanya aktivitas antioksidan dalam fraksi etil asetat kulit jeruk manis. Stahl dan Sies (1995) menyebutkan bahwa kandungan senyawa dalam kulit jeruk memiliki kemampuan untuk menghambat oksidasi pada tahap progresi dalam karsinogenesis. Berdasarkan penelitian tersebut, senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan terdapat pada kulit jeruk.

Penelitian yang dilakukan (Wardani 2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk nipis dapat menyembuhkan ulkus pada konsentrasi 25%. Selanjutnya, penelitian (Michiko 2020) menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit manis dapat menyembuhkan infeksi oleh *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 20%.

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan, maka dilakukan penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Varietas Kulit Jeruk Siam.

Bahan dan Metode

Bahan

Mikroba uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur stok di Laboratorium Penelitian Biologi FMIPA UNP, yang terdiri dari *S.aureus*, *E.coli* Kulit jeruk siam Gunung Omeh dan Pasaman.

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL Faktorial).

Peremajaan Mikroba Uji

Peremajaan mikroba uji dilakukan dengan cara menginokulasi satu ose biakan murni *S.aureus*, *E.coli* ke dalam medium pertumbuhan NA miring. Biakan bakteri diinkubasi dalam *incubator* pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator.

Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Siam Gunung Omeh dan Pasaman

Kulit jeruk dipotong kecil-kecil selanjutnya dicuci menggunakan aquades, selanjutnya dikering anginkan pada suhu ruang sampai diperoleh berat yang konstan. Selanjutnya, kulit jeruk dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi bubuk. Sebanyak 300 g bubuk kulit jeruk dimaserasi dengan etanol absolut sebanyak 1L selama 3 x 24 jam. Setelah proses maserasi, larutan disaring menggunakan kertas saring. Hasil saringan selanjutnya diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai kental. Ekstrak kental yang telah yang diperoleh di ambil untuk pengenceran sesuai konsentrasi perlakuan (50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi mikroba uji *S.aureus*, *E.coli*, dilakukan dengan cara mengencerkan lebih kurang 2 ose mikroba uji ke dalam 9 ml NaCL 0,9% steril. Selanjutnya, suspensi dihomogenkan menggunakan *vorteks*. Pengukuran kekeruhan suspensi disetarakan dengan standar *Mc.farland's* 0,5 menggunakan *spektrofotometer* pada panjang gelombang 625 nm dan dengan OD 0.08-0,1 (konsentrasi bakteri $\pm 10^8$ CFU/sel) (Nuria, 2010).

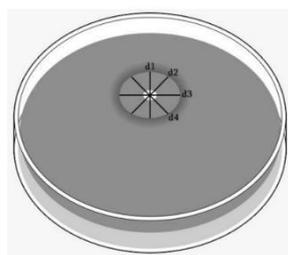
Uji Aktivitas Antimikroba

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba adalah metode difusi. Suspensi mikroba uji yang kekeruhannya telah disetarakan dengan standar *Mc.farland's* 0,5 diinokulasikan secara merata ke medium NA dengan menggunakan *cotton bud*. Selanjutnya, sebanyak 20 μ L ekstrak etanol kulit jeruk dengan konsentrasi berbeda ditetaskan pada masing-masing kertas cakram. Kertas cakram selanjutnya diletakkan diatas medium yang sudah diinokulasikan mikroba uji. Kultur uji diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur untuk menentukan aktifitas antimikroba yang dihasilkan.

Pengamatan Aktivitas Antimikroba

Pengamatan pertumbuhan diameter koloni bakteri dengan mengukur zona bening. Aktivitas antimikroba ditentukan berdasarkan pada ukuran zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong pada bagian bawah cawan petri diletakkan pada permukaan yang berwarna gelap. Diameter zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram diukur dari dua sisi yang berbeda kemudian dirata-ratakan.

Zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram diukur dengan rumus : $d = \frac{d1+d2+dn}{n}$



Gambar 1. Pengukuran Diameter Zona Hambat (Hester et al., 2014).

$$\text{Diameter Zona Hambat (d)} = \frac{(d1+d2+\dots+dn)}{n}$$

Keterangan

d = diameter zona hambat

d1 = diameter zona hambat 1

d2 = diameter zona hambat 2

n = jumlah pengukuran

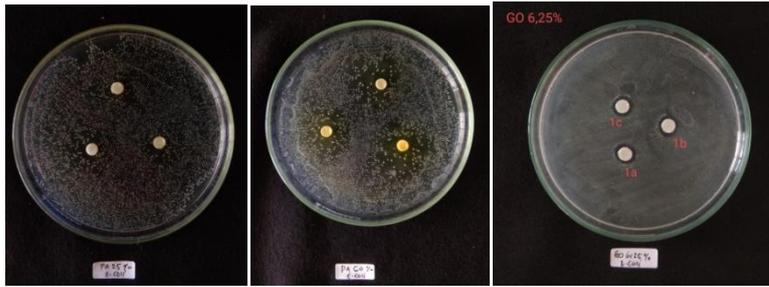
Analisis Data

Data zona hambat yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam *one way analysis of varian* (ANOVA). Jika terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's New Multiple Range Test*

Hasil dan Pembahasan

Hasil Pengamatan

Hasil penelitian yang telah dilakukantentang uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol kulit jeruk siam gunung omeh dan pasaman dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, didapatkan hasil seperti gambar dibawah ini:



Gambar 2. Hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak jeruk Gunung Omeh dan jeruk Pasaman terhadap pertumbuhan mikroba uji.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol varietas kulit jeruk siam terhadap *S.aureus*

Konsentrasi ekstrak	Varietas		Faktor konsentrasi
	Gunung Omeh	Pasaman	
6,25%	0	0	0 ^A
12,5%	0	0	0 ^A
25%	0	0	0 ^A
50%	0	0	0 ^A
Faktor varian	0 ^A	0 ^A	0

Tabel 2. Rata-rata zona hambat ekstrak etanol varietas kulit jeruk siam terhadap *E.coli*

Konsentrasi ekstrak	Varietas		Faktor konsentrasi
	Gunung Omeh	Pasaman	
6,25%	27,34	0	13,67 ^B
12,5%	0	0	0 ^A
25%	0	25,25	12,63 ^B
50%	0	27,66	13,83 ^B
Faktor varian	6,84 ^A	13,23 ^B	10,03

Pembahasan

Berdasarkan Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa ekstrak etanol varietas jeruk siam Gunung Omeh dan Pasaman terhadap *S.aureus* pada semua konsentrasi ekstrak tidak menghasilkan zona hambat. Pada tabel 2 dapat dilihat ekstrak etanol kulit jeruk siam Gunung Omeh dan Pasaman dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Pada tabel dapat dilihat bahwa ekstrak etanol kulit jeruk siam Gunung Omeh dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan zona hambatnya hanya terlihat pada konsentrasi 6,25%. Pengamatan zona hambat yang dilakukan pada ekstrak etanol kulit jeruk Pasaman didapatkan hasil bahwa zona hambat hanya ada pada perlakuan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan zona hambat terdapat pada konsentrasi 25% dan 50%.

Respon hambatan pertumbuhan bakteri digolongkan ke dalam beberapa kategori, yaitu lemah (≤ 5 mm), sedang

(6-10mm), kuat (11-20 mm) dan sangat kuat (>20mm) (Permadani, 2015). Berdasarkan hasil data rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol kulit jeruk Gunung Omeh bahwa respon hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* didapatkan zona hambat sebesar 27,34 mm dikategorikan sangat kuat. Sedangkan pada ekstrak etanol kulit jeruk Pasaman yang diperoleh menunjukkan bahwa respon hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 25% dan 50% dengan zona hambat 25,25 mm dan pada konsentrasi 50% dengan zona hambat 27,66 mm dikategorikan sangat kuat

Padadata yang diperoleh terlihat adanya peningkatan zona hambat pada setiap kenaikan konsentrasi ekstrak yang semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri. Hal tersebut disebabkan karena konsentrasi ekstrak mempengaruhi penyerapan senyawa antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diuji, maka semakin banyak zat aktif antibakteri yang terkandung didalamnya, sehingga efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri akan semakin baik dan diameter zona hambat yang dihasilkan akan semakin luas (Munfaati et al., 2015; Putri et al., 2019, 2020). Perbedaan yang dihasilkan daya hambat dapat dipengaruhi oleh perbedaan sensitivitas organisme, mekanisme dan kesinergisan kerja antara senyawa aktif di dalam ekstrak. Faktor lain yang menyebabkan perbedaan kualitas daya hambat yaitu kandungan metabolit di dalam ekstrak yang belum tercampur sepenuhnya dengan larutan sehingga kandungan ekstrak menjadi tidak maksimal (Haryati et al., 2015; Utami & Putri, 2020; Yahya et al., 2017).

Perbedaan zona hambat yang terbentuk pada mikroba uji juga disebabkan karena golongan mikroba uji berbeda, seperti *Staphylococcus aureus* (gram positif), *Escherichia coli* (gram negatif). Pada penelitian ini zona hambat ekstrak etanol kulit jeruk terhadap bakteri uji gram positif lebih kecil dibandingkan dengan bakteri gram positif. Secara keseluruhan zona hambat ekstrak etanol kulit jeruk terhadap bakteri gram negatif lebih besar dibandingkan dengan bakteri gram positif. Perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif diyakini sebagai penyebab terjadinya perbedaan respon terhadap berbagai perlakuan dan bahan (Pelczar dan Chan 1988). Penelitian lain yang juga menunjukkan bakteri gram negatif lebih sensitif dibandingkan gram positif diantaranya adalah penelitian (Ansari & Alexander, 2009).

Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan komposisi peptidoglikan, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki komposisi dinding sel berupa lipopolisakarida dan protein. Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Hal ini mengakibatkan bakteri Gram negatif lebih tahan terhadap senyawa antibakteri (Rosalina et al., 2018) Menurut Jawetz et al. (2017), *E. coli* adalah bakteri Gram negatif yang resisten terhadap beberapa antibakteri hal ini disebabkan karena tiga lapisan dinding sel pada bakteri ini, sehingga beberapa senyawa tidak mampu merusak jaringan dari dinding sel bakteri *E. coli*. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung tiga polimer yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan dan membran luar berupa bilayer (mempunyai ketahanan lebih baik terhadap senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik).

Aktivitas antibakteri pada kulit jeruk manis disebabkan karena adanya kandungan senyawa 1,8-cineole, d-limonene, 5-C-glycosyl flavones: lucenin-2, vicenin-2, stellarin-2, lucenin-2-41-methyl ether and scoparin; one 3-hydroxy-3-methylglutaryl glycosyl flavonol: 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl glycosyl quercetin yang mampu menghambat mikroorganisme (Dari et al., n.d.).

Daftar Pustaka

- Anagnostopoulou, M. A., Kefalas, P., Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. N., & Boskou, D. (2006). Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chemistry*, 94(1), 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.047>
- Ansari, A. A., & Alexander, C. (2009). *Effect of Natural Honey (Produced by African sculata in Guyana) Against Bacteria (Pseudomonas aeruginosa , Escherichia coli and Staphylococcus aureus) and Fungus (Candida albicans)*. 4(1), 73–77.
- Dari, A. W., Narsa, A. C., & Zamruddin, N. M. (n.d.). *Literature Review: Aktivitas Kulit Jeruk dalam Bidang Farmasi*. <https://doi.org/10.25026/mpc.v12i1.417>
- Haryati, N. A., C. Saleh, & Erwin. (2015). Uji Toksisitas dan Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucu Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1).
- Hester, L. L., Sarvary, M. A., & Ptak, C. J. (2014). Mutation and Selection : An Exploration of Antibiotic Resistance in *Serratia marcescens* Mutation and Selection : An Exploration of Antibiotic Resistance in *Serratia marcescens*. *Tested Studies for Laboratory Teaching Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education*, 35(January).
- Munfaati, P. N., Ratnasari, E., & Trimulyono, G. (2015). Aktivitas senyawa antibakteri ekstrak herba meniran

- (*Phyllanthus niruri*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara In Vitro. *Ejournal.Unesa.Ac.Id*, 4(3).
- Permadani, I. (2015). *Daya Hambat Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea indica L.) Menggunakan Pelarut Etanol Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah*. Universitas Brawijaya.
- Putri, D. H., Rahayu, R., Sahara, D., Nurhelmi, N., & Violita, V. (2019). Antimicrobial Activities of Extract of Andalas Endophytic Bacterial Fermentation Products in Overcoming Oral Cavity Infection. *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 20(2), 1–5. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol20-iss2/181>
- Putri, D. H., Violita, Hafids, A., Sofani, A., & Susanti, T. (2020). Potential of Andalas (*Morus macroura* Miq.) Ethanol Extract in Inhibiting the Microbial Growth. *Proceedings of the International Conference on Biology, Sciences and Education*. <https://doi.org/10.2991/absr.k.200807.001>
- Rachmatiah, T., Syafriana, V., & Helma, F. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 19(03), 107–114. <https://doi.org/10.33221/jikes.v19i03.598>
- Rosalina, R., Ningrum, R. S., Lukis, P. A., Sains, F., Farmasi, F., & Gigi, F. K. (2018). *Aktifitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit Mangga Podang (Mangifera indica L.) Asal Kabupaten Kediri Jawa Timur*. 35(3), 139–144. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2018.35.3.757>
- Saramanda, G., & Kaparapu, J. (2017). Antimicrobial Activity of Fermented Citrus Fruit Peel Extract. *Journal of Engineering Research and Application Wwww.Ijera.Com*, 7(11), 25–28. <https://doi.org/10.9790/9622-0711072528>
- Sasidharan, S. (n.d.). *1286-1289.pdf*.
- Shinta, G. D. (2021). *Uji daya hambat ekstrak biji buah durian (Durio zibethinus Murray) terhadap pertumbuhan jamur Candida albicans*.
- Utami, L. A., & Putri, D. H. (2020). The Effect of Ethanol Solvent Concentration on Antimicrobial Activities The Extract of Andalas Endophytic Bacteria (*Morus Macroura* Miq.) Fermentation Product. *Eksakta : Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 21(1), 1–6. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol21-iss1/210>
- Yahya, I., Advinda, L., & Angraini, F. (2017). Isolation and Activity Test of Antimicrobial Endophytic Bacteria from Leaf Salam (*Syzygium polyanthum* Wight). *Bioscience*, 1(2), 62–69.