

UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT LIMAU KUIT (*Cytrus hystrix* DC) TERHADAP BEBERAPA BAKTERI

(The effectiveness of antibacterial the citrus lime peel extract (*Citrus hystrix* DC) of some bacteria)

(Submitted : 28 September 2018, Accepted : 30 September 2018)

Herda Ariyani, Muhammad Nazemi, Hamidah, Mita Kurniati
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Banjarmasin
Email: herdaariyani29@gmail.com

ABSTRAK

Kulit limau kuit di Kalimantan Selatan Indonesia umumnya hanya dibuang begitu saja sebagai limbah, padahal dalam kulitnya memiliki kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai agen antibakteri. Komponen utama beta pinennya merupakan senyawa yang telah terbukti mempunyai efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA, serta juga memiliki kandungan flavonoida, fenolik dan terpenoida tertinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar ekstrak kulit limau kuit (*Citrus hystrix* DC) yang optimal dalam menghambat beberapa bakteri. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri sediaan pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak kulit limau kuit pada konsentrasi 100%, 75%, dan 50% dapat menghambat bakteri, namun yang paling optimum adalah pada konsentrasi 100% untuk bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat sebesar 10,67 mm dan 14 mm pada *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Antibakteri, *Citrus hystrix* DC, Kulit Limau Kuit

ABSTRACT

Citrus lime peel in South Kalimantan Indonesia is only used as liquid waste, in fact in the citrus limes peel containing a chemical compound which has the potential of as an antibacterial agent. It contains the main components that have been shown to have antibacterial effects by inhibiting DNA synthesis, and also it has the highest content of flavonoids, phenolics and terpenoids. This study aims to determine the extract level of citrus lime peel (*Citrus hystrix* DC) that is optimal in triggering several bacteria. Antibacterial tests were then carried out on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Antibacterial activity test was carried out by disc paper diffusion method. The results showed that extracts of citrus lime peel at concentrations of 100%, 75%, and 50% could inhibit bacteria, but the most optimal for bacteria was at a concentration of 100% for *Escherichia coli* inhibitory zone of 10.67 mm and 14 mm for *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Antibacterial, *Citrus hystrix* DC, Citrus Lime Peel

PENDAHULUAN

Kesehatan menjadi bagian yang benar-benar berharga bagi kehidupan, salah satu caranya adalah menjaga kebersihan tangan untuk mencegah timbulnya penyakit. Akan tetapi, kesadaran masyarakat tentang pentingnya menjaga kebersihan tangan masih rendah akibatnya akan timbul penyakit seperti diare. Dengan mencuci tangan dapat menurunkan angka kejadian diare sebesar 47% (Kemenkes, 2011).

Salah satu upaya pencegahannya dengan menjaga kebersihan tangan menggunakan antibakteri berbasis herbal. Kulit limau kuit mengandung komponen utama beta pinen, sitronelal, limonen dan terpinen-4-ol (Warsito, 2017). Senyawa beta pinen telah terbukti mempunyai efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA (Chanthaphonl., dkk, 2006). Menurut Orhan, dkk, (2012) sitronellol, stronella, isopulegol dan linolol memiliki aktivitas antibakteri melawan *E.coli*, *P. Aeruginosa*, *P. Mirrabilis*, *K. Pneumoniae*, *A. Baumanni*, *S. Aureus*, *E.Faecalis*, *B. Subtilis*, *C. Albicans*, dan *C. Parapsilosis*. Berdasarkan penelitian Yuliani, dkk (2011) minyak atsiri daun limau kuit mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Flavonoid kandungan utamanya yaitu naringin yang terdapat pada bagian kulit dan buah serta mempunyai fungsi salah satu antioksidan kuat (Devy, dkk, 2010).

Dewasa ini jarang dikembangkan sediaan-sediaan berbasis natural baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri sampai membasmi bakteri. Kebutuhan masyarakat yang semakin meningkat menyebabkan sangat urgent berbagai riset terkait agen herbal yang bertindak sebagai antibakteri. Oleh karena itu, penting dilakukan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas ekstrak kulit limau kuit dengan menggunakan metode cakram terhadap beberapa bakteri.

METODE PENELITIAN

Alat

Neraca analitik, kertas perkamen, sendok tanduk, batang pengaduk, alat gelas

laboratorium, blender, oven, cawan petri, jarum ose, water bath, cawan penguap, bunsen, autoklaf, spatel, kertas cakram, pinset, gelas beker, erlenmeyer bulat, cling wrap, dan aluminium foil.

Bahan

Kulit limau kuit, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Nutrien Agar (NA) aquadest, Ciprofloxacin, etanol 96%, gliserin.

Cara Kerja

1. Pembuatan Simplisia

Kulit Limau Kuit dicuci bersih dan tiriskan lalu. Kemudian keringkan dengan cara diangin-anginkan di udara dan tidak terkena sinar matahari langsung, pengeringan dilanjutkan dengan oven selama 12 jam pada suhu 50°C. Setelah kering, kemudian dihaluskan.

2. Pembuatan ekstrak

Sebanyak 1000 gram serbuk limau kuit di ekstrak dalam 250 ml etanol teknis 96% digojok dan ditutup rapat. Setelah dimaserasi selama 24 jam, filtrat disaring dan residunya diremaserasi kembali dengan pelarut yang sama. sebanyak tiga kali. Kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat. Ekstrak dikentalkan menggunakan water bath sampai didapatkan ekstrak kental dan timbangan analitik dan disimpan di freezer hingga digunakan (Setyawati, 2013).

3. Pembuatan media

Menimbang serbuk nutrient agar 10 gram, masukkan erlrmeyer 1L kemudian ditambahkan aquadest sebanyak 500 ml, aduk dan dipanaskan di atas hotplate, kemudian disterilisasi lalu tuang ke dalam tabung miring.

4. Uji aktivitas anti bakteri Metode Cakram Kertas

Pada Cakram kertas digunakan suatu kertas cakram saring (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring yang mengandung zat antimikroba tersebut diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji yaitu pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Ada 2 macam

zona hambat yang terbentuk dari cara kirby bauer. Radical zone yaitu suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal. Irradical zone yaitu suatu daerah sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ekstrak etanol kulit limau kuit (*Citrus hystrix* DC) diujikan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kulit limau kuit mengandung senyawa kimia utama beta pinen, sitronelal, limonen dan terpinen-4-ol (Warsito, 2017). Senyawa beta pinen telah terbukti mempunyai efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA (Chanthaphonl., dkk, 2006).

Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis bahan yang diekstrak. Kelarutan suatu senyawa dalam pelarut tergantung dari gugus-gugus yang terikat pada pelarut tersebut. Pelarut yang mempunyai gugus hidroksil (alkohol) dan karbonil (keton) termasuk pelarut polar, sedangkan hidrokarbon termasuk ke dalam non polar. Pemilihan pelarut harus didasarkan pada sifat polaritas dan stabilitas (Nurmillah, 2009).

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah sebuah proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Senyawa metabolit yang terdapat pada kulit jeruk purut dapat diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% (Putri, 2013). Rahmi et al (2013) mengemukakan bahwa kulit jeruk purut memiliki kandungan metabolit tertinggi pada ekstrak etanolik, oleh karena itu etanol digunakan dalam penelitian ini.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi pada kulit (Jawetz dkk., 2005). Infeksi *Staphylococcus aureus* akan menyebabkan beberapa penyakit seperti jerawat, diare, toxic shock syndrome (Mahon and Manuselies, 2000) hingga penyakit

yang menyebabkan kematian seperti endocarditis, pneumonia dan osteomyelitis (Murray dkk, 2002).

Efektifitas ekstrak etanol kulit limau kuit sebagai antibakteri dapat dilihat dengan melakukan pengujian daya hambat menggunakan metode difusi agar dengan melihat zona bening yang terbentuk disekitar paper disc yang telah ditetesi ekstrak etanol kulit limau kuit pada beberapa variasi konsentrasi (100%, 75%, 50%, 25%). Paper disc yang telah ditetesi ekstrak etanol kulit limau kuit diletakkan diatas permukaan media NA yang dihomogenkan dengan suspensi bakteri *S.aureus* dan *E.coli* yang telah memadat. Menurut Pratama (2005), zona bening di sekitar paper disc menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

Hasil uji efektivitas ekstrak menunjukkan bahwa dapat menurunkan jumlah flora normal kulit. Dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak kulit limau kuit, maka jumlah mikroorganisme yang ada pada tangan semakin menurun. Semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula zat aktif yang terdapat di dalamnya, sehingga menyebabkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri juga semakin besar (Poeloengan dkk, 2006).

Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri yang bisa mengkontaminasi bahan pangan dan biasa ada ditangan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan adalah metode kertas cakram dan uji replika. Metode kertas cakram merupakan metode yang biasa digunakan untuk menguji aktivitas antimikroba suatu antibiotik terhadap mikroorganisme patogen penyebab penyakit. Kepekaan mikroorganisme patogen terhadap antibiotik terlihat dari ukuran zona bening yang terbentuk (Cappucino & Sherman, 2001). Parameter yang digunakan adalah zona bening, yaitu area bening di sekeliling cakram kertas sebagai indikasi tidak adanya atau terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme akibat ekskresi zat antimikroba oleh kompetitornya (Byod, 1995; Atlas and Bartha, 1998).

Menurut Lewis (2005), yang menyebabkan terjadinya penghambatan karena adanya senyawa yang mengganggu keutuhan membran sel, menghambat kerja enzim, mengganggu sintesis protein dan asam nukleat, serta menghambat sintesa dinding sel.

Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, denaturasi protein sel dan perusakan sistem metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler (Pelczar dan Reid, 1972).

Menurut Davis dan Stout (1971), kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikatakan sangat kuat. Berdasarkan kategori tersebut, maka daya hambat yang dihasilkan ekstrak daun jambu biji dalam sediaan gel handsanitizer dikategorikan kuat karena menghasilkan zona hambat diatas 10 mm.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* dengan adanya diameter zona hambat di sekeliling kertas cakram dapat di lihat pada gambar di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit limau kuit (*Citrus hystrix DC*) Pada Bakteri *Escherichia coli*

No	Konsentrasi	Diameter			Rata-rat (mm)	Kategori
		P1 (mm)	P2 (mm)	P3 (mm)		
1	Kontrol positif (Ciprofloxacin)	45	45	45	45	Sangat Kuat
2	Konsentrasi 100%	11	11	10	10,67	Kuat
3	Konsentrasi 75%	10	10	7	9	Sedang
4	Konsentrasi 50%	7	7	7	7	Sedang
5	Konsentrasi 25%	-	-	-	-	Tidak ada
6	Kontrol negatif (Aquadest)	-	-	-	-	Tidak ada

*Keterangan
Kontrol Positif : Ciprofloxacin
Kontrol Negatif : Aquadest

Ekstrak 25%-100% : Ekstrak Kulit limau kuit

Tidak Ada Efek Hambatan :

- Zona Hambat Lemah : < 5 mm
- Zona Hambat Sedang : 5-10 mm
- Zona Hambat Kuat : 10-20 mm
- Zona Hambat Sangat Kuat : > 20 mm

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit limau kuit (*Citrus hystrix DC*) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi	Diameter			Rata-rata (mm)	Kategori
		P1 (mm)	P2 (mm)	P3 (mm)		
1	Kontrol positif (Ciprofloxacin)	30	27	28	28,3	Sangat Kuat
2	Konsentrasi 100%	12	15	15	14	Kuat
3	Konsentrasi 75%	11	12	10	10,7	Sedang
4	Konsentrasi 50%	9	10	10	9,6	Sedang
5	Konsentrasi 25%	-	-	-	-	Tidak ada
6	Kontrol negatif (Aquadest)	-	-	-	-	Tidak ada

*Keterangan

Kontrol Positif : Ciprofloxacin

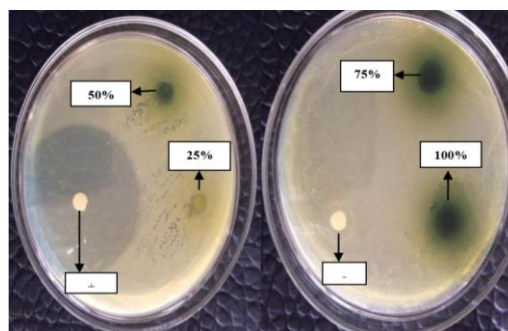
Kontrol Negatif : Aquadest

Ekstrak 25%-100% : Ekstrak Kulit limau kuit

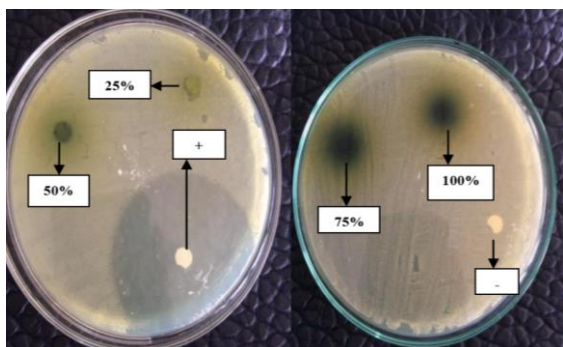
Tidak Ada Efek Hambatan :

- Zona Hambat Lemah : < 5 mm
- Zona Hambat Sedang : 5-10 mm
- Zona Hambat Kuat : 10-20 mm
- Zona Hambat Sangat Kuat : > 20 mm

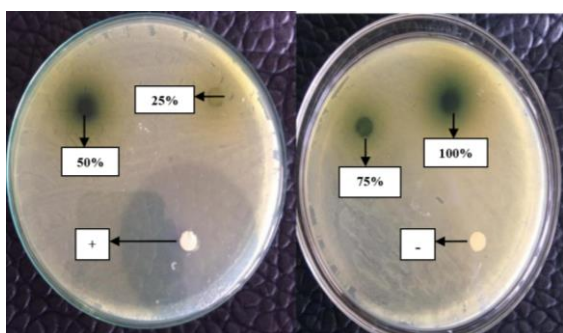
Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* dengan adanya diameter zona hambat di sekeliling kertas cakram dapat di lihat pada gambar di bawah ini. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit pada bakteri *Escherichia coli*.



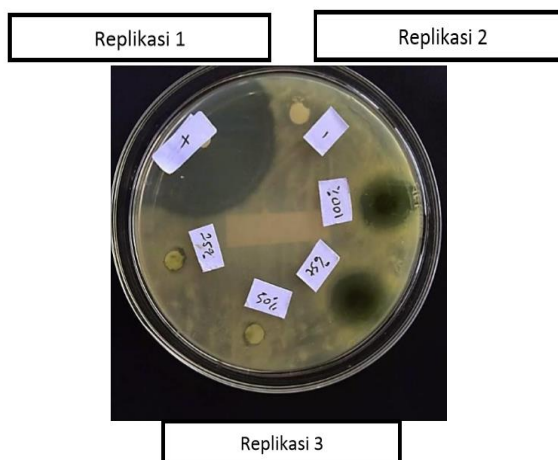
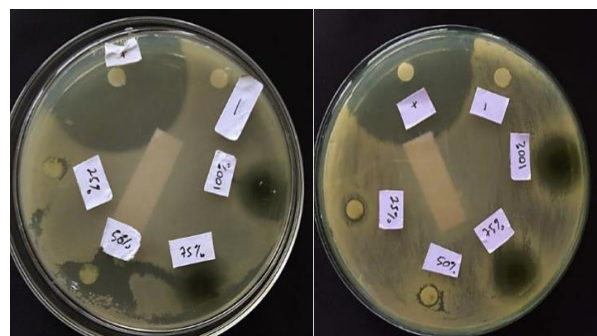
Gambar 1. Hasil aktivitas ekstrak kulit limau kuit pada bakteri *E.coli* Replikasi 1



Gambar 2. Hasil aktivitas ekstrak kulit limau kuit pada bakteri E.coli Replikasi 2



Gambar 3. Hasil aktivitas ekstrak kulit limau kuit pada bakteri E.coli Replikasi 3



Gambar 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri (Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Citrus hystrix* DC) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Beberapa Replikasi

SKESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit limau kuit (*Citrus hystrix* DC) pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, yaitu ekstrak kulit limau kuit dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula zona hambat yang diperoleh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia (Kemristekdikti RI) yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M. and R. Bartha. (1998). *Microbial Ecology Fundamentals and Applications*. Benjamin Cummings Publishing Company Inc : California
- Byod, R.F. (1995). *Basic Medical Microbiology Five edition*. Little Brown Company Inc: Boston
- Cappucino, J.G. and Sherman, N. (2001). *Microbiology: A Laboratory Manual*. 2nd Edition. The Benjamin Cummings Publishing Company. Rockland Community College. State University of New York
- Davis, W.W. and T.R. Stout. (1971). Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology* 22: 659-665.
- Fah Chueahongthong. (2011). *Cytotoxic effects of crude kaffir lime (Citrus hystrix DC.) leaf fractional extracts on leukemic cell line*.

- Jawetz, E., Melnick, J. L. & Adelberg, E. A. (2005). Mikrobiologi Kedokteran, Edisi XXII, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., 82, 277-278, 279, 317-318, Jakarta, Penerbitan Salemba Medika.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). Situasi Diare di Indonesia, Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan, ISSN 2088-270X.
- Lewis, E. R. (2005). Antifungal Pharmacology. <http://www.doctorfungus.org/thedrugs.html>. Diakses pada 3 April 2016, pukul 19.40 WITA.
- Mahon, C.R., and G. Manuselies. (2000). Diagnostic Microbiology 2nd ed., W.B. Saunders Company, United State of America. Mahon, C.R., and G. Manuselies, 2000, Diagnostic Microbiology 2nd ed., W.B. Saunders Company, United State of America.
- Poeloengan, M., Chairul, Iyep K, Siti S. dan Susan M.N. (2006). *Aktivitas Antimikroba Dan Fitokimia Dari Beberapa Tanaman Obat*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner
- Pramita, F. Y. (2013). *Formulasi Sediaan Gel Antiseptik Ekstrak Metanol Daun Kesum (Polygonum minus Huds)*. Naskah Publikasi Skripsi. Pontianak : Universitas Tanjungpura.
- Pratama, M.R. (2005). Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Agar. Laporan Hasil Penelitian Program Studi Biologi. Fakultas MIPA Teknologi Sepuluh Nopember.
- Pelczar, M.J and R.D. Reid. (1972). Microbiology. New York: Mc Graw Hill Book Company
- Rahmi U, Yunazar M., dan Adlis S. (2013). Profil Fitokimia Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC*) dan Jeruk Bali (*Citrus maxima (Burm.f.) Merr*). Jurnal Kimia Unand (ISSN No. 2303-3401), hal : 109-114
- Retnosari, Dewi Isadiartuti. (2006). *Studi efektivitas sediaan gel antiseptik tangan ekstrak daun sirih (Piper betle Linn.)*. Majalah Farmasi Indonesia.
- Yuliani R, P. (2011). *Aktivitas Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherchiacoli*. Jurnal Farmasi Indonesia. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.