

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DENGAN MASERASI EKSTRAK
DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantiifolia* S.) MENGGUNAKAN
METODE BIOAUTOGRAFI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
aureus***

Reni Nur Hidayati, Akademi Farmasi Surabaya

Tri Puji Lestari Sudarwati, Akademi Farmasi Surabaya

Anisa Rizki Amalia, Akademi Farmasi Surabaya

ABSTRAK

Jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia* S.) merupakan salah satu tanaman toga yang digunakan pada masyarakat baik untuk bumbu masakan maupun untuk obat-obatan karena mempunyai banyak manfaat terhadap kesehatan dan mempunyai efek antibakteri. Daun jeruk nipis mengandung senyawa flavonoid dan dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terutama pada bakteri *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif berbentuk bulat yang merupakan bakteri patogen bagi manusia. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia* S.) menggunakan pelarut etanol dengan metode bioautografi terhadap bakteri. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) kering. Preparasi sampel menggunakan metode maserasi, kemudian di evaporator untuk mendapatkan ekstrak masing-masing diencerkan dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%.

Hasil penelitian dari 5 konsentrasi menunjukkan bahwa 2%, 4%, 6%, 8%, 10% memiliki rata-rata zona hambat sebesar 5,6 mm, 6,4 mm, 7,2 mm, 7,9 mm, dan 9,1 mm. Analisis data didukung dengan menggunakan uji Anova one way dan uji Duncan. Menunjukkan terdapat perbedaan zona hambat yang terbentuk terhadap berbagai konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis.

Kata kunci : Daun jeruk nipis, *Staphylococcus aureus*, Kromatografi lapis tipis, Bioautografi.

ABSTRACT

TEST OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY BY MACERATION OF LIME LEAF EXTRACT (*Citrus aurantiifolia* S.) TO COMBINE BIOAUTOGRAPHIC METHOD TO *Staphylococcus aureus* BACTERIA

Lime (*Citrus aurantiifolia* S.) is one of the toga plants used in the community both for cooking spices and for medicines because it has many health benefits and has an antibacterial effect. Lime leaves contain flavonoid compounds and can be utilized as an antibacterial especially in *Staphylococcus aureus* bacteria. *Staphylococcus aureus* is one of the gram-positive bacteria in the form of a round, which is a pathogenic bacteria for humans. The purpose of this study to determine the antimicrobial activity of lime leaf extract (*Citrus aurantiifolia* S.) using ethanol solvent with bioautografi method against *Staphylococcus aureus* bacterial. The samples used in this research is dried lime leaf (*Citrus aurantiifolia* S.). Preparation of samples using maceration method, then in evaporator to get each extract diluted with concentration 2%, 4%, 6%, 8% 10%.

Results of the five concentrations showed that 2%, 4%, 6%, 8%, 10% had an average of 5.6 mm, 6.4 mm, 7.2 mm, 7.9 mm, and 9.1 mm. Data analysis was supported by one way Anova test and Duncan test. Indicates that there is a difference in the drag zone formed against the concentrations of lime extract.

Keywords : Lime Leaf, *Staphylococcus aureus*, Thin Layer Chromatograph, Bioautografi.

PENDAHULUAN

Jeruk nipis yang bernama latin *Citrus aurantiifolia* swingle merupakan tanaman yang tumbuh dan dikembangkan di Indonesia. Buah ini banyak dikonsumsi masyarakat dan mempunyai harga relatif murah, mudah diperoleh, alamiah, serta tidak menimbulkan efek samping bagi pemakainya (Lauma, 2015). Daun jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia* S.) digunakan untuk mengobati

penyakit kulit, sakit tenggorokan, sariawan, dan sebagai anti inflamasi serta obat kumur.

Jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia* S.) merupakan salah satu tanaman toga yang digunakan pada masyarakat, baik untuk bumbu masakan maupun untuk obat-obatan. Daun jeruk nipis dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terutama pada bakteri *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif berbentuk bulat yang merupakan bakteri patogen bagi manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan berbagai infeksi salah satunya infeksi pada kulit, pneumonia, keracunan makanan, dan infeksi saluran kemih (Radji, 2011 dalam Handrianto, 2018) . *Staphylococcus aureus* dapat juga menginfeksi jaringan atau alat tubuh lain yang menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas seperti nekrosis, peradangan dan pembentukan abses (Lauma dkk., 2015).

Bioautografi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa dalam ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Sebelum pengujian ini dilakukan terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui KLT yang baik. Sistem KLT yang dipilih adalah sistem yang dapat memisahkan komponen kimia yang di tunjukkan dengan pemisahan bercak yang baik terutama bercak dari senyawa aktif sebagai antimikroba (Frisennia, 2010).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian aktivitas antimikroba pada ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) pelarut etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi. Untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia* S.) menggunakan pelarut etanol dengan metode bioautografi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah maserator, *beaker glass*, gelas ukur, kaca arloji, sendok tanduk, kain serka, *evaporator*, labu ukur, pipet tetes, sendok tanduk, oven, autoklaf, inkubator, kompor, cawan petri, tabung reaksi, *erlenmeyer*, batang

pengaduk, kawat ose, batang spreader, mikropipet, lempeng KLT, lampu UV, pipa kapiler, gelas ukur, jangka sorong.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu serbuk daun jeruk nipis dan UPT Materia Medika Batu Malang, etanol 96%, ekstrak murni daun jeruk nipis, aquadest, *Nutrient agar (NA)*, *nutrient brooth (NB)*, bakteri *Staphylococcus aureus*, aluminium foil, kapas, plastik, plastik warp, eluen n-heksan, etil asetat, air.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi dengan merendam 50 gram serbuk daun jeruk nipis kedalam pelarut etanol 500 mL selama 24 jam. Hasil maserasi diuapkan sehingga didapatkan ekstrak murni. Ekstrak murni tersebut dibuat berbagai konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%.

Pembuatan Media

Membuat media NA dengan menimbang sebanyak 4 gram serbuk NA kemudian dilarutkan ke dalam 200 mL aquadest, dipanaskan di atas kompor hingga berwarna seperti minyak goreng. Kemudian media NA disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ukur 30 mL media NA steril yang masih hangat, tuang ke dalam cawan petri kemudian inkubasi 24 jam.

Pembuatan suspensi bakteri dengan menggoreskan 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* kemudian disuspensikan dengan media *Nutrient Brooth (NB)* steril 10 mL dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, pipet sebanyak 0,1 mL ratakan dalam cawan petri secara *spread plate* inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Bioautografi

Pengujian dilakukan dengan cara lempeng KLT yang telah ditotolkan ekstrak kemudian dielusi dengan pelarut eluen n-heksan : etil asetat (3:1) setelah itu diamati dibawah sinar UV 366 nm dan dihitung Rf tiap noda. Lempeng KLT ditempelkan diatas permukaan NA padat yang telah diinokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, ukur zona hambat yang terbentuk.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia S.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, dilakukan untuk mengetahui bahwa terdapat pengaruh konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis terhadap zona hambat yang terbentuk. Zat uji yang digunakan yaitu ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia S.*) dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10%. Daun jeruk nipis mempunyai khasiat sebagai digunakan sebagai penambah nafsu makan, penurun panas (antipireutik), diare, menurunkan berat badan, antiinflamasi, dan antibakteri (Abdul Rozaq dan Aziz Djamal, 2013). Metode pada penelitian ini menggunakan metode bioautografi. dengan cara hasil totolan pada plat klt di masukkan dalam media biakan spreader dan diinkubasi selama 24 jam, dilakukan replikasi sebanyak 5 kali. Zona hambat terlihat sebagai area jernih atau bersih mengelilingi KLT.

KLT yang dipilih adalah sistem yang dapat memisahkan komponen kimia yang ditunjukkan dengan pemisahan bercak yang baik terutama bercak dari senyawa yang aktif sebagai antimikroba. Menurut Frisennia (2010), eluen yang baik digunakan adalah eluen n-heksan : etil asetat (3:1) untuk mengangkat senyawa flavonoid ditandai dengan noda berwarna kuning. Sifat kedua pelarut yaitu polar. Bercak yang telah dielusi dapat dideteksi dengan sinar tampak atau lampu UV. Hasil uji dengan metode KLT-Bioautografi pada penelitian ini diperoleh bahwa noda yang diduga senyawa flavonoid terlihat pada Rf 0.8 dan Rf 0,5 yang terlihat berwarna kuning.

Tabel 1. Hasil pengujian KLT

Noda	Rf	Warna Penampak Noda	
		UV 254 nm	UV 366 nm
1	0,8	Kuning	Kuning
2	0,7	Biru	biru
3	0,6	Merah	Merah
4	0,6	Biru	Biru
5	0,5	Kuning	Kuning
6	0,2	Merah	Merah
7	0,1	Jingga	Jingga

Flavonoid adalah Senyawa yang memberikan aktivitas antimikroba berdasarkan uji identifikasi komponen kimia diduga golongan alkaloid dan flavonoid (Harborne, 1996 dalam Widowati, 2011). Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Rijayanti, 2014).

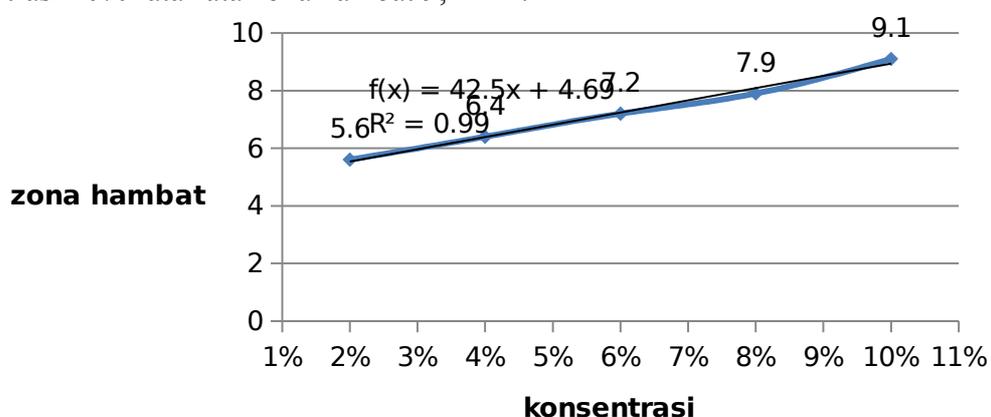
Mekanisme kerja antibakteri yang terdapat pada senyawa flavonoid terbukti dengan terbentuknya zona hambat atau zona media pada media yang sudah di spread dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Lempeng hasil KLT ditempelkan selama 30 menit pada media NA yang telah ditanami bakteri. Lempeng diambil lalu kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Yuliani, 2011).

Tabel 2. Hasil zona hambat bioautografi ekstrak daun jeruk nipis pada bakteri *staphylococcus aureus*

Replikasi	Konsentrasi				
	2%	4%	6%	8%	10%
I	5,5 mm	5,8 mm	7,4 mm	7,6 mm	9,1 mm
II	5,4 mm	6,3 mm	7,4 mm	7,7 mm	8,9 mm
III	6,1 mm	6,7 mm	6,9 mm	8,6 mm	9,5 mm

IV	5,4 mm	6,8 mm	6,9 mm	7,6 mm	9,2 mm
V	6,0 mm	6,5 mm	7,6 mm	8,3 mm	8,9 mm
Rata-rata	5,6 mm	6,4 mm	7,2 mm	7,9 mm	9,1 mm
Kategori	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang

Zona hambat yang terbentuk kelima replikasi memiliki nilai rata-rata dengan kategori sedang. Pada konsentrasi 2% rata-rata zona hambat 5,6 mm, pada konsentrasi 4% rata-rata zona hambat 6,4 mm, pada konsentrasi 6% rata-rata zona hambat 7,2 mm, pada konsentrasi 8% rata-rata zona hambat 7,9 mm, dan pada konsentrasi 10% rata-rata zona hambat 9,1 mm.



Gambar 1. Kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (mm)

Hasil kurva uji pengaruh konsentrasi antara konsentrasi dan zona hambat ekstrak daun jeruk nipis terhadap aktivitas antibakteri dimana semakin banyak ekstrak maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Dapat dilihat dengan nilai r yang di hasilkan yaitu $r = 0,9908$ yang mendekati 1. Sedangkan berdasarkan hasil uji statistik anova one way didapatkan hasil signifikan 0000, dimana H_1 dinyatakan diterima dan terdapat perbedaan zona hambat yang terbentuk terhadap berbagai konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapat pada aktifitas antibakteri ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan metode maserasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibuktikan dengan

adanya hasil zona hambat pada media dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10% memiliki hasil yang berbeda, dengan kategori sedang pada semua konsentrasi.

SIMPULAN

Aktivitas antimikroba ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia* S.) menggunakan pelarut etanol dengan metode bioautografi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10% memiliki zona hambat dengan kategori sedang.

RUJUKAN

- Frisennia, N. 2010. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen Dengan Metode Klt-Bioautografi. **Skripsi**. UIN Alauddin Makasar.
- Handrianto, P. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, **Jurnal Mikrobiologi**. Akademi Farmasi Surabaya.
- Lauma, S. W. 2015. Uji Efektivitas Perasan Air Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* S.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, **Jurnal Ilmiah Farmasi**. Unsrat Manado.
- Razaq, A., Djamal, A., Revilla, G. 2013. Jurnal. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* S.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, [Http://Jurnal.Fk.Unand.Ac.Id](http://jurnal.fk.unand.ac.id).
- Rijayanti, R. P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera Foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. **Jurnal Ilmiah Farmasi**. Universitas Tanjungpura.
- Widowati, A. K. 2011. Efek Antipiretik Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolium* L.) Pada Tikus Putih (*Ratus Norvegicus*). **Skripsi**. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Yuliani, R., Indrayudha, P., Rahmi, S. S. 2011. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap *Staphylococcus aureus*

dan *Escherichia coli*. **Jurnal Ilmiah Farmasi**, Fakultas Farmasi,
Universitas Muhammadiyah Surakarta.