

## Uji Antiseptik Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*

Mirnawati<sup>1</sup>, Nur Mu'min<sup>1</sup>, Ummi Zahra<sup>2</sup>

Jurusan Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Teknologi Sulawesi,  
Jl. Talasalapang No. 51, Makassar, Indonesia.

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar. Jl Yasin Limpo  
No 63. Gowa. Indonesia

\*Corresponding Author: [muhsakhizaidan@gmail.com](mailto:muhsakhizaidan@gmail.com)

Received: September,01,2021/Accepted: December,31,2021

doi: 10.24252/al-kimiav9i2.23261

**Abstract:** Indonesia is one of the countries with the fourth largest natural wealth in the world. The magnitude of the natural potential provides a great opportunity for scientists to develop it as a useful product for society. One of the medicinal plants that can be used is lime (*C. aurantifolia*). The purpose of this study was to determine the inhibition of lime peel extract (*Citrus aurantifolia*) against *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and mold bacteria using the coloni counter method. This research includes the extraction process of the maceration method then the extract obtained is tested for bacterial analysis using a colony counter. Based on the results of the research conducted, it can be concluded that lime peel extract (*C. aurantifolia*) has the ability to inhibit the growth of *B. cereus* and *E.coli* bacteria, respectively 0 APM/g and <3.0 APM/g.

**Keyword:** Antibacteri, Colony Counter, B-Pinen, D-Limonene, *Citrus aurantifolia*

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan alam keempat terbesar di dunia. Hutan Indonesia menjadi habitat bagi 30.000 dari total 40.000 tumbuhan obat yang dikenal dunia. Lebih dari 1.000 jenis setelah digunakan sebagai tumbuhan obat yang bermanfaat bagi kesehatan dan berpotensi memberikan manfaat ekonomi, sosial budaya dan lingkungan (National Geographic Indonesia, 2013). Besarnya potensi alam tersebut memberikan peluang besar bagi para Peneliti untuk mengembangkannya sebagai produk yang berguna bagi masyarakat. Salah satu tumbuhan obat yang dapat dimanfaatkan berasal dari Genus *Citrus*.

Genus *Citrus* berasal dari famili Rutaceae yang memiliki 150 genus dan 1500 spesies yang tersebar di daerah tropis dan subtropis. Senyawa mayor yang terkandung dalam Genus *Citrus* adalah minyak esensial (*essential oil*) (Al-Aamri et al, 2018) seperti d-Limonen,  $\gamma$ -terpinen, linalol, asetat linalil,  $\alpha$ -terpinol, geranil asetat, terpinolen dan  $\beta$ -pinen (Dosoky & Setzer, 2018). Minyak esensial dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antikanker (Ballistreti et al, 2019), antimikroba, antioksidan (Ladaniya, 2008), anti-inflamasi, hipolipidemik, antitipoid dan hepatoprotektif (Al-Snafi & Thuwaini, 2017). Selain minyak esensial Genus *Citrus* juga mengandung senyawa polifenol (Fattore et al, 2016), flavanon glikosida dan polimetoksiflavanon (Lu et al, 2015., Rafiq et al, 2018., Chen et al, 2017., Delgado et al, 2019). Salah satu spesies yang terdapat dalam Genus *Citrus* adalah spesies *Citrus aurantifolia*.

*Citrus aurantifolia* atau jeruk nipis sangat populer dimasyarakat dan banyak dijadikan sebagai obat tradisional untuk mengobati katarak, deman, pilek, sakit

tenggorokan, nyeri dada, sakit kepala dan sakit perut (Apraj et al, 2011). Untuk meningkatkan nilai ekonomis jeruk nipis maka perlu dilakukan inovasi salah satunya sebagai antibakteri.

Pada penelitian ini sampel jeruk nipis (*C. aurantifolia*) melalui proses maserasi menggunakan pelarut etanol dan sonikator. Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan analisis bakteri dengan menggunakan metode *colony counter*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* dengan metode *colony counter*.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), bakteri *Bacillus cereus*, bakteri *Escherichia coli*, media *nutrient agar*, media *nutrient broth*, *n*-heksana, natrium klorida (NaCl) fisiologis dan etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH).

Alat-alat yang digunakan adalah inkubator type 300-OOAB evaporator type RV 10 digital V, neraca analitik, alat-alat gelas, *colony counter XK97*, *autoclave*, *laminary flow LC-1500*, oven UN110, *shaker waterbath*, dan lemari pendingin.

### Prosedur

#### *Ekstraksi Sampel Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia)*

Sampel jeruk nipis *C. aurantifolia* sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam wadah kemudian rendam menggunakan pelarut etanol selama 3 x 24 jam. Hasil perendaman kemudian disonikator selama 30 menit dengan frekuensi 20 Hz. Sampel diuapkan menggunakan evaporator vakum putar pada suhu 40°C (Toy, 2015) hingga memperoleh ekstrak kental sebanyak 100 gr.

#### *Uji Fitokimia (Terpen)*

Sebanyak 0,1 gram atau 3 tetes filtrat di teteskan ke plat tetes kemudian di tambahkan pereaksi Libermann- Bourchard (LB). Amati perubahannya.

#### *Pembuatan Media Padat dan Cair*

Pada pembuatan media terlebih dahulu dilakukan sterilisasi kering pada alat-alat yang digunakan selama ± 1 jam pada suhu 170°C sedangkan sterilisasi basah pada *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C (Toy, 2015).

Pada media padat NA, dibuat dengan timbang 2,5 gr kemudian tambahkan 100 mL H<sub>2</sub>O hangat dalam wadah Erlenmeyer. Tahap selanjutnya disterilkan dalam *autoclave*. Sedangkan media cair NB, dilakukan dengan 0,8 gr NB kemudian tambahkan 100 mL H<sub>2</sub>O hangat dalam wadah Erlenmeyer. Tahap selanjutnya dilakukan sterilisasi dalam *autoclave* (Hafizah, 2015).

#### *Peremajaan dan Pembuatan Bakteri (Bacillus. Cereus dan E. Coli)*

Penelitian ini menggunakan dua bakteri uji yaitu gram positif (*B. cereus*) dan gram negatif (*E. coli*). Biakan murni masing-masing bakteri diambil sebanyak 1 ose untuk selanjutnya dilakukan peremajaan. Bakteri 1 ose tersebut dipindahkan ke dalam cawan petri kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Tahap selanjutnya, bakteri hasil peremajaan dibuat larutan stoknya dengan ambil 1 ose pada media pada kemudian dipindahkan ke media cair. Media cair yang telah disuspensikan bakteri dilakukan inkubasi selama 24 jam. Adanya kekeruhan pada media cair menunjukkan pertumbuhan bakteri.

**Analisis Koloni menggunakan Colony Counter**

Hasil biakan bakteri diambil 1 ose kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri dan dilakukan inkubasi selama 24 jam. Keluarkan cawan petri dari inkubator. Jumlah koloninya kemudian dihitung menggunakan *Colony counter*. Mengaktifkan *Colony counter* kemudian letakkan cawan petri dalam posisi terbalik di atas kaca hitung. Secara otomatis, alat akan menghitung jumlah koloni bakteri dalam cawan petri.

**Analisis Senyawa menggunakan Kromatografi Gas Spektroskopi Massa**

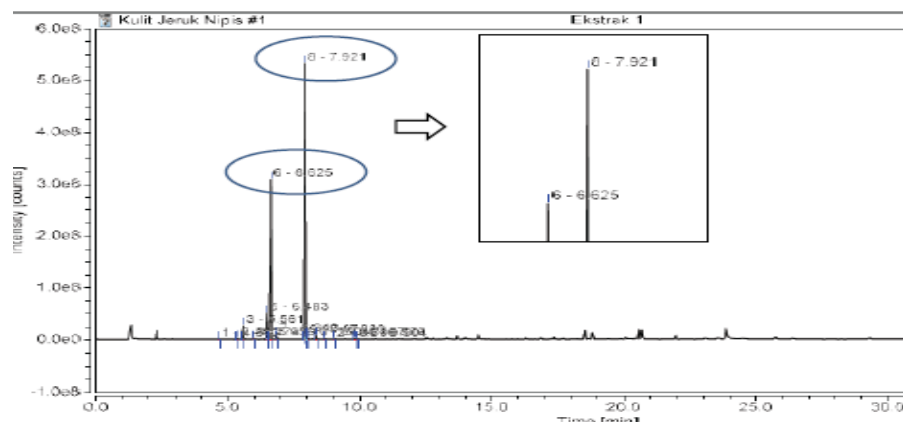
Sampel ekstrak etanol *C. aurantifolia* dilarutkan dengan etil asetat sebanyak 1 mL. Setelah homogen, sebanyak 1  $\mu$ L sampel diinjeksikan ke dalam KGSM. Tunggu beberapa saat hingga terbaca puncak grafik pada monitor.

**HASIL DAN PEMBAHASAN****Analisis Kandungan Senyawa Kulit Jeruk Nipis (*C. aurantifolia*)**

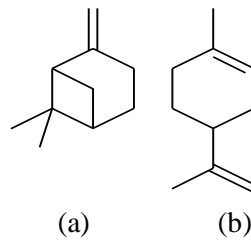
Sampel kulit jeruk nipis (*C. aurantifolia*) diekstraksi menggunakan pelarut etanol selama 3 x 24 jam pada suhu ruang dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 100 g. Pelarut etanol yang digunakan dapat melarutkan hampir semua senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel.

Ekstrak kental tersebut kemudian di uji Fitokimia dengan menggunakan pereaksi Libermann- Bouchard (LB). diperoleh perubahan warna kuning kehijauan menjadi ungu. Warna ungu menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol kulit jeruk nipis *C. aurantifolia* terdapat senyawa terpen.

Berdasarkan hasil analisis senyawa menggunakan Kromatografi Gas Spektroskopi Massa (Gambar 1) terdapat dua puncak yang kelimpahannya cukup tinggi yaitu pada waktu retensi 6,625 dan 7,921 berturut-turut adalah senyawa  $\beta$ -pinen dan D-limonen (Gambar 2). Senyawa D-limonen merupakan senyawa mayor yang terdapat pada sampel kulit jeruk nipis (*C. aurantifolia*) yang ditunjukkan nilai *relative area* yang cukup tinggi sebesar 56,14%.



**Gambar 1.** Spektrum Senyawa Terpen ( $\beta$ -pinen dan D-limonen ) Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*C. aurantifolia*)



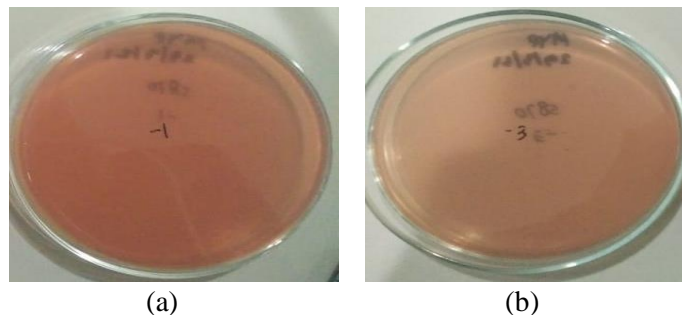
**Gambar 2.** Struktur Senyawa  $\beta$ -pinen (a) dan (b) D-limonen

### Uji Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*C. aurantifolia*) terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*

Pada penelitian ini, sampel ekstrak kulit jeruk nipis dilakukan kontak uji terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode *colony counter*. *Colony counter* dilengkapi dengan lup yang digunakan untuk memperbesar bakteri yang terdapat dalam cawan petri kemudian dilakukan penandaan untuk menghitung jumlah bakteri yang hidup. Untuk memudahkan menghitung koloni yang berjumlah ratusan pada metode ini perhitungan dapat dilakukan dengan cara menghitung hanya seperempat pada bagian preparat dengan hasil perhitungan jumlah perhitungan tersebut dikalikan empat (Wijaya et al, 2015).

**Tabel 1.** Perhitungan bakteri menggunakan *colony counter*

No.	Parameter	Satuan	Hasil
1.	<i>Bacillus cereus</i>	APM/g	0
2.	<i>Escherichia coli</i>	APM/g	< 3,0



**Gambar 3.** Hasil analisis bakteri *B. cereus* (a) dan *E.coli* menggunakan *colony counter*

Hasil perhitungan bakteri menggunakan *colony counter* (Tabel 1 dan Gambar 3) menunjukkan bahwa bakteri *B. cereus* dan *E. coli* berturut-turut adalah 0 APM/g dan <3,0 APM/g. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*C. aurantifolia*) memiliki potensi untuk dijadikan sebagai agen antibakteri. Semakin kecil hasil pengukuran yang diperoleh maka semakin kuat senyawa bioaktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Ekstrak kulit jeruk nipis (*C. aurantifolia*) mengandung senyawa terpen yaitu D-limonen dan  $\beta$ -pinen. Senyawa terpen aktif dalam melawan bakteri. Mekanisme kerja senyawa terpen dalam sel bakteri dengan pemecahan membran yang dilakukan oleh sisi-

sisi aktif yang bersifat lipofilik. Selain itu, senyawa terpen memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yaitu hidrofilik.

*E.coli* merupakan salah satu bakteri yang bersifat gram negatif dan sifatnya tidak mudah resisten terhadap senyawa antimikroba (Seko et al, 2021). Sel bakteri gram negatif terdapat lapisan yang berfungsi sebagai selektor terhadap zat-zat asing yang masuk, lapisan itu dikenal dengan lipopolisakarida. Kesulitan senyawa antimikroba masuk ke dalam sel bakteri gram negatif disebabkan karena struktur dinding selnya yang relatif kompleks. Lapisan pertama berupa lipoprotein, lapisan kedua berupa lipopolisakarida dan lapisan terakhir berupa peptidoglikan. Itulah sebabnya hasil analisis bakteri *E. coli* lebih tinggi dibanding *B. cereus* yang artinya masih adanya pertumbuhan bakteri. Sedangkan bakteri *B. cereus* merupakan bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam dan menemukan sasaran untuk bekerja (Seko et al, 2021). Hal ini terbukti dari hasil analisis menggunakan *colony counter* masih terdapat adanya pertumbuhan bakteri.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis (*C. aurantifolia*) memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *E.coli* berturut-turut 0 APM/g dan <3,0 APM/g. Hal ini disebabkan karena terdapat senyawa bioaktif seperti  $\beta$ -pinen dan D-limonen pada ekstrak kulit jeruk nipis (*C. aurantifolia*).

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemenristek Dikti atas dana hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) yang telah diberikan dan terima kasih kepada Universitas Teknologi Sulawesi yang telah memberikan informasi sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

### DAFTAR PUSTAKA

- Al-Aamri Maha S, Nour M. Al-Abousi, Sausan S. Al-Jabri, Tanveer Alam, Shah A. Khan. (2018). Chemical Composition and *in-vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Citrus aurantifolia* L. leaves Grown in Eastern Oman. Journal of Taibah University Medical Sciences. 13(2): 108-112.
- Al-Snafi AE, Thuwaini MM. (2017). Arabian Medical Plants with Hepatoprotective Activity.
- Apraj V, Thakur ND, Bhagwat A, Mallya R, Sawant L, Pandita N. (2011). Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle Peel. Pharmacogenomics J. 3: 70-76.
- Ballistreri G, Fabroni S, Romeo FV, Timpanaro N, Amenta M, Rapisarda P. (2019). Anthocyanins and Other Polyphenols in *Citrus* Genus : Biosynthesis, Chemical Profile, and Biological Activity. In : Polyphenols in Plants. Elsevier. 191-215.
- Chen MH, Yang K M, Huang TC, Wu M L. (2017). Traditional Small-Size Citrus from Taiwan: Essential Oils, bioactive Compounds and Antioxidant Capacity. Medicine. 4: 28.

- Delgado A M, Issaoui M, Chemmen N. (2019). Analysis of Main and Healthy Phenolic Compounds in Foods. J. AOAC Int. 102: 1356-1364.
- Dosoky N, Setzer W. (2018). Biological Activities and Safety of *Citrus* spp. Essential Oils. Int. J. Mol. Sci. 19, 1996.
- Fattore M, Montesano D, Pagano E, Teta R, Borrelli F, Mangoni A, Albrizio S. (2016). Carotenoid and Flavonoid Profile and Antioxidant Activity in “Pomodoro Vesuviano” tomatoes. J. Food Compos. Anal. 53: 61-68.
- Hafizah, Indria. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumpun Laut (*Eucheuma sp*) pada berbagai Tingkat Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. FK UHO. 64-70.
- Ladaniya MS. (2008). Nutritive and Medical Value of Citrus Fruits. In : Citrus Fruit. Elsevier. 501-14.
- Lu X, Zhao S, Ning Z, Zeng H, Shu Y, Tao O, Xiao C, Lu C , Liu Y, (2015). Citrus Fruits as a treasure Trove of Active Natural Metabolites that Potentially Provide Benefits for Human Health. Chem Cent. 9: 68.
- Rafiq S, Kaul R, Sofi S A, Bashir N, Nazir F, Nayik G A. (2018). Citrus Peel as A Source of Functional Ingredient : A Review. J Saudi Soc. Agric. Sci. 17: 351-358.
- Seko Mami H, Alan Ch. Sabuna, James Ngginak. (2021). Ekstrak Etanol Daun Ajeran Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Jurnal Biosains. 7(1): (1-9).
- Toy, Tora. (2015). Uji Daya Hambat Ekstrak Rumpun Laut *Gracilaria sp* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. e-Gigi.3(1): 153-159.
- Wijaya Raden Candra, Ervita Lusiana Utari, Yudianingsih. (2015). Perancangan Alat Perhitungan Bakteri. Jurnal Teknologi Informasi, Vol. X. No. 29.