

**JURNAL SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN JERUK PURUT  
(*Citrus hystrix* D. C.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DAN  
*Staphylococcus epidermidis***

Disusun oleh:  
**Vika Dhavesia**  
NPM: 120801284



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN JERUK PURUT  
(*Citrus hystrix* D. C.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DAN  
*Staphylococcus epidermidis***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KAFFIR LIME (*Citrus hystrix* D. C.)  
EXTRACTS AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* AND  
*Staphylococcus epidermidis***

Vika Dhavesia<sup>1,\*</sup>, B. Boy Rahardjo Sidharta M.Sc<sup>1</sup>, Dr. rer. nat. Y. Reni S, S.TP,MP.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta  
[\\*vikadhavesia@gmail.com](mailto:*vikadhavesia@gmail.com)

**INTISARI**

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) adalah tanaman dari suku jeruk yang umumnya digunakan sebagai penambah cita rasa pada makanan dan minuman. Tanaman ini merupakan tanaman asli Indonesia yang mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antibakteri ekstrak daun jeruk purut terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan perlakuan variasi konsentrasi ekstrak metanol daun jeruk purut. Penelitian ini diawali dengan pengeringan daun dengan oven pada suhu 45 °C, pembuatan serbuk dengan mesh 61, dan ekstraksi dengan metode maserasi selama 48 jam dengan pelarut metanol. Ekstrak selanjutnya dibuat variasi konsentrasi yaitu 12,5, 25, dan 50 % yang kemudian digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dengan metode sumuran. Luas zona hambat yang terbentuk dari ekstrak dengan konsentrasi 12,5, 25, dan 50 % terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara berturut adalah 0,605, 1,132, dan 1,934 cm<sup>2</sup>, sedangkan terhadap *Staphylococcus epidermidis* dihasilkan zona hambat secara berturut adalah 0,518, 0,837, dan 1,251 cm<sup>2</sup>. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan konsentrasi 50 % adalah konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kemudian konsentrasi terkecil dari zona hambat yaitu 12,5 % dilanjutkan dengan uji KHM. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai KHM untuk kedua jenis bakteri adalah 7,5 %.

## ABSTRACT

Kaffir lime (*Citrus hystrix* D. C.) is a citrus plant that is generally used as a flavor enhancer in food and beverages. This plant is native to Indonesia, which contains flavonoids, alkaloids, saponins, steroids and tannins. This study aims to determine the ability of antibacterial extract lime leaves against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. The research design was completely randomized treatment with various concentrations of methanol extract lime leaves. The research begins with drying leaves the oven at a temperature of 45 °C, pulverizing the mesh 61, and extraction by maceration for 48 hours with methanol. This study uses a completely randomized design with treatments in variation concentrations of 12,5, 25, and 50% concentration were then used to test the antibacterial activity. Inhibition zone formed from extracts with concentrations of 12,5, 25, and 50% against *Pseudomonas aeruginosa* respectively were 0,605, 1,132, and 1,934 cm<sup>2</sup>, whereas against *Staphylococcus epidermidis* produced successive inhibition zone were 0.518, 0.837, and 1.251 cm<sup>2</sup>. Based on the research that has been done a concentration of 50% was the concentration of the most effective in inhibiting the growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Then the smallest concentration of inhibitory zone, was 12,5% followed by the MIC test. Based on the results obtained by the MIC value for both types of bacteria is was 7,5%.

Keyword :kaffir lime, methanol, extraction, antibacterial, *staphylococcus epidermidis*, *pseudomonas aeruginosa*

## PENDAHULUAN

Jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) merupakan tanaman buah yang banyak ditanam oleh masyarakat Indonesia di pekarangan atau di kebun. Bentuk jeruk purut bulat dengan tonjolan-tonjolan, permukaan kulitnya kasar dan tebal. Tanaman jeruk purut berasal dari Asia Timur, Asia Tenggara, dan Indonesia. Nama ilmiah jeruk purut adalah *Citrus hystrix* D. C. (Agusta, 2000).

Jeruk purut memiliki banyak manfaat diantaranya adalah air perasan daging buah jeruk purut dapat digunakan sebagai obat batuk, obat kulit, dan antiseptik. Selain itu buah jeruk purut digunakan untuk menghilangkan bau amis pada ikan, pengharum tepung tawar, dan pencuci rambut. Minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki bobot jenis  $0,8766 \text{ g/cm}^3$ , indeks bias 1,4730, angka asam 0,8275, dan kadar minyak 2,13% (Miftahendrawati, 2014).

Daun jeruk purut mengandung tanin 1,8 %, steroid, triterpenoid, dan minyak atsiri 1 – 1,5 %. Kulit jeruk purut mengandung saponin, tanin dan minyak atsiri 2 – 2,5 % (Miftahendrawati, 2014). Daun jeruk purut juga digunakan sebagai bahan utama dalam obat-obatan tradisional. Daun jeruk purut mengandung alkaloid, polifenol, minyak atsiri, tanin, flavonoid. Jeruk purut memiliki efek farmakologis sebagai antiseptik dan antioksidan (Miftahendrawati, 2014). Penyakit infeksi masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (Radji, 2011).

Bakteri yang menyebabkan infeksi pada luka pada jaringan kulit, mukosa mulut, saluran kemih, saluran nafas, jerawat, luka bakar dan infeksi nosokomial adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus epidermidis* yang merupakan bakteri Gram positif. Bakteri yang

berada di tubuh manusia dapat menyebabkan infeksi dan menimbulkan gejala yang berbeda. Pada sebagian besar kasus infeksi, penggunaan antibiotik sangat diperlukan tetapi apabila pemakaiannya berlebihan akan menyebabkan bakteri akan menjadi resisten. Oleh karena itu, kita memerlukan alternatif lain untuk mengatasi masalah penggunaan antibiotik yang berlebihan, salah satunya adalah dengan menggunakan obat tradisional yang memiliki efek samping lebih kecil dan harga yang lebih terjangkau (Kusuma,1993).

Dalam penelitian pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder (Darwis, 2000). Metanol digunakan sebagai pelarut dikarenakan dalam penelitian Apriani (2015) ekstrak metanol daun pepaya menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etil asetat, serta hampir mendekati ekstrak n-heksana.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut yang diperoleh dari pasar Gowok yang terletak di belakang Ambarukmo Plaza Yogyakarta. Pelarut yang digunakan adalah metanol. Isolat bakteri uji berupa *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Medium yang digunakan adalah *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth Oxoid*. Kontrol positif yang digunakan merupakan kloramfenikol disk Oxoid 10 mg dan kloramfenikol tablet 500 mg. Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini berupa *mealer machine*, ayakan 61 mesh, *rotary evaporator* RV06-ML KIKA WERKE, *shaker incubator* JSSI300C, oven Venticell, timbangan analitik Mettler Toledo Al204, autoklaf Hirayama HVE50, *Laminar Air Flow* ESCO, Microwave Panasonic, vortex 37600 Mixer Termolyne, TLC Scanner Densitometer CAMAG, inkubator Memmert, mikroskop, tabung reaksi, petridish, dan alat-alat pendukung lainnya..

## Tahap Pelaksanaan

Daun jeruk purut di oven pada suhu 45 °C hingga meremah, dan kemudian dijadikan serbuk dengan ukuran mesh 61. Serbuk daun jeruk purut sebanyak 100 gram dimaserasi dengan cara simplisia direndam dalam pelarut sebanyak 1000 ml (perbandingan 1:10) selama  $\pm$  48 jam pada suhu ruang (27 °C) menggunakan *incubator shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Sampel disaring dengan kertas saring. Maserat yang diperoleh, ditampung dan diuapkan untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 75°C untuk pelarut etil asetat (Miftahendrawati, 2014 dengan modifikasi).

Identifikasi fitokimia ekstrak metanol daun jeruk purut adalah uji kualitatif alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf (Harborne, 1987 dengan modifikasi), uji flavonoid dengan serbuk Mg dan amil alkohol (Harborne, 1987 dengan modifikasi), uji tanin menggunakan FeCl<sub>3</sub> (Harborne, 1987 dengan modifikasi), uji triterpenoid/ steroid *Lieberman Burchard*, dan uji saponin (Harborne, 1987 dengan modifikasi). Uji kuantitatif senyawa alkaloid dan flavonoid pada ekstrak metanol daun jeruk purut menggunakan metode KLT di UII (Jhon, 2012).

Uji kemurnian bakteri uji yang dilakukan meliputi uji morfologi sel (pengecatan Gram) dan morfologi koloni bakteri, uji motilitas, uji katalase dan uji sifat biokimia yang terdiri dari uji fermentasi karbohidrat (Capuccino dan Sherman, 2011),

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran. Kultur bakteri uji diambil 0,1 ml dan diinokulasikan pada medium NA dengan metode *spread plate*. Kemudian dibuat 4 lubang dengan perforator nomor 3. Ekstrak daun jeruk purut diteteskan pada masing – masing lubang. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona hambat yang terjadi diamati dan diukur. Antibiotik kloramfenikol digunakan sebagai pembanding yang dilihat zona hambatnya pada mikrobia uji. (Waluyo, 2010 dengan modifikasi).

Pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan metode *total plate count* dengan variasi konsentrasi 2,5, 5, 7,5, 10, 12,5, 15, dan 17,5 %. Setiap konsentrasi ekstrak ditambahkan sebanyak 100 µL ke dalam 1 ml *Nutrien Broth*(NB) yang telah berisi 10 µL biakkan bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif adalah medium yang berisikan 1 ml DMSO yang dimasukkan ke dalam 1 ml NB dan 10 µL biakkan bakteri. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah dilakukannya inkubasi, ekstrak diambil sebanyak 100 µL lalu di *spread plate* di atas agar pada cawan petri. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada cawan petri (Andrews, 2001).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rendemen ekstrak yang diperoleh dengan pelarut metanol adalah 21,1091 %, dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yaitu Apriani (2015) tentang “uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk – pepaya terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*) dalam penelitiannya diperoleh rendemen ekstrak metanol daun jeruk – pepaya sebesar 4,08 % dari 240 gram serbuk daun. Hasil rendemen ekstrak yang diperoleh termasuk bagus dikarenakan dengan 100 gram serbuk daun telah menghasilkan rendemen ekstrak yang tinggi dan hasil ini juga lebih tinggi dari penelitian sebelumnya.

Hasil uji fitokimia secara kualitatif (Tabel 1) ekstrak daun jeruk menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya endapan setelah penambahan reagen Wagner, Mayer, dan Dragendorf. Hasil positif juga ditunjukkan pada uji flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna merah kehitaman setelah penambahan serbuk Mg dan amil alkohol. Hasil positif pada uji steroid yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau setelah penambahan reagen *Lieberman-Burchard*. Ekstrak juga menunjukkan hasil positif pada uji saponin

(terbentuk buih) dan pada uji tanin terbentuk warna hitam. Uji kuantitatif juga dilakukan untuk senyawa alkaloid dan flavonoid dengan menggunakan metode KLT.

Tabel 1. Hasil Pengujian Senyawa Kimia Ekstrak daun jeruk purut

Metabolit Sekunder	Hasil Akhir Setelah Pengujian	Hasil
Alkaloid ( Meyer, Wagner dan Dragendorff)	Meyer : terbentuk endapan hijau Wagner : terbentuk endapan coklat Dragendorff : terbentuk endapan coklat kehitaman	+
Saponin	Terbentuk buih	+
Flavonoid	Terbentuk warna merah kehitaman	+
Tanin	Terbentuk warna hitam	+
Steroid	Terbentuk warna hijau	+

Keterangan : + = menunjukkan adanya senyawa tersebut

Uji kemurnian bakteri yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni pada medium petri agar, pengecatan Gram, uji motilitas, uji katalase dan uji biokimia yang meliputi uji fermentasi karbohidrat (Tabel 2). Hasil dari uji kemurnian bakteri uji yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan benar bakteri *S.epidermidis* dan *P.aeruginosa*, sesuai dengan penjelasan yang dikemukakan oleh Breed dkk. (1957).

Tabel 2. Hasil Uji Kemurnian *Staphlococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Parameter Uji Kemurnian Bakteri	<i>Staphlococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Morfologi koloni	Putih, bulat dan tepi halus	Irregular, berwarna putih
Pengecatan Gram	Gram positif	Gram negatif
Uji Motilitas	Non-motil	Motil
Uji Katalase	Positif	Positif
Fermentasi Karbohidrat : • Laktosa	+	-

• Glukosa	+	-
• Sukrosa	+	-

Keterangan : + = dapat memfermentasikan karbohidrat  
 - = tidak dapat memfermentasi karbohidrat

Hasil uji Duncan (Tabel 3) menunjukkan bahwa terdapat beda nyata antara variasi konsentrasi ekstrak daun jeruk purut. Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 50 % memiliki luas zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 12,5 dan 25 % yaitu dengan rata – rata luas zona hambat terhadap kedua bakteri adalah 1,593 cm<sup>2</sup>. Luas zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 50 % terhadap *Staphylococcus epidermidis* adalah 1,251 cm<sup>2</sup> dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 1,934 cm<sup>2</sup>. Konsentrasi ekstrak 12, 5 % memiliki rata – rata luas zona hambat sebesar 0,561 cm<sup>2</sup>, dan konsentrasi 50 % memiliki rata – rata luas zona hambat sebesar 0,984 cm<sup>2</sup>.

Tabel 3. Rata – rata luas zona hambat terhadap daya hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*

Perlakuan	Luas Zona Hambat (cm <sup>2</sup> )		Rata-Rata
	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
Kontrol negatif (DMSO)	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>A</sup>
Konsentrasi 12,5 %	0,518 <sup>b</sup>	0,605 <sup>b</sup>	0,561 <sup>B</sup>
Konsentrasi 25 %	0,837 <sup>b</sup>	1,132 <sup>b</sup>	0,984 <sup>B</sup>
Konsentrasi 50 %	1,251 <sup>c</sup>	1,934 <sup>c</sup>	1,593 <sup>C</sup>
Kontrol positif (Kloramfenikol)	4,468 <sup>d</sup>	4,646 <sup>d</sup>	4,557 <sup>D</sup>
Rata-Rata	1,415 <sup>x</sup>	1,663 <sup>y</sup>	1,539 <sup>z</sup>

Aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut dengan luas rata – rata zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebesar 1,415 cm<sup>2</sup> dan *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 1,663 cm<sup>2</sup>, maka ekstrak daun jeruk purut

memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori kuat. Dibandingkan dengan penelitian Apriani (2015) ekstrak metanol daun jeruk – pepaya dalam penelitiannya mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat secara berturut adalah 6,5 mm dan 6,64 mm. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun jeruk – pepaya termasuk dalam kategori lemah.

Tabel 4. Hasil pengujian konsentrasi hambat minimum ekstrak daun jeruk purut terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan Bakteri	
	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
1,25	+	+
2,5	+	+
3,75	+	+
5	+	+
6,25	+	+
7,5	-	-
8,75	-	-
Kontrol negatif (DMSO)	+	+
Kontrol Positif (Kloramfenikol)	-	-

Keterangan : + = terdapat pertumbuhan bakteri  
 - = tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Berdasarkan hasil pengujian KHM terhadap bakteri Gram positif dan Gram negative yang diperoleh pada Tabel 4, ekstrak daun jeruk purut mempunyai kemampuan menghambat baik bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi hambat minimumnya terdapat pada konsentrasi 7,5 %. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya bakteri yang tumbuh pada medium setelah inkubasi 24 jam.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa,

1. Ekstrak metanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*.
2. Konsentrasi ekstrak metanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) 50 % dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan luas zona hambat lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 12,5 dan 25 %.
3. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* adalah 7,5 %.

## SARAN

Saran yang dapat diajukan terkait penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* adalah:

1. Antibiotik yang digunakan dapat dicoba dengan antibiotik jenis lain selain kloramfenikol seperti ampisilin atau penisilin.
2. Pegujian kuantitatif dengan menggunakan KLT sebaiknya membuat regresi linier sehingga dapat memperoleh konsentrasi senyawa yang diinginkan.
3. Konsentrasi ekstrak daun jeruk purut untuk pengujian inhibisi dapat ditingkatkan menjadi lebih tinggi dari 50 %.
4. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak selama pengujian sebaiknya menggunakan pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi.
5. Pengujian dapat dicoba dengan variasi umur tanaman daun jeruk purut dan variasi ukuran serbuk.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Laboratorium Fitokimia Puslitbang Biologi-LIPI, Institut Teknologi Bandung, Bandung. Halaman 45.
- Andrews, J, M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48 : 5-16.
- Apriani, N. J. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk – pepaya (*Citrus medica* L. Var. *Proper*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Breed, R.S., Murray, E.G.D., dan Smith, N.R. 1957. *Manual of : Determinative Bacteriology*. The williams and Wikins Company, USA. Halaman: 56-465.
- Cappuccino, J.G., dan Sherman, N. 2011. *Microbiology a Laboratory Manual 9<sup>th</sup> edition*. Pearson Benjamin Cummings, San Fransisco. Halaman: 10-11.
- Darwis, D. 2000. Teknik dasar laboratorium dalam penelitian senyawa bahan alam hayati. *Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*, FMIPA, Universitas Andalas, Padang.
- Jhon, N. 2012. Analisis dan karakterisasi senyawa alkaloid dari tanaman kina (*Chinchona ledgeriana*). *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains* 14(2): 59 – 64.
- Kusuma, T. S. 1993. *Kimia Lingkungan*. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang. Halaman 76.
- Miftahendrawati. 2014. Efek antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Radji, M. 2011. *Mikrobiologi*. Buku Kedokteran ECG, Jakarta. Halaman 76 – 79.
- Waluyo, L. 2010. *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. UMM Press, Malang. Halaman 88.