

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Morfologi dan Taksonomi Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C.)

Sitrus atau yang dikenal dengan jeruk adalah salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomi tinggi karena mengandung vitamin C dan digunakan sebagai penyedap masakan. Terdapat senyawa bioaktif seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan steroid dalam daun jeruk (Hebert dkk., 2014). Bahan aktif yang penting bagi kesehatan yang terdapat dalam daun jeruk adalah vitamin C, flavonoid, karotenoid, limonoid, dan mineral. Flavonoid merupakan bahan antioksidan yang mampu menetralkan oksigen reaktif dan berkontribusi terhadap pencegahan penyakit kronis seperti kanker (Devy, 2010).

Jeruk purut termasuk famili Rutaceae, dimana bagian buah dan daunnya umumnya dipakai oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Bagian daun umumnya digunakan untuk mengatasi kelelahan sehabis sakit berat dan juga untuk menambah cita rasa masakan, sedangkan kulitnya digunakan sebagai obat bisul, panas dalam, radang kulit, radang payudara, kulit bersisik, dan kulit mengelupas (Setiawan, 2000). Selain itu, kulit buah jeruk purut juga dapat digunakan untuk penyedap masakan, pembuatan kue, dan dibuat manisan (Setiadi dan Parmin, 2004). Taksonomi jeruk purut adalah sebagai berikut (Miftahendrawati, 2014):

Kerajaan	: Plantae
Sub Kerajaan	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Rutaceae
Marga	: <i>Citrus</i>
Jenis	: <i>Citrus hystrix</i> D. C.

Jeruk purut (Gambar 1) memiliki daun majemuk menyirip beranak daun satu dan tangkai daun sebagian melebar menyerupai anak daun. Helaian anak daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat atau tumpul, ujung tumpul sampai meruncing, tepi beringgit, panjang 8 – 15 cm, lebar 2 – 6 cm, kedua permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih, permukaan atas warnanya hijau tua agak mengkilap, permukaan bawah hijau muda atau hijau kekuningan, buram, dan jika diremas baunya harum. Bunganya berbentuk bintang dan berwarna putih kemerah-merahan atau putih kekuning-kuningan. Bentuk buahnya bulat telur, kulitnya hijau berkerut, berbenjol-benjol, dan rasanya asam agak pahit (Soepomo, 2012).

B. Kandungan Kimia Jeruk Purut

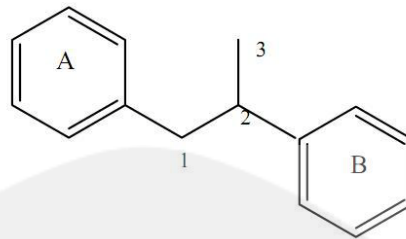
Daun jeruk purut mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, steroid, kumarin, fenolik, tanin, saponin, terpen, dan minyak atsiri. Sedangkan, bagian kulit buah jeruk purut banyak mengandung senyawa golongan flavonoid dan steroid, serta senyawa kumarin (Setiawan, 2000).



Gambar 1. Tanaman jeruk purut (Sumber: Handayani dan Munawaroh, 2010)
Keterangan: berdaun majemuk, berbentuk bulat telur atau lonjong, berwarna hijau, dan ujung daun runcing atau tumpul.

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan tentang senyawa – senyawa organik yang dibentuk dan disimpan, yaitu struktur kimia, biosintesis, perubahan serta metabolisme, penyebaran secara alamiah dan fungsi biologis, isolasi, dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam – macam jenis tanaman. Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui ciri senyawa bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay (Harborne, 1987).

Flavonoid (Gambar 2) terdapat dalam tanaman dan dapat ditemukan pada semua tanaman vaskuler. Flavonoid mempunyai berat molekul rendah dan pada dasarnya merupakan *phenylbenzopyrones* (*phenylchromones*) dengan struktur dasarnya berupa dua cincin utama yang saling melekat, yaitu dua cincin benzen (A dan B) yang dihubungkan melalui cincin heterosiklik piran atau piron (dengan ikatan ganda) yang disebut cincin “C” (Middleton dkk., 2000).



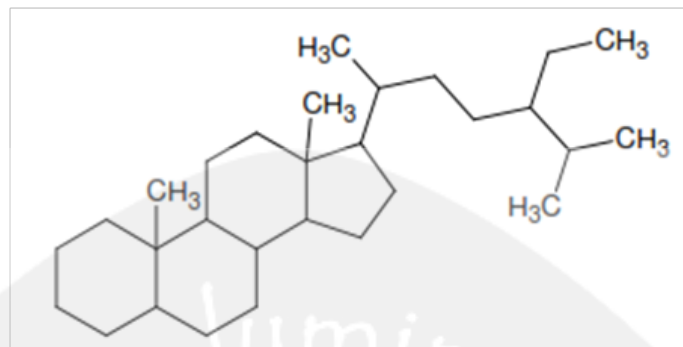
Gambar 2. Struktur kimia senyawa flavonoid (Sumber: Middleton dkk., 2000).

Keterangan: Senyawa flavonoid adalah mengandung 15 atom karbon yang terdiri atas 2 inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. A dan B adalah cincin benzen yang dihubungkan dengan 3 karbon (nomor 1, 2, dan 3).

Triterpenoid memiliki kerangka karbon yang berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid adalah senyawa yang mempunyai sifat titik leleh tinggi, tidak berwarna, berbentuk kristal, dan aktif optik (Harborne, 1987).

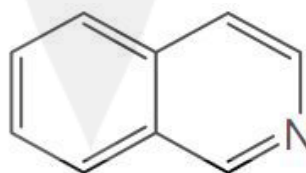
Steroid (Gambar 3) merupakan senyawa kompleks yang terdiri atas 4 cincin yang saling bergabung dan larut di dalam lemak. Sterol adalah senyawa steroid yang paling banyak ditemukan dalam tanaman yang termasuk golongan steroid alkohol (Bhat, 2009).

Saponin merupakan senyawa sterol dan glikosida triterpena yang dapat ditemukan dalam lebih dari 90 genus tumbuhan. Glikosida adalah senyawa kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). kebanyakan senyawa saponin mempunyai satuan gula sampai 5 dengan komponen umumnya adalah asam glukuronat. Pembentukan busa dari hasil ekstraksi atau pemekatan ekstrak tumbuhan menunjukkan adanya saponin dalam tumbuhan tersebut (Harborne, 1987).



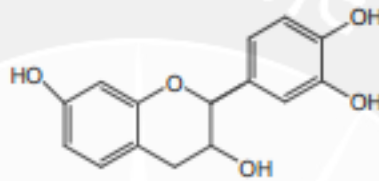
Gambar 3. Struktur kimia steroid (Sumber: Bhat, 2009).
Keterangan: Steroid tersusun atas 17 atom karbon dan 4 cincin (3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana)

Alkaloid (Gambar 4) merupakan senyawa yang umumnya dalam bentuk gabungan yang terdiri dari satu atau lebih atom nitrogen, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid memiliki sifat optis aktif, tidak berwarna, dan berbentuk kristal tetapi ada juga yang berupa cairan pada suhu kamar (37 °C) seperti nikotin (Harbone, 1987). Alkaloid dalam bentuk garam larut air, sedangkan dalam bentuk bebas atau biasanya larut dalam pelarut organik. Hal ini terjadi karena sifatnya yang mudah membentuk garam dengan asam klorida atau asam sulfat maka senyawa tersebut dapat ditarik menggunakan pelarut asam klorida encer atau asam sulfat encer. Setelah itu, dilakukan penambahan basa dengan natrium hidroksida atau kalsium laktat (Sirait, 2007).



Gambar 4. Struktur kimia alkaloid (Sumber: Sirait, 2007).
Keterangan: Struktur alkaloid mempunyai 2 cincin karbon dengan 1 atom nitrogen

Tanin (Gambar 5) bermanfaat sebagai astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan. Tanin merupakan senyawa kompleks yang terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, serta mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Paendong dkk., 2012).



Gambar 5. Struktur kimia inti tanin (Sumber: Robinson, 1995).
Keterangan: struktur tanin mempunyai 2 cincin aromatik dengan mengandung gugus OH

C. Pengeringan

Pengeringan merupakan proses pemindahan panas dan uap air secara berkesinambungan. Adapun tujuan proses pengeringan ini adalah untuk mengurangi kadar air bahan sehingga dapat menghambat kerusakan bahan yang dikeringkan (Khathir dkk., 2012). Parameter-parameter yang memengaruhi proses pengeringan adalah suhu, kelembaban udara, laju aliran udara, kadar air awal, dan kadar air bahan kering (Hall, 1957).

Menurut Estiasih (2009), faktor – faktor yang memengaruhi pengeringan diantaranya adalah luas permukaan dimana semakin kecil ukuran maka semakin cepat proses pengeringan. Pengecilan ukuran akan memperluas permukaan bahan, sehingga air lebih mudah berdifusi, dan menyebabkan penurunan jarak yang harus ditempuh oleh panas. Suhu pemanasan dimana semakin besar perbedaan suhu antara medium pemanas dengan bahan herbal

maka pemidahan panas ke bahan herbal akan semakin cepat dan akan semakin cepat pula penguapan air dari bahan herbal. Pada proses pengeringan, air dikeluarkan dari bahan herbal dapat berupa uap air. Kecepatan pergerakan udara juga mempengaruhi, yaitu semakin cepat pergerakan atau sirkulasi udara maka proses pengeringan akan semakin cepat. Prinsip ini menyebabkan beberapa proses pengeringan menggunakan sirkulasi udara seperti pengering kabinet dan *tunnel dryer*.

Selain itu, kelembaban udara juga mempengaruhi dimana semakin rendah kelembaban udara maka kecepatan pengeringan semakin tinggi. Proses penyerapan akan berhenti sampai kesetimbangan kelembaban nisbi bahan pangan tercapai. Faktor penguapan air dimana terjadinya proses menghilangkan air dari bahan herbal yang dikeringkan sampai diperoleh produk kering yang stabil. Penguapan yang terjadi selama proses pengeringan tidak menghilangkan semua air yang terdapat dalam bahan herbal. Faktor terakhir yang mempengaruhi pengeringan adalah lamanya pengeringan dimana pengeringan dengan suhu tinggi dalam waktu yang pendek dapat lebih menekan kerusakan bahan herbal dibandingkan waktu pengeringan yang lebih lama dan suhu lebih pendek (Estiasih, 2009).

Terdapat beberapa metode dalam pengeringan yaitu pengeringan dengan sinar matahari langsung, pengeringan dengan oven, dan kering angin. Pengeringan dengan matahari langsung adalah proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, akan tetapi dari segi kualitas alat pengering buatan (oven) akan memberikan produk yang lebih baik. Sinar

ultra violet dari matahari juga menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang dikeringkan. Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat, akan tetapi penggunaan suhu yang terlampaui tinggi dapat meningkatkan biaya produksi selain itu terjadi perubahan biokimia, sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan (Parman dkk., 2013).

Pengeringan yang umumnya digunakan masyarakat adalah pengeringan dengan sinar matahari karena tidak harus mengeluarkan biaya untuk membeli alat seperti oven. Pengeringan dengan sinar matahari sangat dipengaruhi oleh kondisi cuaca dan membutuhkan waktu yang lama, sekitar 3 – 5 hari di bawah sinar matahari penuh tanpa diselingi mendung. Namun, bila diselingi mendung atau hujan, proses pengeringan dapat mencapai 7 hari atau lebih (Widyanto dan Nelistya, 2008).

Salah satu alat pengering mekanis yang umumnya digunakan adalah oven listrik. Cara pengeringan ini membutuhkan waktu yang relatif cepat tetapi memerlukan biaya yang besar dan penggunaan suhu tidak melebihi 60–70°C (Mardiah dkk., 2009). Menurut Hayati dkk. (2011), pengeringan mekanis harus memperhatikan tinggi rendahnya suhu karena suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kandungan bahan organik yang termolabil menjadi rusak atau berkurang.

Cara pengeringan yang salah dapat menyebabkan terjadinya *Face hardening*, yaitu bagian luar bahan sudah kering sedangkan bagian dalamnya

masih basah. Hal ini dapat dikarenakan irisan bahan simplisia yang terlalu tebal, suhu pengeringan yang terlalu tinggi, atau karena suatu keadaan lain yang menyebabkan penguapan air permukaan bahan jauh lebih cepat daripada difusi air dari dalam ke permukaan bahan tersebut, sehingga permukaan bahan menjadi keras dan menghambat pengeringan selanjutnya. *Face hardening* dapat mengakibatkan kerusakan atau kebusukan di bagian dalam bahan yang dikeringkan (Sudewo, 2009).

D. Pembuatan Serbuk

Bahan yang telah kering dilakukan pembレンダーan. Pembレンダーan bertujuan untuk menghasilkan serbuk instan yang halus. Kemudian dilakukan pengayakan, yang bertujuan untuk memperoleh keseragaman ukuran serbuk sehingga sesuai dengan standar yang ditetapkan (Ramadina, 2013). Pengayakan merupakan suatu unit operasi yaitu suatu campuran dari berbagai jenis ukuran partikel padat dipisahkan kedalam dua atau lebih bagian-bagian kecil dengan cara melewatkannya di atas *screen* (ayakan) (Fellow, 1990). Menurut Brennan (1969), terdapat beberapa istilah yang digunakan dalam pengayakan (*screen*) yaitu :

- a. *Under size* yaitu ukuran bahan yang melewati celah ayakan
- b. *Over size* yaitu ukuran bahan yang tertahan oleh ayakan
- c. *Screen aperture* yaitu jarak antara satu dengan yang lain dalam seri ayakan.
- d. *Mesh number* yaitu banyaknya lubang per cm^2

- e. *Screen interval* yaitu hubungan antara diameter kawat kecil pada seri ayakan standar

E. Penyarian

Penyarian adalah peristiwa terjadinya perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel yang kemudian ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Penyarian akan bertambah baik apabila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas (Yuwanti, 2010). Metode penyarian dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan macam tiap metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna (Ansel, 1989). Menurut Apriani (2015) terdapat beberapa metode ekstraksi seperti maserasi, sokletasi, perkolasi, dan refluks.

Maserasi merupakan metode penyarian sederhana, yaitu dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Metode ini digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Keuntungan metode ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, dan kekurangannya adalah pengerjaannya yang lama dan hasil penyarian yang kurang sempurna (Apriani, 2015).

Perlokasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip ekstraksi

dengan metode perkolasi yaitu serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori dan kemudian penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk tersebut, sehingga zat aktif sel – sel yang dilalui pelarut akan terlarut hingga mencapai keadaan jenuh (Apriani, 2015).

Sokletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul – molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari uap dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu penampung setelah melewati sifon (Apriani, 2015).

Refluks merupakan metode ekstraksi berkesinambungan. Simplisia yang akan diekstraksi direndam dalam cairan penyari dalam labu yang dilengkapi dengan pendingin, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan cairan penyari akan menguap, uap tersebut diembunkan oleh pendingin dan turun kembali menyari zat aktif dalam simplisia.

Menurut Yuwanti (2010), cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria seperti murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat yang berkhasiat yang dikehendaki, tidak memengaruhi zat yang berkhasiat, dan diperbolehkan oleh peraturan.

Pada proses maserasi, cairan penyari akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di

dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Larutan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain (Ansel, 1989).

Dalam proses maserasi diperlukan dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk simplisia, sehingga tetap terjaga derajat konsentrasi yang sekecil – kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Yuwanti, 2010).

Menurut Pratiwi (2010), maserat yang diperoleh dari hasil maserasi selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya. Menurut Suryandari (1981), besarnya rendemen ekstrak dipengaruhi oleh waktu ekstraksi dan kehalusan serbuk bahan. Semakin lama waktu ekstraksi maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan karena kesempatan bersentuhan antara bahan dengan pelarut semakin besar. Demikian halnya dengan kehalusan bahan, semakin halus bahan yang digunakan maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan.

Hal ini kemungkinan karena permukaan bahan semakin luas sehingga memperbesar terjadinya kontak antara partikel serbuk dengan pelarut (Suryandari, 1981). Jaringan bahan atau simplisia dapat memengaruhi efektivitas ekstraksi. Ukuran bahan yang sesuai akan menjadikan proses ekstraksi berlangsung dengan baik dan tidak memakan waktu yang lama (Heath dan Reineocius, 1986).

F. Larutan Penyari Metanol

Metanol memiliki sifat titik didih pada suhu $64,7^{\circ}\text{C}$, tegangan permukaan $22,1 \text{ dyne/cm}$, dan sedikit larut dalam lemak dan minyak. Nilai polaritas dari metanol adalah $5,1$. Panas jenis uap metanol pada suhu 25°C sebesar $1,370 \text{ J/(gK)}$. Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol*, atau spiritus dengan struktur rumus kimia CH_3OH sebagai alkohol alifatik yang paling sederhana. Metanol dapat digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar, dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri (Dirjen POM, 1972).

G. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang digunakan untuk membasmi bakteri khususnya yang merugikan manusia. Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia harus memiliki sifat toksisitas selektif. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya dikenal sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) (Zain, 2012).

Menurut Zain (2012) antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakteriosid bila kadar antibakterinya ditingkatkan. Mekanisme senyawa antibakteri diantaranya adalah mencegah sintesis dinding sel, mempengaruhi fungsi membran, mempengaruhi sintesis protein, dan mengganggu metabolisme asam nukleat. Senyawa antibakteri merusak dinding

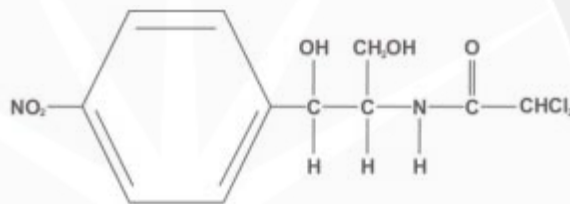
sel akan menyebabkan terjadinya tekanan osmotik yang lebih tinggi didalam sel daripada lingkungan luar sel sehingga sel akan mengalami lisis. Melemahnya fungsi membran sel akan menyebabkan komponen penting dari dalam sel bakteri akan keluar seperti protein, asam nukleat dan nukleotida.

Berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antibakteri memiliki efek bakteristatik, bakteriosida, dan bakteriolitik terhadap pertumbuhan mikrobial. Efek bakteristatik akan menghambat pertumbuhan sel, namun tidak membunuh bakteri tersebut, selain itu juga menghambat sintesis protein. Efek bakteriosida akan mematikan sel bakteri tersebut, namun tidak terjadi lisis sel. Sedangkan, efek bakteriolitik akan mematikan sel bakteri serta terjadi lisis sel, hal ini akan menyebabkan jumlah sel yang tumbuh menurun dan menghambat terjadinya sintesis dinding sel (Madigan dkk., 2000).

Terdapat beberapa metode dalam pengujian aktivitas antibakteri seperti metode dilusi (pengeceran agar) yang digunakan untuk menentukan konsentrasi terendah atau konsentrasi hambat minimum (KHM) senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan sel bakteri, metode difusi agar yang dilakukan dengan medifusikan senyawa antibakteri pada lempeng agar yang telah ditanami bakteri uji dimana hasil uji berupa zona bening disekitar lubang difusi yang berisi senyawa antibakteri, dan terakhir metode turbidimetri yang dilakukan dengan mengamati kekeruhan medium pembedahan pengukuran serapan secara spektrofotometri (Lorian, 1980).

H. Antibiotik Kloramfenikol

Antibiotik adalah zat-zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan zat-zat itu dalam jumlah yang sedikitpun mempunyai daya penghambat kegiatan mikroorganisme lain. Kloramfenikol (Gambar 6) merupakan antibiotik berspektrum luas. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan – ikatan peptida pada proses sintesis protein kuman (Nugrahani dan Ningsih, 2014).



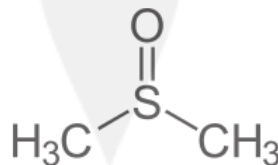
Gambar 6. Antibiotik Kloramfenikol (Sumber: Farmakope IV, 1995)
Keterangan: memiliki 1 cincin benzen, kloramfenikol memiliki rumus kimia $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$.

Menurut Halden dkk. (1999), mekanisme kerja desinfektansia dan antiseptik berdasarkan proses – prosesnya adalah denaturasi protein mikroorganisme, yakni perubahan strukturnya sehingga sifat-sifat khasnya hilang, pengendapan protein dalam protoplasma (zat-zat halogen, fenol, alkohol dan garam logam), oksidasi protein (oksidansia), mengganggu sistem dan proses enzim (zat-zat halogen, alkohol dan garam-garam logam), dan modifikasi dinding sel dan / atau membrane sitoplasma (desinfektansia dengan aktivitas permukaan).

Metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroorganisme dari antibiotik adalah dengan metode difusi agar, yaitu dengan pembentukan zona hambat. Sejumlah senyawa tertentu ditambahkan dengan menggunakan kertas saring (*paper disc*), kemudian ditempatkan pada permukaan agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme uji. Kelebihan dari metode difusi agar ini adalah aktivitas antibiotik langsung dapat dilihat dengan adanya zona hambat yang terbentuk, sehingga metode ini sering digunakan untuk menguji aktivitas antibiotik terhadap organisme patogen (Hersbach dkk., 1984).

I. Larutan DMSO

Dimetil sulfoksida (DMSO) (Gambar 7) merupakan senyawa kimia dengan rumus kimia $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$. Berat molekul DMSO sebesar 78,13 g/mol, dengan titik beku pada suhu antara 18 – 18,55 °C dan titik didih pada suhu 189 °C. DMSO berbentuk larutan tidak berwarna yang memiliki sifat aprotik dipolar, yaitu dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar. DMSO juga memiliki sifat ampifilik (memiliki sifat hidrofilik dan hidrofobik) (Sum dan Pablo, 2003).



Gambar 7. Struktur kimia DMSO (Sumber: Oktaviani, 2011)

J. Bakteri Uji

1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa bersifat *aerobik obligat*, motil, berbentuk batang – batang pendek (*rod*), dan Gram negatif. Bakteri ini dapat berada dalam tubuh orang sehat dan bersifat saprofit. Suhu optimum pertumbuhan *P. aeruginosa* yang baik adalah 37 – 42 °C. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada luka, luka bakar, juga merupakan penyebab diare pada bayi, dan infeksi saluran kemih (Wuryanti dan Murnah, 2009).

2. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis adalah bakteri Gram positif yang berbentuk kokus dengan diameter 0,5 – 1,5 µm. Koloni bakteri ini menyerupai buah anggur dan umumnya berwarna putih atau krem. Hidup di permukaan kulit dan membran mukosa manusia maupun hewan. *S. epidermidis* memiliki karakteristik antara lain katalase positif, koagulase negatif, dan fakultatif anaerob. Infeksi *Staphylococcus epidermidis* dapat menimbulkan beberapa penyakit kulit antara lain jerawat, gatal – gatal pada kulit kepala, bisul, dan ketombe (Jawetz dkk., 2006).

K. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis atau *Thin Layer Chromatography* merupakan cara pemisahan dengan adsorpsi pada lapisan tipis adsorben yang dapat digunakan untuk memisahkan berbagai senyawa seperti ion-ion anorganik, kompleks senyawa-senyawa organik dengan anorganik dan senyawa-senyawa

organik baik yang terdapat di alam maupun senyawa-senyawa organik sintesis (Apriani, 2015).

Prinsip KLT adalah pemisahan secara fisikokimia. Fase diam terdiri atas bahan yang berbutir-butir yang ditempatkan dalam plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa cairan yang ditotolkan pada plat, yaitu berupa bercak atau pita (awal). Setelah itu plat atau lapisan diletakkan di dalam bejana yang ditutup rapat berisi fase gerak. Silika gel adalah penyerap yang banyak digunakan karena memiliki sifat pemisahan yang baik. Zat penyerap dilapiskan secara merata pada penyangga dengan ketebalan lapisan 0,1-1,3 mm (Apriani, 2015).

Menurut Apriani (2015), pemisahan suatu senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis tergantung pada jenis pelarut, zat penyerap, serta sifat daya serap masing-masing komponen. Komponen terlarut akan terserap oleh fase diam (penyerap), kemudian bergerak sesuai dengan kecepatan dari komponen terlarut dalam fase gerak (pelarut) sehingga akan memperlihatkan pemisahan komponen pada fase diam. Perbandingan kecepatan tersebut dinyatakan dengan R_f (*Rate of flow*), dengan persamaan:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Menurut Apriani (2015), harga R_f dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain:

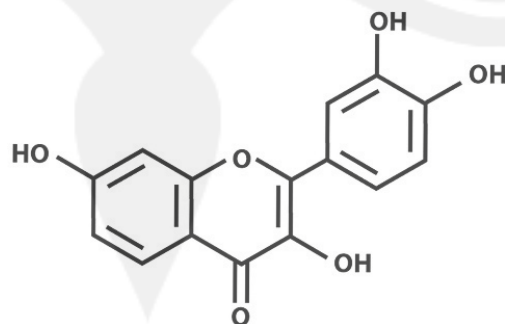
1. Struktur kimia dari senyawa yang akan dipisahkan.
2. Sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya. Perbedaan penyerap akan memberikan perbedaan yang besar terhadap harga R_f walaupun

menggunakan fase gerak dan *solute* yang sama. Hasil yang sama dapat diperoleh jika diulang menggunakan penyerap yang sama.

3. Tebal dan kerataan lapisan penyerap. Ketidakrataan akan menyebabkan pelarut menjadi tidak rata.
4. Jumlah cuplikan yang digunakan.
5. Panjang trayek migrasi
6. Adanya zat asing atau pencemar
7. Kelembaban udara
8. Suhu

L. Kuersetin

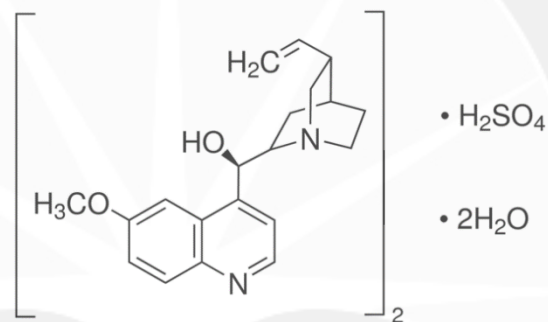
Kuersetin (Gambar 8) merupakan senyawa golongan flavonol terbesar yaitu sekitar 60 – 75 % dari flavonoid. Kuersetin berkhasiat sebagai senyawa antioksidan (Sugrani dan Waji, 2009). Pada kulit buah jeruk manis terdapat kandungan flavonoid antara lain hesperidin, narirutin, naringin, eriocitrin, kuersetin, senensetin, narigenin, dan hesperitin (Setyowati, 2014).



Gambar 8. Struktur kimia kuersetin (Sumber: Sugrani dan Waji, 2009)

M. Kinin Sulfat

Kinin merupakan senyawa alkaloid berbentuk kristal halus putih, tidak berbau, bersifat basa, serta memiliki rasa pahit. Kinin terdapat dalam bentuk hidroklorida dan sulfat. Kinin sulfat (Gambar 9) memiliki rumus molekul $(C_{20}H_{24}N_2O_4)_2 + 2 H_2O + H_2SO_4$. Kinin sulfat dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Zakiyah, 2014). Kinin sulfat merupakan senyawa golongan alkaloid yang sangat penting karena dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat seperti obat malaria (Bernath, 2005),



Gambar 9. Struktur kimia kinin sulfat (Sumber: Zakiyah, 2014)
Keterangan: Struktur kimia kinin sulfat memiliki dua cincin benzen

N. Hipotesis

1. Ekstrak metanol 25 % daun jeruk purut memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol daun jeruk purut dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, yaitu *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri Gram negatif, yaitu *Pseudomonas aeruginosa* adalah 10 %.