

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DAUN JERUK
MANIS (*Citrus sinensis*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas
aeruginosa***

***Antibacterial Effectiveness Test Of Orange Leaves
Sweet (Citrus Sinensis) Against Pseudomonas Aeruginosa Bacteria***

Hory Iramaya Dilak¹, Mery Fahik², Sarlon Noach³

Program Studi biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas San
Pedro, Kupang 85228 ^{1,2,3}

iramayadillak@gmail.com

Abstrak

Jeruk manis (*Citrus sinensis*) merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki kandungan yang berpotensi dalam bidang kesehatan dan banyak ditemukan di Nusa Tenggara Timur. Tanaman ini memiliki banyak manfaat bagi kesehatan seperti antibakteri yang belum diketahui oleh masyarakat awam dan penelitian tentang aktivitas antibakteri daun jeruk manis terhadap *Pseudomonas aeruginosa* belum dilakukan sehingga penelitian ini dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efektivitas antibakteri ekstrak daun jeruk manis (*Citrus sinensis*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* pada setiap konsentrasi ekstrak. Metode yang digunakan dalam pengujian ini adalah metode difusi cakram untuk pengujian efektivitas antibakteri daun jeruk manis terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian ini ditandai dengan adanya zona bening disetiap kertas cakram pada konsentrasi 25% dengan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 0,79 mm, 50% sebesar 1,06 mm, 75% sebesar 1,66 mm, dan 100% sebesar 1,94 mm, sedangkan kontrol positif tetrasiklin memiliki rata-rata diameter lebih besar dari setiap konsentrasi yaitu 3,74 mm. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa daun jeruk manis kurang efektif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* karena memiliki daya hambat yang lemah.

Kata Kunci: Antibakteri, Daun jeruk manis, *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

Sweet orange (Citrus sinensis) is a type of plant that has potential content in the health sector and is commonly found in East Nusa Tenggara. This plant has many health benefits such as antibacterial which is not yet known by the general public and research on the antibacterial activity of sweet lime leaves against Pseudomonas aeruginosa has not been carried out which is the background. Abstracts written in Indonesian with a maximum of 250 words. Times New Roman, 12, justify text. Abstract contains a brief research background, the novelty and the significance of research, the purpose of

research, a brief research method, a brief results of the research, and conclusions. This study aims to determine the effectiveness of the antibacterial extract of sweet orange leaves (*Citrus sinensis*) against *Pseudomonas aeruginosa* at each concentration of the extract. The method used in this test was the disc diffusion method to test the effectiveness of the antibacterial activity of sweet lime leaves on the growth of *Pseudomonas aeruginosa*. This study was characterized by the presence of a clear zone on each paper disc at a concentration of 25% with an average diameter of the inhibition zone formed by 0.79 mm, 50% by 1.06 mm, 75% by 1.66 mm, and 100% by 1.94 mm, while the positive tetracycline control had an average diameter greater than that of each concentration, namely 3.74 mm. The results of this test indicate that sweet lime leaves are less effective against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria because they have weak inhibition.

Keywords: Antibacterial, Sweet orange leaf extract, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki 30.000 jenis tumbuhan obat yang telah dibuktikan khasiatnya dari 40.000 jenis flora yang tumbuh di dunia. 26% tumbuhan tersebut telah dibudidayakan sebanyak 940 jenis tanaman yang telah digunakan sebagai obat tradisional dan 74% tumbuh liar di hutan (Sari & Andalia, 2019). Keragaman tumbuhan ini merupakan potensi bagi masyarakat dalam memanfaatkan tumbuhan dalam mengobati berbagai penyakit. Pemanfaatan tanaman obat merupakan warisan nenek moyang telah ada sejak dahulu. Pola hidup *back to nature* menjadikan masyarakat menggunakan tumbuhan sebagai obat herbal. Penggunaan tanaman sebagai obat memiliki potensi yang sangat tinggi dari pada penggunaan obat sintesis karena harganya yang terjangkau oleh masyarakat sehingga sebagian besar masyarakat memanfaatkan tanaman sebagai obat herbal karena penggunaan obat tradisional lebih aman serta memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit daripada obat modern (Sumayyah & Salsabila, 2017). Tumbuhan memiliki potensi sebagai tanaman obat karena kandungan fitokimia yang terdapat pada tumbuhan tersebut. Kandungan fitokimia ini yaitu alkaloid, fenol, saponin, tanin, flavoloid dan minyak atsiri. Senyawa fitokimia ini bisa dimanfaatkan untuk mengobati atau menyembuhkan penyakit tertentu (Surahmaida & Umarudin, 2019).

Tumbuhan obat merupakan semua jenis tumbuhan yang dipercaya mempunyai khasiat obat dan menghasilkan satu atau lebih senyawa aktif yang berperan untuk perawatan kesehatan (Tudjuka et al., 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Pentau et al., (2020) terdapat 66 jenis tumbuhan obat ada 40 jenis penyakit yang dapat di sembuhkan menggunakan tumbuhan obat tradisional. Penyakit infeksi adalah penyakit yang dikeluarkan oleh rumah sakit yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*, berbagai penyakit infeksi yaitu dermatitis, otitis eksterna, folikulitis, infeksi pada mata dan pada luka bakar, infeksi pada kulit, mata atau telinga, infeksi pada napas bagian bawah, saluran kemih dan organ lain merupakan berbagai macam infeksi yang ditimbulkan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Unit perawatan penyakit kanker, pravelensi bakteri *Pseudomonas*

aureginosa mencapai lebih dari 30% dari semua penyebab infeksi (Darmawati, 2015). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik yang menyebabkan infeksi nosokomial terutama pada pasien yang mengalami penurunan sistem imun, selain itu juga dapat menyebabkan infeksi pada mata, kulit dan telinga (Vahdani et al., 2012). *Pseudomonas aeruginosa* sangat penting diperhatikan karena merupakan bakteri utama dalam infeksi nosokomial.

Jeruk manis (*Citrus sinensis*) merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki kandungan yang berpotensi dalam bidang kesehatan dan banyak ditemukan di Nusa Tenggara Timur. Tanaman ini memiliki banyak manfaat bagi kesehatan seperti antibakteri yang belum diketahui oleh masyarakat awam. Tanaman ini juga dapat digunakan sebagai antibakteri yang telah dilakukan penelitian oleh peneliti sebelumnya. Bagian tanaman ini yang dimanfaatkan sebagai antibakteri yakni sari buah dan kulit dari tanaman jeruk manis (Setiawan & Retroningrum, 2019). Pemanfaatan daun jeruk manis sebagai antibakteri belum dilakukan maka penulis melakukan penelitian ekstrak daun jeruk manis sebagai antibakteri sebagai bukti objektif kepada masyarakat tentang pemanfaatan daun jeruk manis sehingga dilakukan penelitian ini. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah mengetahui efektivitas antibakteri daun jeruk manis (*Citrus sinensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai informasi bagi masyarakat mengenai manfaat dari daun jeruk manis (*Citrus sinensis*) sebagai antibakteri.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram. Metode difusi cakram menggunakan kertas cakram (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat penampung zat antimikroba. Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan yaitu bulan Oktober-Desember 2021 di UPT Laboratorium Universitas Widya Mandiri Kota Kupang Nusa Tenggara Timur. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Autoclaf, batang pengaduk, cawan petri, gelas beaker, erlenmeyer, *hot plate*, inkubator, jangka sorong, jarum ose, kertas saring, bunsen, *paper disk*, pipet tetes, pipet volume, rak tabung reaksi, spidol, tabung reaksi, timbangan, *waterbath*, dan evaporator. Bahan yang digunakan adalah tetrasiklin, aquades, metanol, NaCl Fisiologis, dan biakan murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Selanjutnya Daun jeruk manis yang masih segar dibersihkan dengan air yang mengalir, lalu ditiriskan. Keringkan dengan cara diangin-anginkan, tanpa terkena sinar matahari langsung selama 2-3 hari. Kemudian daun jeruk manis dihaluskan hingga menjadi serbuk. Sampel daun jeruk manis yang telah kering ditimbang sebanyak 300 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer, selanjutnya tuang dengan 1000 mL metanol. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 24 jam di tempat yang tanpa pemaparan sinar matahari sambil sesekali diaduk, selanjutnya disaring, dipisahkan antara

ampas dan filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak metanol kental.

Sterilisasi alat dan bahan yang digunakan dicuci dan dikeringkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dalam oven dengan suhu 135°C selama 1 jam. Media disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan ose disterilkan pada lampu Bunsen. Pembuatan media nutrient agar (NA) dengan menimbang sebanyak 5 gram, masukkan kedalam tabung reaksi dan campurkan dengan *aquadest* sebanyak 250 mL, panaskan dengan *hot plate* sampai mendidih. Angkat dan sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah steril, angkat dari autoklaf dengan perlahan-lahan dan hati-hati. Dinginkan sejenak sehingga mencapai suhu 45°C, kemudian tuangkan masing-masing kedalam cawan petri sebanyak 15 mL, dan biarkan hingga memadat. Selanjutnya pembuatan stok biakan bakteri dengan membuat media NA 5gr dilarutkan dengan 250 mL *aquadest* dalam erlenmeyer dipanaskan di *hot plate* sambil diaduk hingga larut dan mendidih, kemudian tuang sebanyak 15 mL kedalam tabung reaksi. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media NA dimiringkan membentuk 30-45 °C dan dibiarkan sampai memadat. Ambil satu ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kemudian tanam pada media NA yang sudah memadat dengan cara menggores lalu media ditutup. Media diinkubasi dengan inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

Pengujian dan pengukuran antibakteri dilakukan dengan Sebanyak 15 mL NA dimasukan kedalam tabung reaksi, dinginkan dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Diambil koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari stok kultur bakteri dengan jarum ose, lalu dimasukkan ke dalam 10 mL NaCl steril (sebagai pengenceran 10^{-1}) diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi bakteri 10^{-4} bakteri/mL. Suspensi bakteri ditambahkan dengan standart Mc Farland 10^{-1} CFU/mL (*Colony Forming Unit*). Masukan kertas cakram kedalam ekstrak metanol daun jeruk manis dengan masing-masing konsentrasi (25%, 50%, 75% dan 100%). Angkat perlahan dengan menggunakan pinset, letakkan kertas cakram kedalam cawan petri yang sudah berisi NA dan suspensi bakteri. Setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Hasil inkubasi diamati dengan mengukur diameter zona hambat berupa daerah yang ditumbuhi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan jangka sorong. Kekuatan daya antibakteri diukur berdasarkan penelitian Hapsari (2015) sebagai berikut

Tabel 1. Klasifikasi kekuatan daya antibakteri

Kekuatan Aktivitas Antibakteri	Diameter Zona Hambat(mm)
Lemah	<5 mm
Sedang	6-10 mm
Kuat	11-20 mm

Sangat Kuat

21 mm

Uji perbandingan dilakukan untuk membandingkan kekuatan zona hambat ekstrak daun jeruk manis dan antibiotik. Uji perbandingan dilakukan dengan metode difusi kertas cakram menggunakan tetrasiklin (kontrol positif). Antibiotik *Tetrasiklin* dengan kadar 0,03 g. Kertas cakram dicelupkan kedalam larutan *Tetrasiklin*, kemudian kertas cakram diletakkan diatas media yang telah diisi biakan bakteri dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Data diameter zona hambat dianalisis dengan uji *Analisis Of Variance* (ANOVA) menggunakan excel untuk mengetahui perbandingan rata-rata dari masing-masing perlakuan setiap konsentrasi.

PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena dalam proses maserasi, simplisia daun jeruk manis akan terendam hingga pelarut mengabsorpsi dan melunakkan susunan sel yang menyebabkan zat aktif di dalamnya dapat terlarut. Pembuatan serbuk bertujuan untuk mengecilkan ukuran bahan sehingga memperluas membrane sel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga proses ekstraksi menjadi lebih optimal (Diniatik et al., 2016). Semakin halus serbuk, semakin besar pula kemungkinan sel-sel yang pecah dalam proses ekstraksi. Hal ini akan mempermudah bahan pelarut untuk mengikat kandungan kimia dalam bahan (Octavia, 2019). Hasil maserasi berupa filtrat berwarna hijau kehitaman sebanyak 850 mL. Hasil ekstrak daun jeruk manis diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 68°C sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 18,56 gram berwarna hijau kehitaman. Ekstrak kental yang diperoleh dari daun jeruk manis sebanyak 18,58 gram dengan rendemen 0,15%. Hasil uji efektifitas antibakteri daun jeruk terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2. Diameter zona Hambat Ekstrak Daun Jeruk Manis dan Kontrol Positif terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi Ekstrak daun Jeruk Manis	Diameter Zona Hambat (mm)			Reratadan SD	Kekuatan Daya Hambat
	P1	P2	P3		
25 %	1,14	0,93	0,30	0,79±0,43	Lemah
50 %	1,50	0,76	0,93	1,06±0,38	Lemah
75 %	1,72	1,82	1,45	1,66±0,19	Lemah
100 %	2,28	1,72	1,83	1,94±0,31	Lemah
Tetrasiklin	3,91	3,90	3,41	3,74±0,25	Lemah

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan masing-masing konsentrasi dapat membentuk zona hambat pada media *Nutrient Agar* yang sudah ditumbuhkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu konsentrasi 25% dengan rata-rata ukuran zona hambat yang terbentuk sebesar 0,79 mm, 50% sebesar 1,06 mm, 75% sebesar 1,66 mm, dan 100% sebesar 1,94mm. Dari keempat konsentrasi tersebut terlihat bahwa pada konsentrasi 100% memiliki zona hambat yang lebih besar, hal ini dapat terlihat dari rata-rata zona hambat yang terbentuk yaitu 1,94mm. Hasil ini menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Menurut Rahmawati (2014) menyatakan besar konsentrasi ekstrak yang diberikan akan mempengaruhi besar zona hambat karena dipengaruhi oleh komponen bioaktif yang terkandung didalam ekstrak. Ekstrak daun jeruk manis kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* karena hasil uji diameter zona hambat kecil dan aktivitas antibakteri tergolong lemah. Faktor yang dapat mempengaruhi daya hambat ekstrak lemah yaitu pada pengujian saat mengambil suspensi bakteri dan ekstrak tidak sesuai dengan volume yang ditentukan dan proses homogenisasi kurang homogen sehingga dapat mempengaruhi hasil yang diuji, kepadatan inokulum bakteri, bakteri yang diinokulasi kedalam media dimana mikroorganisme tersebut masih berada pada fase pertumbuhan yang masih sehat (Pelzar& Chan,2008). Kandungan lipid yang lebih tinggi (11%-12%) pada dinding sel bakteri juga dapat mempengaruhi menurunnya permeabilitas dinding sel sehingga dapat mengakibatkan zat antibakteri sulit melakukan penetrasi untuk masuk kedalam sel (Purnama, 2013). Pembanding yang digunakan pada penentuan efektivitas antibakteri dari ekstrak daun jeruk manis adalah antibiotik standar yang biasa digunakan dalam pengobatan sebagai kontrol positif yaitu Tetrasiklin. Respon yang diberikan oleh *Pseudomonas aeruginosa* terhadap ekstrak dan tetrasiklin berbeda. *Pseudomonas aeruginosa* lebih efektif dihambat oleh tetrasiklin dengan diameter zona hambat yang dihasilkan 3,74 mm, dibandingkan dengan ekstrak daun jeruk manis. Hal ini dikarenakan tetrasiklin merupakan antibiotik murni dengan spektrum luas yang dapat menghambat bakteri gram positif maupun gram negatif sedangkan ekstrak merupakan ekstrak kasar yang memiliki campuran berbagai senyawa metabolit sekunder sehingga berpengaruh terhadap kemampuan menghambat bakteri (Muharni *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan tentang uji efektivitas ekstrak daun jeruk manis (*Citrus sinensis*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat disimpulkan sebagai berikut: penelitian yang dilakukan 3 kali ulangan yakni diameter daya hambat ekstrak daun jeruk manis terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yakni konsentrasi 25% dengan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk 0,79 mm, 50% sebesar 1,06 mm, 75% sebesar 1,66 mm dan 100% sebesar 1,94 mm. Berdasarkan hasil penelitian diatas menunjukan bahwa kekuatan aktivitas antibakteri tergolong lemah sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun jeruk manis kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

DAFTAR PUSTAKA

- Darmawati, A., Bawa, I., Suirta, I. (2015). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid pada Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lmk) dan Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Kimia. 9(2): 203-210.
- Fahrurrozi, Irpan. 2014. Keanekaragaman Tumbuhan Obat di Taman nasional Gunung Gede Pangrango dan di Hutan Terfragmentasi Kebun Raya Cibodas Serta Pemanfaatannya oleh Masyarakat Lokal. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah: Jakarta
- Hapsari. (2015). Uji Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*. Skripsi. Pendidikan Biologi Universitas Sanata Dharma: Yogyakarta
- Muharni, M., Fitrya, F., Sofa, F. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatra Selatan. Jurnal Kemarfasian Indonesia. 7(2):127-135.
- Octavia, M., Syukri, Y., Firdaus, F. (2019). Pengembangan Ekspipien Sediaan Tablet dari Pati Singkong Termodifikasi Secara Fisikokimia Untuk Peningkatan Sifat Farmasetiknya. Medical Sains. 3(2): 2548-2114
- Purnama, W.B. (2013). Aktivitas Antibakteri Glukosa Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli*, Naskah Publikasi. Fakultas Farmasi Muhammadiyah Jakarta.
- Pentau, A.S. (2020). Identifikasi Tanaman Obat di Desa Oelomin Kecamatan Nekamese Kabupaten Kupang Provinsi Nusa Tenggara Timur. Skripsi. Program Studi Biologi Universitas San Pedro: Kupang.

- Rahmawati.2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) terhadap Bakteri Penyebab Diare (*Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*). Skripsi. Bandung: Fakultas Matematika dan Ilmu Alam Universitas Islam Bandung.
- Sari, L., & Andalia, N. (2019). Inventarisasi Tumbuhan Obat Di Taman Hutan Kota Banda Aceh. *Jurnal : Serambi Konstruktivis*, 1(1).
- Sartika, D., Herdiana, N., Kusuma, S.N. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit dan Jantung Pisang Muli (*Musa Acuminata*) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Agritech*, 39 (4): 355-363.
- Setiawan, M.A., Retnoningrum, M.D. (2019). Aktivitas Antibakteri Biji Jeruk Manis (*Citrus Sinensis*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Bioeksperimen*, 5(1): 2460-1365.
- Sumayyah, S., Salsabila, N. (2017). Obat Tradisional: Antar Khasiat dan Efek Sampingnya. *Farmasetika*. 2(5):1-4
- Surahmaida., Umarudin. (2019). Studi Fitokimia Ekstrak Daun Kemangi Dan Daun Kumis Kucing Menggunakan Pelarut Metanol. *Indonesian Chemistry And Application Journal (ICAJ)*, 3(1) 2549-2314
- Tudjuka K, S Ningsihn & B Toknok. (2014). Keanekaragaman jenis tumbuhan obat pada kawasan hutan lidung di Desa Tindoli, Kabupaten Poso. *Warta Rimba*, 2(1).
- Vahdani, M., Azimi, L., Asghari, B., Bazmi, F., & A, R.L. (2012). Phenotypic Screening of Extended-Spectrum β -Lactamase And Metallo- β -Lactamase In Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* From Infected Burns. *XXV(June)*,78-81.