

SKRINING FITOKIMIA DAN EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Fitriyanti^{1*}, Meryatul Zannah², Muhammad Nazarudin³

^{1,2}Fakultas Farmasi, Universitas Borneo Lestari

³Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Borneo Lestari

*Korespondensi: fitriyantihudari@gmail.com

Diterima: 13 Februari 2024

Disetujui: 25 Februari 2024

Dipublikasikan: 29 Februari 2024

ABSTRAK. Daun jeruk purut memiliki kandungan flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji daya hambat ekstrak daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) terhadap *Staphylococcus aureus*. Ekstrak daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) diperoleh dari proses maserasi dengan etanol 70% selanjutnya divariasi konsentrasinya, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Uji aktivitas metode pengujian secara difusi sumuran menggunakan media Mueller Hinton Agar (MHA). Hasil menunjukkan ekstrak etanol 70% daun Jeruk Purut dengan konsentrasi 80% dan 100% memiliki aktivitas antibakteri paling baik dengan kategori sangat kuat yaitu dengan rata-rata zona hambat sebesar 19,827 mm dan 20,831 mm terhadap *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 60% diperoleh zona hambat dalam kategori kuat. Konsentrasi efektif ekstrak etanol 70% daun Jeruk Purut jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu Tetrasiklin untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* adalah pada konsentrasi 80% dan 100% yang tergolong sangat kuat.

Kata kunci: Jeruk Purut, etanol 70%, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT. Lime leaves contain flavonoids, saponins, triterpenoids and tannins which can be efficacious as an antibacterial. This study aimed to determine the inhibitory test of the extract of lime (*Citrus hystrix* D.C) against *Staphylococcus aureus*. *Citrus hystrix* D.C leaves extract obtained from maceration process with 70% ethanol, then the concentration is varied, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. Activity test of Sumuran diffusion testing method by using the Mueller Hinton Agar (MHA) media. The results showed that 70% ethanol extract of lime with 80% and 100% concentration had the best antibacterial activity and the very strong category with a 19,827 mm and 20,831 mm average inhibition zone against *Staphylococcus aureus*, while at a 10%, 20%, 40%, and 60% concentration of obtained inhibition zones in the strong category. The 70% ethanol extract effective concentration of the lime leaves if it was compared to the positive control, Tetracycline, to inhibit the growth of *S. aureus* bacteria was at a 80% and 100% concentration which was classified as very strong.

Keywords: Lime, 70% ethanol, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama yang meresahkan bagi manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *S.aureus* sepanjang hidupnya, tipe infeksi pun bermacam-macam mulai dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan sampai infeksi berat yang mengancam jiwa. *S.aureus* merupakan bakteri Gram positif yang terdapat pada kulit, hidung, mulut, selaput lendir,

bisul, dan luka (Miranti, 2009; Jawetz & Melnick, 2017)

Salah satu alternatif sumber antibiotik adalah dari bahan alam. Penggunaan obat alami sebagai obat tradisional dipercaya cukup efektif dan aman karena kurang menimbulkan efek samping dan harganya relatif lebih murah, salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat adalah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C). Jeruk purut merupakan tanaman yang tumbuh pada

daerah tropis dan tersebar luas di Asia bagian selatan. Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun jeruk purut mengandung senyawa kimia fenol, flavonoid, dan terpenoid (Zuhria *et al.*, 2017). Sedangkan pada penelitian (Sari & Ayati, 2018; Aprilyanie *et al.*, 2023) hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% daun jeruk purut menunjukkan adanya senyawa fenol, saponin, dan flavonoid dan pada ekstrak metanol daun Jeruk Purut positif mengandung flavonoid, saponin, dan steroid (Fitriyanti *et al.*, 2020)

Senyawa-senyawa yang terdapat dalam daun jeruk purut tersebut berfungsi sebagai antibakteri (Miftahendarwati, 2014). Menurut penelitian (Abirami *et al.*, 2013) pengujian tentang daun jeruk purut terhadap bakteri *S. aureus* dengan ekstrak metanol hasilnya terbukti memiliki aktivitas sedang dengan zona hambat yaitu 100 mm. Sedangkan pada penelitian (Dhavesia, 2017) ekstrak metanol daun jeruk terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 14,15 mm memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori kuat. Penelitian (Miftahendarwati, 2014) menyatakan antibakteri ekstrak etanol 96% daun jeruk purut terhadap bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 25% didapat 9,37 mm.

METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu autoklaf, inkubator, *laminar air flow*, *magnetic stirrer*, oven, *rotary evaporator*, dan *waterbath*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun jeruk purut yang sudah diekstrak, asam asetat anhidrat, etanol 70%, media Nutrient Agar (NA), media Mueller Hinton Agar (MHA), NaCl fisiologis 0,9%, Na-CMC 0,5% , serbuk magnesium, FeCl₃, HCl, aquadest, reagen Mayer, Wegner, standar Mc Farland, H₂SO₄, biakan bakteri *S.aureus*, dan cakram uji antibiotik Tetrasiklin.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

Pengolahan Sampel

Daun jeruk purut diambil sebanyak 2 kg. Dibersihkan dengan cara dicuci dengan air

mengalir, kemudian dipotong-potong halus. Ditimbang sebanyak 500 g daun jeruk purut, kemudian dimasukkan ke dalam bejana dan dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 2 L dan dibiarkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali sampai didapatkan filtrat. Filtrat kemudian di evaporasi dengan menggunakan rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak setengah kental dan dilanjutkan dengan waterbath pada suhu 50°C untuk memperoleh ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,5g diletakkan dalam cawan porselen, ditambahkan 5 ml HCl, diaduk dan kemudian didinginkan pada temperatur ruangan. Kemudian dipisahkan menjadi 2 bagian, pada tabung 1 ditambah pereaksi Mayer, apabila terbentuk endapan putih positif alkaloid, sedangkan pada tabung 2 ditambah pereaksi Dragendroff, apabila terbentuk endapan kuning hingga positif alkaloid (Pratima dan Shaille, 2012).

Uji Saponin

Ekstrak diambil 0,1 g masukan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan akuades panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih tidak kurang dari 10 menit, ditambahkan 1 tetes HCl 2 N jika buih tidak hilang maka ekstrak pekat daun jeruk purut tersebut positif adanya saponin (Riskha *et al.*, 2016).

Uji Flavonoid

Sebanyak 3 mL sampel ekstrak ditambahkan 5 ml etanol 70% kemudian dipanaskan sebentar lalu disaring. Filtrat diambil dan ditambahkan Magnesium bubuk kemudian ditetesin HCl 2N. Jika terjadi perubahan warna kuning sampai merah menunjukkan hasil yang positif (metode Wilstater)

Uji Tanin

Ekstrak daun Jeruk Purut dilarutkan dalam 1-2 ml etanol dan ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Nurjannah *et al.*, 2022).

Uji Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak Daun Jeruk Purut di ambil 0,5 g ditambahkan asam asetat sampai semua sampel terendam, dibiarkan selama 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Jika positif steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru sedangkan warna merah, merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Nurjannah *et al.*, 2022).

Sterilisasi Alat

Semua alat kaca yang bervolume dan yang berbahan karet disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121oC selama 15 menit. Sedangkan alat-alat seperti cawan petri, kaca arloji, spatula, pinset disterilkan dengan oven pada suhu 180oC selama 1 jam. Kemudian pada kertas saring disterilkan menggunakan oven pada suhu 120°C selama 30 menit (Maimunah *et al.*, 2020).

Inokulasi Bakteri

Bakteri uji diambil dengan ose steril, lalu ditanamkan pada media agar dengan cara menggores. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37oC selama 24 jam (Maimunah *et al.*, 2020).

Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji dengan cara mengencerkan ekstrak daun jeruk purut menjadi beberapa kelompok konsentrasi. Konsentrasi yang digunakan antara lain 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Pembuatan 1 ml ekstrak etanol 70% daun jeruk purut 10% dibuat dengan cara timbang sebanyak 0,1 g dari ekstrak daun jeruk purut kemudian ditambahkan Na- CMC 1 m. Perlakuan yang sama dilakukan untuk membuat konsentrasi yang lain. Masing-masing 0,1 g; 0,2g; 0,4g; 0,6 g; 0,8 g; dan 1 g kemudian ditambahkan Na-CMC 0,5% pada masing-masing ekstrak tersebut sampai 1 ml sehingga didapatkan variasi konsentrasi (Fitriyanti *et al.*, 2022)

Uji Efektivitas Antibakteri Dengan Metode Sumuran

Tiga cawan petri yang sudah diinokulasi *S. aureus*, 3 cawan petri dibagi menjadi 3 bagian bawahnya dan masing- masing sumuran yang telah

dibuat, diletakan ekstrak berbagai konsentrasi, 1 cawan petri dibagi menjadi 2 bagian untuk kontrol positif dan negatif. Masing-masing dilakukan 4 kali replikasi. Ekstrak Daun Jeruk Purut dengan berbagai konsentrasi kemudian dituang ke dalam sumuran sebanyak 20 µL pada media MHA yang telah dilakukan inokulasi bakteri dengan menggunakan mikropipet, kemudian cawan petri dimasukan kedalam kulkas selama 24 jam agar senyawa berdifusi pada media. Lalu diinkubasi kedalam inkubator pada suhu 37°C 24 jam. Setelah itu diukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Setelah didapatkan hasil dari zona hambat kemudian di lanjutkan dengan analisis data (Fitriyanti *et al.*, 2022)

HASIL

Determinasi

Hasil determinasi yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Citrus hystrix* D.C dengan nomor sertifikat 146/LB.LABDASAR/XI/2018.

Pengolahan Sampel

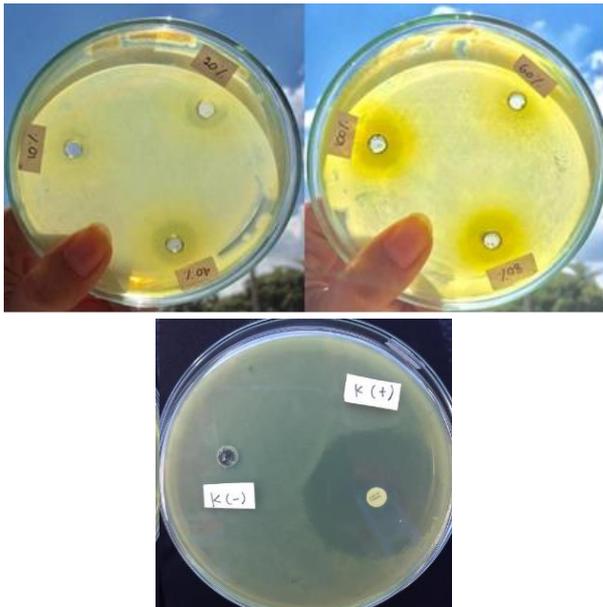
Serbuk simplisia daun Jeruk Purut kering sebanyak 500 gram diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan simplisia : pelarut (1:4) dengan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi kemudian diuapkan dengan rotary evaporator sampai terpisah dengan pelarutnya, kemudian diuapkan dengan waterbath sampai didapatkan bobot tetapnya yaitu 83,64 gram dengan presentase randemen 16,728%.

Pengujian Skrining Fitokimia

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun Jeruk Purut terbukti positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin.

Uji Antibakteri

Hasil pengujian ekstrak etanol 70% daun jeruk purut terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada gambar dan tabel 1.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri

Tabel 1. Hasil pengujian ekstrak etanol 70% daun jeruk purut terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus*

Konsentrasi sampel	Rata-rata (mm) ± Standar	Kategori
100%	20,831 mm±1,900	Sangat Kuat
80%	19,827 mm±1,900	Sangat Kuat
60%	18,07 mm±1,833	Kuat
40%	16,815 mm±1,505	Kuat
20%	15,058 mm±0,819	Kuat
10%	11,796 mm±2,069	Kuat
Kontrol Positif	48,857 mm±0,579	Sangat Kuat
Kontrol Negatif	0	Tidak Ada

PEMBAHASAN

Determinasi

Tanaman daun Jeruk Purut yang digunakan dalam penelitian ini sudah dilakukan determinasi di Laboratorium Dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Determinasi ini dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian.

Pengolahan Sampel

Pada penelitian ini, bahan uji yang digunakan adalah daun Jeruk Purut (*C. hystrix* D.C) yang diperoleh di daerah Cempaka, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Daun Jeruk Purut (*C. hystrix* D.C) disortasi basah yaitu memisahkan daun jeruk purut dari bagian tumbuhan lain, kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya. Kemudian daun jeruk purut yang sudah terkumpul lalu dicuci untuk

menghilangkan bagian yang melekat. Pencucian dilakukan dengan air yang mengalir, kemudian ditiriskan, dan dijemur dibawah sinar matahari pada pukul 08.00 – 10.00 wita.

Simplisia yang telah kering disortasi kering yaitu dengan memisahkan benda-benda asing seperti pengotoran-pengotoran lain yang terjadi pada saat pengeringan, setelah disortasi ditimbang kembali. Simplisia kering selanjutnya diserbuk dengan menggunakan blender kemudian diayak dengan mesh 60. Ditimbang simplisia yang telah diayak, kemudian serbuk simplisia disimpan dalam plastik untuk mencegah kelembapan dan pengotoran lainnya sebelum diekstraksi (Miftahendarwati, 2014). Simplisia yang sudah menjadi serbuk ditimbang dan diperoleh sebanyak 500 gram.

Proses selanjutnya adalah pembuatan ekstrak, dimana dipilih pelarut berupa etanol 70%. Pemilihan pelarut ini karena etanol 70% lebih polar dibandingkan etanol 95% atau 96%, selain itu etanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menarik senyawa polar dan semipolar seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Riwanti *et al.*, 2020).

Uji Antibakteri

Pada penelitian ini ada berbagai konsentrasi ekstrak daun Jeruk Purut yang digunakan selama penelitian dan akan dibandingkan dengan kontrol positifnya yaitu tetrasiklin dan kontrol negatifnya Na CMC. Konsentrasi daun Jeruk Purut antara lain yaitu 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Pada konsentrasi 10% didapat rata-rata zona hambatnya sebesar 11,796 mm, pada konsentrasi 20% didapat rata-rata zona hambat sebesar 15,058 mm, pada konsentrasi 40% didapat rata-rata zona hambat sebesar 16,815 mm, sedangkan pada konsentrasi 60% didapat rata-rata zona hambat sebesar 18,07, pada konsentrasi 80% didapat rata-rata zona hambat sebesar 19,827 mm, dan konsentrasi 100% didapat rata-rata zona hambat sebesar 20,831 mm. Sedangkan rata-rata zona hambat pada kontrol positif yaitu tetrasiklin sebesar 43,671 mm. Pada penelitian ini konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 60% dikategorikan zona hambat nya kuat, sedangkan pada konsentrasi 80% dan 100% dikategorikan sangat kuat. Hasil tersebut

menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun Jeruk Purut memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* tetapi tidak lebih poten dibandingkan dengan kontrol positifnya yaitu tetrasiklin.

Zona hambat yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun Jeruk Purut berkaitan dengan hasil uji skrining fitokimia yang diperoleh. Pada hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol 70% daun jeruk purut positif mengandung beberapa senyawa yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid yang berperan sebagai antibakteri. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Miftahendarwati, 2014). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri *et al*, 2013). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al*, 2009).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan :

1. Kandungan senyawa aktif dari ekstrak etanol 70% daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) pada penelitian ini adalah flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid.
2. Ekstrak etanol 70% daun Jeruk Purut efektif menghambat bakteri dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60% dengan rata-rata zona hambat sebesar 11,796 mm; 15,058 mm; 16,815 mm; 18,07 yang dikategorikan kuat, sedangkan pada konsentrasi 80% dan 100% dengan rata-rata zona hambat sebesar 19,827 mm dan 20,831 mm yang dikategorikan sangat kuat

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Universitas Borneo Lestari yang telah memfasilitasi untuk tempat penelitian ini.

REFERENSI

- Abirami, A., Nagarani, G., Sidhhuraju. 2013. Antimicrobial Activity of Crude Extract of *Citrus Hystrix* and *Citrus Maxima*. Bharathiar University India. *Int J Pharm Sci Res.*4:1-5.
- Aprilyanie, I, Virsa H, Rezki A.S. 2023. Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Makassar Natural Product Journal.* 1(1) : 1-9
- Arumugam A, Gunasekaran N, Perumal S. 2013. Antimicrobial Activity Of Crude Extract Of *Citrus hystrix* and *Citrus Maxima*. *IJPSR.* 4 : 1-5
- Dhavesia, V. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermis*. *Skripsi.* Universitas Atma Jaya Yogyakarta Fakultas Teknobiologi. Yogyakarta
- Fitriyanti, Syaid N.A, Karunita I.A. 2022. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol 96% Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Borneo Journal of Pharmascientech.* 6 (2) : 134-138.
- Fitriyanti, Muhammad Hafizudin, Muhammad Nazarudin. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* (D.C)) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina,* 5(1): 37-43.
- Jawetz, A & Melnick. 2017. *Medical Microbiology, 27 ED,* Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Maimunah S, Raihana, Yosy C. E. S. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus.* 6 (2): 129-138.
- Miftahendarwati, 2014. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Skripsi.* Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin Makassar. Makassar.

- Miranti, L. 2009. Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan Basis Salep Larut Air terhadap Sifat Fisik Salep dan Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nuria, C. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcus* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* , *Escherechia coli* dan *Salmonela thypi*. Jurnal Uji Antibakteri. 5 : 10-12
- Nurjannah, I, Baiq A.A.M, & Novia S. 2022. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Dan Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri. SPIN : Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia. 4 (1) : 23-34.
- Pratima A.N., Shailee T. 2012. Ethosomes: A Novel Tool for Transdermal Drug Delivery *IJRPS*. 2 : 1-20.
- Riska, C. A., Frida, O., dan Risa. N. 2016. Uji Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. JKS 1 : 1-5
- Riwanti P, Farizah I, Amaliyah. 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *J-Pham*. 2(2) : 82-95.
- Sari A.K & Ayati R. 2018. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Metode DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). JCPS. 1(2) : 69-74.
- Zuhria, K. H., Danimayostu, A. A., dan Iswarin, S. J. 2017. Perbandingan Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Bentuk Liposomnya. Majalah Kesehatan FKUB. 4 : 59-82