

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI KULIT BUAH JERUK KALAMANSI (*Citrus microcarpa* Bunge.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*.

Giovani Debora Kindangen¹⁾ Widya Astuty Lolo¹⁾, Paulina V. Y. Yamlean¹⁾
¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA Unsrat Manado, 95115

ABSTRACT

Kalamansi orange (Citrus microcarpa Bunge.) was used as a food ingredient by the community but its efficacy as an antibacterial is unknown. Based on the literature, the main content of citrus fruit skin is essential oil. Essential oils can inhibit or kill bacterial growth. The aim of this study was to determine the antibacterial activity of essential oils of citrus peel against the bacteria Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Antibacterial activity testing used the diffusion agar method by means of wells, with extract concentrations of 5%, 25%, 50%, and 100%. The results showed that essential oils of citrus fruit peel had a diameter of up to 11.16 mm against Staphylococcus aureus and 13.33 against Escherichia coli.

Keywords: *Kalamansi Orange, Antibacterial, Essential Oils, Staphylococcus aureus, Escherichia coli*

ABSTRAK

Jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.) digunakan sebagai bahan makanan oleh masyarakat tetapi belum diketahui khasiatnya sebagai antibakteri. Berdasarkan literatur, kandungan utama kulit buah jeruk kalamansi ialah minyak atsiri. Kandungan minyak atsiri dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pengujian aktivitas antibakteri digunakan metode difusi agar dengan cara sumuran, dengan konsentrasi ekstrak 5%, 25%, 50%, dan 100%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi memiliki diameter hingga rata-rata 11,16 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan 13,33 pada *Escherichia coli*.

Kata Kunci : Jeruk Kalamansi, Antibakteri, Minyak Atsiri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Pemanfaatan kekayaan alam di Indonesia khususnya tumbuh-tumbuhan telah dilakukan dalam bentuk pembuatan bumbu masak, bahan kerajinan dan obat tradisional. Sebagian besar tanaman berpotensi sebagai obat, namun beberapa diantaranya belum diketahui dengan pasti karena belum terbukti secara klinis. Pengembangan tanaman obat telah banyak dilakukan karena mudah diperoleh dan mempunyai harga lebih ekonomis serta efek samping yang relatif lebih kecil bahkan dibandingkan dengan obat sintetik. Jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.) digunakan sebagai bahan makanan oleh masyarakat tetapi belum diketahui khasiatnya sebagai antibakteri. Berdasarkan literatur, kandungan utama kulit buah jeruk kalamansi ialah minyak atsiri. Kandungan utama kulit buah jeruk ialah pektin dan minyak atsiri. Kandungan pektin dalam kulit buah jeruk berkisar 15 – 25% dari berat kering. Kandungan minyak atsiri dalam kulit buah jeruk sekitar 70 – 92% (Prabasari, 2009). Bagian kulit buah jeruk mengandung minyak atsiri yang terdiri dari berbagai komponen seperti terpen, sesquiterpen, aldehida, ester dan sterol (Copriady, 2005).

Minyak atsiri beberapa tanaman telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Inouye *et al.*, 2001; Pouvova *et al.*, 2008). Aktivitas antibakteri minyak atsiri disebabkan karena minyak atsiri mengandung senyawa yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Komponen minyak atsiri yang mengandung gugus fenol seperti carvacrol berpotensi sebagai antibakteri (Yuksel *et al.*, 2006).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi Manado pada bulan Juni – Desember 2016. Alat yang digunakan dalam penelitian ialah seperangkat alat Destilasi Uap Air, *Erlenmeyer (Approx)*, gelas ukur (*Pyrex*), gelas kimia (*Approx*), tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, penangas air, kaca arloji, timbangan analitik (*Kern*), batang pengaduk, *stirer*, cawan petri (*Normax*), jarum ose, pinset, inkubator, *laminair air flow (Biotek)*, pencadang, *autoklaf (ALP)*, mikropipet (*Ecopipette*), spritus dan mistar berskala. Bahan yang digunakan dalam penelitian ialah Kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa*. Bunge), bakteri uji (*Staphylococcus aureus* ATCC 2592 dan *Escherichia coli* ATCC 25922) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar POM Manado, *Carboxy Methyl Cellulose (CMC)*, aquades steril, tablet Ciprofloxacin 500 mg, *Nutrient Agar (NA)*, H_2SO_4 1%, $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1,175%, $NaCl$ 0,9%, kertas label dan *aluminium foil*. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium, dimana dibuat 6 perlakuan dan setiap perlakuan terdiri atas 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah pemberian konsentrasi minyak atsiri 5%, 25%, 50% dan 100%, kontrol positif (Ciprofloxacin) dan kontrol negatif (CMC). Metode yang digunakan ialah metode difusi agar, dengan cara sumuran.

Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.) yang diambil dari Pasar

Karombasan Kecamatan Wanea Kota Manado. Sampel sebanyak 1 kg buah jeruk kalamansi dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu menggunakan air sampai bersih. Jeruk kalamansi segar dikupas diambil bagian kulit kemudian dipotong kecil-kecil untuk proses isolasi minyak atsiri. Kulit buah jeruk kalamansi yang telah dipotong kecil-kecil kemudian dimasukkan kedalam wadah destilasi,

Isolasi Minyak Atsiri

Kulit buah jeruk kalamansi yang telah dipotong-potong dimasukkan ke dalam wadah alat destilasi uap air. Ditambahkan aquades steril ke dalam wadah destilasi sampai sampel terendam. Destilasi dihentikan jika volume minyak atsiri pada wadah penampung tidak bertambah selama 30-45 menit, warna minyak atsiri yang diperoleh berupa bening jernih berbau dan khas kulit jeruk kalamansi.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit sedangkan untuk jarum ose dan pinset disterilisasikan dengan cara dibakar diatas api langsung menggunakan spritus (Lay dan Hastowo, 1992).

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Kontrol negatif dibuat dari CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 1% dengan cara : ditimbang 1 gram serbuk CMC kemudian dilarutkan dalam aquades steril panas 100 ml. Selanjutnya masukkan dalam labu takar 100 ml dan dikocok sampai larutan homogen.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif dibuat dari sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg. Satu tablet Ciprofloxacin digerus lalu ditimbang 0,05 g, kemudian dilarutkan dalam 50 ml CMC. Diambil 1 ml dari larutan tersebut dan ditambahkan aquades sampai 10 ml sehingga diperoleh larutan Ciprofloxacin dengan konsentrasi 5µg/50µl. Konsentrasi ini digunakan sebagai kontrol positif.

Pembuatan Larutan Uji

- a. Perlakuan 1 : Dibuat larutan uji 5% v/v dengan cara 0,5 ml minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi dilarutkan dalam 9,5 ml CMC dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas.
- b. Perlakuan 2 : Dibuat larutan uji 25% v/v dengan cara 2,5 ml minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi dilarutkan dalam 7,5 ml CMC dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas.
- c. Perlakuan 3 : Dibuat larutan uji 50% v/v dengan cara 5 ml minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi dilarutkan dalam 5 ml CMC dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas.
- d. Perlakuan 4 : Dibuat larutan uji 100% v/v dengan cara 10 ml minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi.

Pembuatan Media

- a. Agar Miring
Nutrient Agar (NA) sebanyak 0,4 gram dilarutkan dalam 20 ml aquades (20 g/1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Dihomogenkan dengan *stirer* diatas penangas air sampai mendidih. Sebanyak 5 ml dituangkan

masing-masing pada 2 tabung reaksi steril dan ditutup dengan *aluminium foil*. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama \pm 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°. Media Agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri (Lay, 1994).

b. Media Dasar

Nutrient Agar (NA) sebanyak 4 gram dilarutkan dalam 200 ml aquades (20g/1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Dihomogenkan dengan *stirer* diatas penangas air sampai mendidih. Media yang sudah dihomogenkan ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu \pm 45-50°C. Media dasar digunakan dalam pembuatan media pengujian sebagai lapisan dasar (Lay, 1994).

c. Media Pembenuhan

Nutrient Agar (NA) sebanyak 5 gram dilarutkan dalam 250 ml aquades (20g/1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Dihomogenkan dengan *stirer* diatas penangas air sampai mendidih. Media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu \pm 45-50°C. Media pembenuhan digunakan dalam pembuatan media pengujian sebagai lapisan kedua (Lay, 1994).

a. Inokulasi Bakteri pada Media Agar Miring

Bakteri uji diambil dengan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

b. Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (Larutan *Mc. Farland*)

Larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml dicampurkan dengan larutan BaCl₂.2H₂O 1,175% sebanyak 0,5 ml dalam erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Bresson dan Borges, 2004).

c. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland*. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

d. Pembuatan Media Pengujian

Media uji dibuat menggunakan metode difusi agar dengan cara tuangkan NA 10 mL kedalam 6 cawan petri untuk lapisan dasar setelah lapisan pertama memadat pada permukaan lapisan dasar diletakkan 6 pencadang (sumuran) yang diatur sedemikian rupa jaraknya agar daerah pengamat tidak saling bertumbuh, kemudian suspensi bakteri dicampurkan ke dalam media pembenuhan NA, setelah itu di

Uji Mikrobiologi

tuangkan 25 mL NA pada setiap cawan petri untuk lapisan kedua. Selanjutnya pencadang (sumuran) diangkat secara aseptik dari cawan petri, sehingga terbentuklah sumur – sumur yang akan digunakan dalam pengujian antibakteri.

e. Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri

lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte *et al.*, 2005). Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter sumuran 7 mm. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis and Stout (1971).

HASIL

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Kategori Kekuatan Daya Antibakteri
	P1	P2	P3		
5%	5	5,5	5	5,16	Sedang
25%	6	6	6,5	6,16	Sedang
50%	7,5	8	8	7,38	Sedang
100%	11	10,5	12	11,16	Kuat
Kontrol (+)	13	15	16,5	14,83	Kuat
Kontrol (-)	0,00	0,00	0,00	0,00	Lemah

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.) terhadap bakteri *Escherichia coli* (*Citrus microcarpa* Bunge.) terhadap bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Kategori Kekuatan Daya Antibakteri
	P1	P2	P3		
5%	6,5	7	7	6,83	Sedang
25%	8,5	9	8,5	8,66	Sedang
50%	9,5	11	10,5	10,33	Sedang
100%	13	13,5	13,5	13,33	Kuat
Kontrol (+)	19	20,5	19,5	19,66	Kuat
Kontrol (-)	0,00	0,00	0,00	0,00	Lemah

PEMBAHASAN

Uji aktivitas antibakteri ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan minyak atsiri dari kulit buah jeruk kalamansi pada dua bakteri uji yaitu bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* yang merupakan bakteri bersifat patogen pada manusia. Konsentrasi minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi yang digunakan pada pengujian ini dilakukan pada konsentrasi 5%, 25%, 50% dan 100% untuk melihat adanya zona bening sebagai aktivitas antibakteri. Komponen minyak atsiri memiliki kandungan senyawa kimia diantaranya yaitu phenyl ethyl alcohol, geraniol, eugenol dan beberapa senyawa lainnya yang terkandung dalam kulit buah jeruk kalamansi berpotensi memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri terlihat dari terbentuknya zona bening disekitar sumuran pada media NA yang telah terdapat bakteri uji dan diperoleh hasil bahwa aktivitas antibakteri kulit buah jeruk kalamansi berbeda-beda pada setiap seri konsentrasi.

Kategori kekuatan daya antibakteri Davis and Stout (1971), kulit buah jeruk kalamansi terhadap pertumbuhan memiliki daya antibakteri sedang sampai kuat pada kedua bakteri uji. Konsentrasi 5%, 25% dan 50%, mempunyai daya antibakteri tergolong sedang, konsentrasi 100% tergolong kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi 5% dan 25% mempunyai daya antibakteri tergolong sedang, konsentrasi 50% dan 100% tergolong kuat pada bakteri *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri dari minyak atsiri tergantung pada komposisi dan konsentrasi minyak atsiri juga tipe dan

konsentrasi dari mikroorganisme target (Kan, 2006).

Semakin besar konsentrasi zat yang terdapat pada cakram akan memperbesar kemampuan difusi zat tersebut pada media sehingga mempermudah penetrasi zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri, menurut Plezar and Chan (1986). Namun perbedaan aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi pada bakteri Gram positif lebih kecil dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hal ini terjadi karena perbedaan permeabilitas struktur dinding sel pada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif yang menyebabkan perbedaan aktivitas antibakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan :

1. Minyak atsiri dari kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*
2. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri dari kulit buah jeruk kalamansi, semakin besar aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan senyawa spesifik, yang memiliki aktivitas antibakteri pada kulit buah Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.)

DAFTAR PUSTAKA

- Bresson, W., dan M.T Borges. 2004. Delivery Methods for Introducing Endophytic Bacteria into Maize. *Biocontrol* 49 : 351-322
- Copriady, J., E.Yasmi dan Hidayati, 2005. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Kumarin dari Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.). *Jurnal Biogenesis*. **2(1)** : 13-15.
- Davis, W.W and T.R. Stout. 1971. Disc Plate Methods of Micobiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. **22(4)**: 659-665
- Inouye, S., Takizawa, T., dan Yamaguchi, H., 2001. Antibacterial activity of *essential oil* and their major constituents against respiratory by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemoterapy*, 47:565-573.
- Kan Yuksel., Uçan, Uçkun Sait., Kartal, Murat., Altun, M.L., Aslan, S., Sayar, E., Ceyhan, T. 2006. GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of Cultivated *Satureja cuneifolia* Ten. Essential Oil. *Turkey Journal Chemitry* 30, 253 – 259.
- Lay, B.W dan Hastowo, S. 1992. Mikrobiologi. IPB, Bogor.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Edisi 1. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Pauvova, D., Kokoskova, B., Pavela, R., 2008. Effectivity of Plant Essential Oils Against *Clavibacter michiganensis*, in Vitro. *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 95, No 3: 440–446.
- Pelczar, M. J., Chan. E. C. S, Pelczar, M. F., Penerjemah: Hadioetomo, R, S.Dkk. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Jilid I. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Prabasari. 2009. Pektin Jeruk. <http://www2.umy.ac.id/2009/02/pektin-perlu-di-kembangkan-indonesia.umy> [Diakses 12 Juli 2017]
- Yuksel, Ucan S.U., Kartal M., Altun L.M., Aslan S, Sayar E, dan Ceyhan T, 2006. GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of Cultivated *Satureja cuneifolia* Ten Essential Oil. *Turk J Chem*, 30 : 253 – 259.