

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*

Antibacterial Activity of Kawista Rind Methanol Extract (*Limonia acidissima* L.) Against *Propionibacterium acnes*

Ika Maruya Kusuma^{1*}, Silfia Yohana Jastian¹

¹Fakultas Farmasi/Prodi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II Srengseng Sawah Jagakarsa, DKI Jakarta, Jaksel, 12640, Indonesia.

*Korespondensi: imaruya@istn.ac.id

Submit Februari 2021 Revisi Maret 2021 Diterima April 2021 Terbit Juni 2021

ABSTRAK

Kawista (*Limonia acidissima* L) merupakan tanaman buah famili Rutaceae yang ada di Indonesia. Kawista banyak mengandung flavonoid dan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. Pemanfaatan kulit buah kawista sebagai bahan obat belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit buah kawista terhadap *P. acnes*, melalui nilai diameter daya hambat. Metode penelitian meliputi pembuatan ekstrak secara maserasi dengan pelarut metanol, penapisan fitokimia, uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram pada ekstrak dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kawista pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% memiliki aktivitas anti bakteri pada *P.acnes* dengan nilai diameter daya hambat secara berurut yaitu 10,80 mm, 12,40 mm dan 13,31 mm, masuk kategori kuat.

Kata kunci: Antibakteri; Ekstrak metanol; Kulit Buah Kawista; *Propionibacterium acnes*

ABSTRACT

Kawista (*Limonia acidissima* L.) is a fruit from the Rutaceae in Indonesia and is known to contain flavonoids and alkaloids, that have the potential to be antibacterial to *Propionibacterium acnes*. The use of kawista rind as a medicinal have not been used. This study aims to determine the activity of methanol extract of kawista rind through the value of Inhibition Zone Diameter against *Propionibacterium acnes*. Research methods include *Limonia acidissima* rind was macerated by methanol, phytochemical, antibacterial activity test on extracts, with concentrations of 25%, 50% and 75%. The results showed extracts with concentrations of 25%, 50% and 75% had antibacterial activity against *Propionibacterium acnes* with Inhibition Zone Diameter of 10,80 mm; 12,40 mm and 13,31 mm, strong category.

Keywords: Antibacterial; Methanol Extract; Kawista Rind; *Propionibacterium acnes*

PENDAHULUAN

Kawista (*Limonia acidissima* L) merupakan tanaman buah famili Rutaceae yang ada di Indonesia. Tanaman dari famili Rutaceae diketahui banyak mengandung flavonoid yang berkhasiat sebagai bahan obat. Tanaman dari famili ini yang banyak dikenal yaitu jeruk (Rini, Supriatno & Hafnati, 2017). Banyak masyarakat Indonesia belum mengenal manfaat kawista. Olahan kawista di Indonesia hanya sebatas daging buah yang dijadikan sirup, sementara kulit buahnya hanya sebagai limbah (Pandey, Satpathy & Gupta, 2014).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kawista yang ada di India telah diketahui mengandung alkaloid, saponin, polifenol dan flavonoid (Pandey, Satpathy & Gupta, 2014). Senyawa flavonoid dan alkaloid telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif yang menjadi salah satu penyebab jerawat (Singh, Haptar & Nayak, 2011). Selanjutnya ekstrak metanol kulit buah kawista pada konsentrasi 50% diketahui memiliki daya hambat kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* (Pandey, Satpathy & Gupta, 2014).

Jerawat (*Acne vulgaris*) merupakan penyakit multifaktorial karena banyak faktor yang menjadi penyebab dan mempengaruhi timbulnya jerawat. Patogenesis jerawat meliputi peningkatan produksi sebum, keratinisasi folikel abnormal, proliferasi *P.acnes*, serta reaksi bakteri lain dan inflamasi. Tatalaksana acne sangat bervariasi diantaranya terapi hormon, terapi pemeliharaan hingga penggunaan antibiotik oral maupun topikal (Resti & Hendra, 2015).

Antibiotik memegang peranan penting dalam pengobatan jerawat (Wiona & Sulistiyansih, 2018). Klindamisin merupakan antibiotik topikal yang biasanya digunakan dalam pengobatan jerawat yang bekerja dengan cara berikatan pada subunit 50 S ribosom bakteri dan menekan sintesis protein (Laurence, *et al.*, 2008). Klindamisin adalah antibiotik paling efektif dalam pengobatan jerawat, jika dibandingkan dengan eritromisin dan tetrasiklin, tetapi penggunaan obat ini secara luas memunculkan strain *P. acnes* yang resisten terhadap klindamisin (Nugroho & Rima, 2013). Sehingga diperlukan obat yang memiliki daya kerja optimal dengan efek samping minimal untuk mengurangi jerawat. Untuk itu perlu dilakukan pengembangan obat dan pencarian sumber antibakteri dari bahan alam untuk menunjang taraf kesehatan masyarakat. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat adalah tanaman kawista (laurence, *et al*, 2008). Berdasarkan uraian diatas, maka pada penelitian ini perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol kulit buah kawista terhadap *P. acnes*, yang merupakan salah satu bakteri penyebab jerawat dengan metode difusi cakram melalui nilai diameter daya hambat (DDH).

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *vacuum rotary evaporator* (Eye La), *Erlenmeyer (pyrex)*, timbangan digital (*RadWag*), blender (*Philips*), *hot plate stirrer*, *spatula*, batang pengaduk, pinset, aluminium foil, kertas saring, pipet tetes, toples kaca, cawan petri (*pyrex*), inkubator (*Memmert*), lemari pendingin (*Haier*), *laminar air flow (N-Bioteck)*, autoklaf (ALP), jarum ose, bunsen, mikropipet (*Dragon Med*), tabung reaksi (*pyrex*), rak tabung reaksi, corong pemisah, *vortex*, waterbath (*Memmert*), gunting, jangka sorong (*Combo®*), beacker glass (*pyrex*), gelas ukur (*pyrex*), batang L, lumpang

dan alu, cawan penguap, kertas perkamen, objek glass dan cover glass, oven (*Memmert*), botol vial 10 mL. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kawista (*Limonia asidissima* L.) matang segar berwarna coklat yang diperoleh dari Bogor, Jawa Barat. Bakteri yang digunakan adalah *Propionibacterium acnes* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional Jakarta. Bahan – bahan kimia yang digunakan diantaranya media *Nutrient agar* (*Merck*), *Muller Hilton Agar* (*Planet kimia*), natrium klorida 0,9% (*Otsu - NS*), Metanol (*Merck*), amoniak (NH_3) 25% (*Merck*), asam sulfat (H_2SO_4) (*Merck*), natrium nitrit (NaNO_2) 5% (*Merck*), aluminium klorida (AlCl_3) 10% (*Merck*), natrium hidroksida (NaOH) (*Merck*), asam klorida (HCl) 2N (*Merck*), ferri (III) klorida (FeCl_3) 1% (*Merck*), eter (*Merck*), asetat anhidrat (*Merck*), H_2SO_4 pekat (*Merck*), kloroform (*Merck*), *Mc Farland 3* (*Remel*), *lugol's iodine* (larutan I_2 dan KI) (*Merck*), safranin (*Merck*), etanol 70% (*Brataco*), etanol 96% (*Brataco*), pereaksi Mayer (*Merck*), pereaksi Dragendorff (*Merck*), pereaksi Bouchardat (*Merck*), cakram klindamisin (*Oxoid*), cakram kosong (*Oxoid*), aquadest (*Brataco*).

Metode Penelitian

Sampel tanaman kulit kawista dideterminasi di Herbarium Bogorinese Bidang Botani, Puslit, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong. Kulit buah kawista segar ditimbang sebanyak 2 kg, dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan terhindar dari udara lembab dan sinar matahari langsung selama 7 hari hingga diperoleh simplisia kering, kemudian simplisia kering tersebut digiling dan diayak sehingga diperoleh serbuk simplisia kulit buah kawista yang setara dengan ukuran mesh 60. Selanjutnya serbuk kulit buah kawista dimaserasi menggunakan metanol, dengan perbandingan 1:10 b/v selama 1x24 jam dengan sesekali diaduk, kemudian sampel disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya. Filtrat yang telah diperoleh, dikumpulkan, dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50-58°C dan diuapkan dengan *waterbath*, sampai diperoleh ekstrak kental. Pemeriksaan kandungan kimia dilakukan pada serbuk dan ekstrak kulit buah kawista (*Limonia acidissima*) meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/terpenoid.

Pembuatan larutan uji dengan melarutkan ekstrak kulit buah kawista dengan aquadest. Konsentrasi ekstrak kulit buah kawista yang digunakan adalah 25%, 50% dan 75%. Larutan kontrol yang digunakan yaitu positif klindamisin dan kontrol negatif aquadest.

Pembuatan media dilakukan dengan sebanyak 2,8 gram Nutrient Agar (NA) dilarutkan ke dalam 100 mL aquadest, kemudian dipanaskan hingga larut. Kemudian dibagi ke dalam tabung reaksi sebanyak 5-10 mL untuk peremajaan bakteri (Juariyah & Sari, 2018). Peremajaan bakteri uji menggunakan medium Nutrient Agar (NA) *Propionibacterium acnes* dengan cara menginokulasi 1 ose biakan murni masing- masing bakteri pada permukaan agar miring, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator (Yanti & Mitika, 2017). Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara bakteri uji difiksasi dan diwarnai dengan kristal violet dan didiamkan selama 5 menit. Zat warna dibuang dan diganti dengan larutan lugol's iodine (larutan I_2 dan KI) dibiarkan selama 45-60 detik. Larutan lugol's iodine dibuang dan sediaan dicuci dengan etanol 96% selama 30 detik atau digoyang-goyangkan sampai tidak ada zat warna yang mengalir lagi. Sediaan dicuci dengan air dan diwarnai dengan safranin selama 1-2 menit. Sediaan dicuci, dikeringkan dan diperiksa di bawah mikroskop. Bakteri Gram positif akan tampak

berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah (Pandey, Satpathy & Gupta., 2014).

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil bakteri hasil peremajaan yang tidak terkontaminasi kemudian dibuat suspensi bakteri. Bakteri uji sebanyak 1-2 ose diencerkan ke dalam larutan 5 mL NaCl 0,9 %. Kekeruhan dari suspensi bakteri disamakan dengan larutan standar Mc Farland 3 sehingga hasil bakteri dengan jumlah 10^9 CFU/mL. Suspensi bakteri kemudian diencerkan hingga konsentrasinya menjadi 10^6 CFU/mL dengan cara sebanyak 1 mL bakteri 10^9 dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml NaCl 0,9 %, suspensi tersebut kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex, sehingga dihasilkan bakteri 10^8 CFU/mL, selanjutnya dilakukan proses yang sama hingga diperoleh bakteri sejumlah 10^6 CFU/mL. suspensi yang telah disesuaikan digunakan sebagai inokulum.

Pengujian aktivitas dari ekstrak kulit buah kawista (*Limonia acidissima* L.) dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% dilakukan dengan metode difusi cakram melalui nilai diameter daya hambat (DDH). Kertas cakram yang digunakan memiliki diameter lingkaran 6 mm. Sebanyak 1 mL suspensi bakteri uji dicampur dengan 10 mL media agar MHA yang masih cair dengan suhu $\pm 50^\circ\text{C}$, kemudian dituang ke dalam cawan petri. Setelah campuran berisi inokulum bakteri tersebut memadat, beberapa cakram yang masing-masing berisi kontrol positif (klindamisin), aquadest sebagai kontrol negatif dan cakram yang berisi larutan uji masing-masing 20 μl diletakkan pada permukaan media di laminar *air flow* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu diukur diameter zona bening (*clear zone*) atau diameter daya hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Data yang diperoleh dianalisis secara diskripsi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan dapat diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar spesies *Limonia acidissima* L. Buah kawista (*Limonia acidissima* L.) 2 kg menghasilkan kulit buah sebanyak 752 kg. Pengeringan kulit buah kawista segar menghasilkan 475 g simplisia kulit buah kawista kering. Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak serta tidak ditumbuhi jamur saat penyimpanan. Pada penelitian ini ekstrak kulit buah kawista menggunakan pelarut metanol didapatkan nilai rendemen sebesar 4,82%. Penelitian sebelumnya yang dilakukan Saraswathy et al (2014) nilai rendemen ekstrak kloroform 2,2 %, ekstrak petroleum eter 2,25% dan ekstrak air sebesar 8,42%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol menghasilkan rendeme lebih banyak jika dibandingkan dengan kloroform dan petroleum eter, sementara nilai yang didapat lebih sedikit dari pada rendemen dari pelarut air. Hasil penapisan fitokimia pada serbuk diketahui mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan terpenoid. Sedangkan pada ekstrak metanol mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid dan terpenoid.

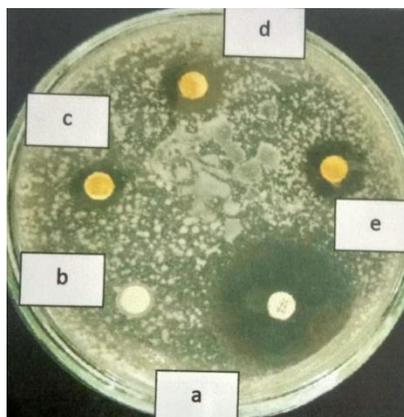
Hasil pewarnaan Gram terhadap bakteri uji bertujuan untuk mengetahui bentuk bakteri dan kelompok bakteri uji yang digunakan. Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan kelompok bakteri Gram positif, dengan terlihat warna ungu, berbentuk basil pendek. Warna ungu yang terbentuk pada proses identifikasi disebabkan oleh dinding sel yang dimiliki oleh bakteri uji.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri melalui nilai diameter daya hambat dari masing-masing konsentrasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista terhadap *P.acnes*

Bakteri Uji	Konsentrasi (%)	Diameter Daya Hambat			Rata-rata	Keterangan
		Ulangan				
		1	2	3		
<i>P.acnes</i>	25	11,60	10,30	10,50	10,80	Kuat
	50	13,00	11,40	12,80	12,40	Kuat
	75	13,40	12,84	13,70	13,31	Kuat
	+	27,32	28,84	27,84	28,00	Sangat Kuat
	-	-	-	-	-	-

Keterangan :
Kontrol + : klindamisin
Kontrol - : aquadest



Gambar 2. Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista terhadap *Propionibacterium acnes* (a) : Kontrol (+); (b) : Kontrol (-); (c) : 25%; (d) : 50%; (e) : 75%

Pada *P. acnes* dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% diperoleh diameter daya hambat sebesar 10,80 mm; 12,40 mm dan 13,31 mm. Hal ini menunjukkan semakin besar konsentrasi yang diuji maka daya antibakteri dari konsentrasi ekstrak akan semakin meningkat. Konsentrasi ekstrak metanol kulit buah kawista yang diuji pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% masuk kedalam kategori kuat. Kategori konsentrasi kuat didapat jika diameter daya hambat antara 10-20 mm dan kategori sangat kuat jika diameter daya hambat > 20 mm (Rahmah et al, 2017). Kontrol positif klindamisin pada pengujian menunjukkan kategori sangat kuat karena daerah daya hambat yang terbentuk rata-rata 28,00 mm (> 20 mm). Pada kontrol negatif aquadest tidak terbentuk diameter daya hambat atau tidak terdapat aktifitas antibakteri.

Ekstrak kulit buah kawista pada penelitian Pandey, Satpathy & Gupta (2014) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dengan metode difusi cakram, konsentrasi ekstrak 50% pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 12,00 mm. Hal ini ternyata tidak jauh berbeda dengan pengujian pada bakteri *P.acnes* yang juga Gram positif, konsentrasi 50% sebesar 12,40 mm. Namun pada *P.acnes*, ternyata dengan konsentrasi yang lebih kecil yaitu 25% sudah terbentuk diameter daya hambat sebesar 10,80 mm yang juga masuk kedalam kategori kuat.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol kulit buah kawista mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% diperoleh diameter

daya hambat (DDH) sebesar 10,80 mm; 12,40 mm dan 13,31 mm yang masuk kedalam kategori kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Rini A, Supriyatno, Rahmatan, H. Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) dari Daerah Kabupaten Aceh Besar Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*. 2017; 2 : 1-12.
- Pandey S, Satpathy G, Gupta R. K. Evaluation of Nutritional, Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial Activity of Exotic Fruit " *Limonia acidissima* ". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*. 2014; 3 : 81–88.
- Singh D, Hatwar B, Nayak S. Herbal Plant and *Propionibacterium acnes*: An Overview. *International Journal of Biomedical Research*. 2011; 2 : 486-498.
- Resti R, Hendra T S. Treatment for Acne Vulgaris. *J Majority*. 2015; 2: 87-95.
- Wiona M, Sulistyaningsih. Reviwe: Resistensi Antibiotik pada Terapi Pengobatan Jerawat. *Farmaka*. 2018; 16: 105-117.
- Laurence L B, Keith L P, Donald K B. Goodman & Gilman: Manual Farmakologi dan Terapi, Edisi Terjemahan. Jakarta: penerbit Buku Kedokteran EGC. 2008. 1031-1032.
- Nugroho, Rima A. Terapi Topokal Clindamysin Dibandingkan dengan Niacinamide + Zinc pada Akne Vulgaris. *Jurnal Media Media Muda*. 2013; 2: 1-15.
- Juariyah S, Sari W P. Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus sp*. *Jurnal Analisis Kesehatan Klinikal Sains*. 2018; 6: 24-29.
- Yanti Y N, Mitika, S. Uji Efektivitas Antibakteri ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Sina*. 2017; 2: 158–168.
- Saraswathy N, Varuna K, Sahara S, Nithiya S, Muthukumaran P, Ramalingam P. Phytochemical Screening and Evaluation of Antioxidant Potential of *Feronia limonia* Leaves and Fruit Extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 2014; 97: 36-40.
- Rahmah R., Bahar M, Harjono, Y. Uji Daya Hambat Filtrat Zat Metabolit *Lactobacillus plantarum* terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*. 2017; 5 : 34–41.