

EFEK EKSTRAK JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*, Swingle) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhii*

Diana Mustika Ayu¹, Tessa Sjahriani¹

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun jeruk nipis terhadap bakteri *Salmonella typhii*. Penelitian dilakukan melalui penentuan zona hambatan pertumbuhan dengan metode difusi cakram untuk penentuan kadar hambat minimal (KHM). Daya antibakteri adalah kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Untuk mengetahui daya antibakteri suatu zat, dapat dilakukan uji kepekaan bakteri terhadap zat tersebut secara *in vitro*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk nipis memberikan zona hambatan terhadap bakteri *Salmonella typhii* dengan nilai KHM pada konsentrasi 5%. Ekstrak daun jeruk nipis memberikan rata-rata zona hambat berturut-turut untuk *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 5%; 10%; 15%; 20%; 25%; 50%; 75%; 100% adalah 8,89 mm; 11,81 mm; 13,54 mm; 15,72 mm; 17,09 mm; 18,35 mm; 19,57 mm; 22,13 mm.

Sedangkan pada control positif (Kloramfenikol 30µg) memberikan zona hambat sebesar 40,20 mm. Disimpulkan bahwa ekstrak daun jeruk nipis memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhii* namun tidak lebih baik daripada kontrol positifnya yaitu Kloramfenikol.

Kata kunci : ekstrak daun jeruk nipis, *Salmonella typhii*, antibakteri, zona hambat

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan hayati terbesar di dunia yang memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman. Berbagai tanaman obat dan ribuan tanaman berpotensi obat di Indonesia mengandung beraneka ragam jenis senyawa kimia alami. Berdasarkan penggunaan tradisional dan berbagai penelitian ilmiah, tanaman tersebut memiliki berbagai efek farmakologis dan bioaktivitas penting mulai dari potensi sebagai agen anti penyakit infeksi sampai penyakit degeneratif seperti imunodefisiensi, Hepatitis, arthritis, Stroke, Osteoporosis bahkan kanker. Di sisi lain pengobatan dengan senyawa tunggal (*single entity*) atau senyawa isolat murni maupun sintesis belum memberikan kesembuhan optimal dan paripurna. Maka masyarakat berupaya untuk mencari obat alternatif, terutama dari herbal.¹ Minyak atsiri akhir-akhir ini menarik perhatian dunia, hal ini disebabkan minyak atsiri dari beberapa tumbuhan bersifat aktif biologis sebagai antibakteri dan antijamur, sehingga dapat dipergunakan sebagai bahan pengawet pada makanan dan sebagai antibiotik.² Minyak atsiri dapat menghambat beberapa jenis bakteri merugikan seperti *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, dan *Pasteurella*.³ Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan oleh Normasani (2007), minyak atsiri yang diperoleh dari hasil penyulingan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle.) memiliki aktivitas antibakteri dengan KBM terhadap

Staphylococcus aureus sebesar 0,625% v/v dan *Escherichia coli* sebesar 1,25% v/v.⁴ Maka dilakukan pendekatan kemotaksonomi, karena berasal dari jenis bakteri Gram yang sama dengan *Escherichia coli* yaitu Gram Negatif, diduga bahwa ekstrak dari daun jeruk nipis juga memiliki potensi antibakteri terhadap *Salmonella typhii*. Pada penelitian ini sebelumnya dilakukan uji pendahuluan dengan konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100%, karena pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Normasani (2007) didapatkan KBM 0,625% dan 1,25% maka pada hipotesa diduga ekstrak daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhii* pada range konsentrasi 0-25%. Apakah ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhii*?

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, desain yang digunakan adalah rancangan *post test only design*. Pembuatan ekstrak daun jeruk nipis di Laboratorium FMIPA Kimia Organik Universitas Lampung sedangkan uji antimikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi UPTD Laboratorium Kesehatan Bandar Lampung pada bulan Desember 2012 sampai dengan Februari 2013. Populasi penelitian ini adalah koloni

1. Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati Bandar Lampung

Salmonella typhii. Sampel yang digunakan adalah sampel koloni *Salmonella typhii* dari biakan murni Laboratorium Mikrobiologi UPTD Laboratorium Kesehatan Bandar Lampung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi bakteri *Salmonella typhii*

Pengamatan terhadap isolat bakteri *Salmonella typhii* dilakukan dengan uji identifikasi menggunakan uji TSIA, SIM, SC, dan urea.

Tabel 1.
Hasil Identifikasi Bakteri *Salmonella typhii*

TSIA	Urea	SIM	SC
L/D:M/K	Negatif (-)	Sulfur (+)	Negatif (-)
gas (-)		Indole (-)	
H ₂ S (+)		Motility (+)	

Setelah didapatkan hasil di atas kemudian dibandingkan dengan interpretasi dari WHO tahun 2003 dan disesuaikan dengan sifat-sifat dari bakteri *Salmonella typhi* untuk membuktikan bakteri yang digunakan sesuai atau tidak.

Tabel 2.
Interpretasi WHO 2003⁶

Media	Reaksi / enzim	Hasil	
		Negatif	Positif
TSIA	Produksi asam (jika dasar berwarna kuning dan lereng berwarna merah, maka produksi asam hanya dari glukosa)	Dasar merah	Dasar kuning
	Produksi asam dari laktosa dan atau sukrosa	Lereng merah	Lereng kuning
	Menghasilkan gas	Tidak ada gelembung udara di dasar	Ada gelembung udara di dasar
	Menghasilkan H ₂ S	Tidak ada endapan hitam	Ada endapan hitam
Urea broth	Urease	Warna kuning	Warna pink / merah
Indole	Menghasilkan indole	Cincin kuning	Cincin merah / pink

Dari hasil identifikasi bakteri yang dilakukan, menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi sesuai dengan parameter atau sifat-sifat dari bakteri *Salmonella typhii*. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Salmonella typhii*.

Uji aktivitas bakteri secara *in vitro*

Penelitian ini merupakan uji aktivitas bakteri, dalam hal ini ekstrak daun jeruk nipis terhadap *Salmonella typhi*. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi menggunakan media MHA (*Mueller Hinton Agar*). Aktivitas antibakteri tersebut tampak dengan

terbentuknya zona hambatan yang diukur dengan menggunakan jangka sorong pada kertas cakram. Ekstrak daun menggunakan bahan daun jeruk nipis dari satu macam pohon jeruk nipis yang sedang berbuah, penyimpanan dihindarkan sebisa mungkin dari cahaya dan terjadinya oksidasi, dan disimpan dalam wadah yang kedap untuk meminimalisir penguapan dari minyak atsiri. Sebelum dilakukan penelitian untuk menentukan kadar hambat minimum, diawali dahulu dengan dilakukannya uji pendahuluan dengan menggunakan dosis ekstrak 25%, 50%, 75% dan 100%. Hasil uji pendahuluan terlihat pada tabel 3.

Tabel 3.
Hasil pengukuran diameter zona hambatan yang ditimbulkan oleh ekstrak daun jeruk nipis pada uji pendahuluan

Percobaan	Zona hambat ekstrak daun jeruk nipis (mm)					
	K ⁻	25%	50%	75%	100%	K ⁺
1	0	16,15	17,49	19,79	22,52	40,20
2	0	17,70	18,87	19,82	22,02	-
3	0	17,44	18,68	19,10	21,85	-
Mean	0	17,09	18,35	19,57	22,13	40,20

Zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk nipis terhadap *Salmonella typhi*. Pada uji pendahuluan membuktikan bahwa ekstrak daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri dengan KHM 25%, sehingga dilakukan uji aktivitas kembali untuk menentukan berapa kadar hambat minimum yang diperlukan dengan membagi konsentrasi dengan interval 5% sehingga dilakukan lagi uji daya antibakteri dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%.

Tabel 4.

Hasil pengukuran diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh ekstrak daun jeruk nipis

Percobaan	Zona hambat ekstrak daun jeruk nipis (mm)			
	5 %	10 %	15 %	20 %
1	9,10	12,51	13,32	15,36
2	9,21	10,74	12,65	15,05
3	8,56	12,17	14,44	16,74
Mean	8,89	11,81	13,54	15,72

Tabel 5.

Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan mikroba berdasarkan Greenwood ⁷

Diameter Zona Jernih	Respon Hambat Pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16 – 20 mm	Sedang
10 – 15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

Tabel 2 menunjukkan pada kelompok kontrol (-) tidak terbentuk zona hambat yang berarti kelompok tersebut tidak memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Kelompok larutan ekstrak daun jeruk nipis 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75%, 100% dan kontrol (+) sudah menunjukkan zona hambat yang menunjukkan bahwa kelompok ini memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Zona hambat mulai terbentuk pada larutan ekstrak daun jeruk nipis 5%. Berdasarkan klasifikasi pada tabel 4 zona hambat yang terbentuk tergolong dalam respon hambat kuat pada ekstrak 100% dan Kloramfenikol; sedang pada ekstrak 75%, 50%, 25%; lambat pada ekstrak 20%, 15%, 10%; dan tidak ada pada konsentrasi 5% dan 0%. Dari tabel diatas terlihat hasil dari kelompok perlakuan dengan ekstrak daun jeruk nipis konsentrasi 100% rata-rata zona hambatnya adalah sebesar 22,13 mm. Konsentrasi tersebut memberikan daya hambat terbesar dari aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk nipis. Pada konsentrasi 75%, 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% masing-masing memberikan rata-rata zona hambat sebesar 19,57

mm, 18,35 mm, 17,09 mm, 15,72 mm, 13,54 mm, 11,81 mm, 8,89 mm. Pada kontrol (-) tidak menunjukkan adanya zona hambat.

Uji *Anova One Way* data ekstrak daun jeruk nipis memiliki signifikansi $< 0,05$ dengan keputusan menerima H_0 yang berarti terdapat perbedaan hasil perlakuan antara ekstrak daun jeruk nipis a dengan ekstrak daun jeruk nipis b. Setelah dilakukan uji *Anova One Way*, maka kemudian selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk membuktikan apakah adanya perbedaan hasil antar perlakuan konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis. Terdapat perbedaan yang bermakna pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis baik pada kontrol negatif, konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75%, 100% dan kontrol positif yang dilihat dari nilai p value $< 0,05$.

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri (zona hambatan) terhadap *Salmonella typhi* pada pengulangan 1, 2 dan 3 pada sampel ekstrak daun jeruk nipis. Pada pengolahan data dengan uji *Anova One Way* diketahui bahwa $p < 0,05$ yang menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk nipis memiliki perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan yang satu terhadap kelompok perlakuan yang lain, yakni konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah MHA (*Mueller Hinton Agar*). Hal ini dikarenakan media tersebut merupakan media yang baik untuk tumbuhnya *Salmonella typhi* dalam uji aktivitas daya hambat antibakteri dengan metode difusi cakram dan merupakan standarisasi *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dalam menguji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram. Penelitian Normasani pada tahun 2007 bahwa minyak atsiri yang diperoleh dari hasil penyulingan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) memiliki aktivitas antibakteri dengan KHM terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 0,625% v/v dan *Escherichia coli* sebesar 1,25% v/v. ⁴ Minyak atsiri daun jeruk nipis merupakan salah satu kandungan dari ekstrak daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang termasuk Gram negatif sama seperti *Salmonella typhi* yang penulis teliti. Pada penelitian ini menggunakan ekstrak daun jeruk nipis yang telah diencerkan dengan aquades steril memiliki KHM (Kadar Hambat Minimal) yang lebih kecil dibandingkan dengan hasil dari penelitian Normasani dikarenakan ada perbedaan pengolahan dalam pembuatan sampel.

Normasani menggunakan minyak atsiri daun jeruk nipis yang didapat dari metode penyulingan, sedangkan pada penelitian ini menggunakan ekstrak daun jeruk nipis dari metode maserasi. Selain itu perbedaan jenis bakteri yang diteliti yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* dan pada penelitian Normasani uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode dilusi cair, sedangkan pada

penelitian ini digunakan metode difusi cakram pada media MHA tapi penggunaan metode dilusi cair sudah jarang digunakan karena metode ini memakan waktu, butuh ketelitian yang tinggi dan penggunaannya hanya dibatasi pada keadaan tertentu saja.⁵ Penelitian ini menggunakan sampel ekstrak daun jeruk nipis dari hasil maserasi menggunakan pelarut menguap (etanol 96%).

Kandungan dari ekstrak daun jeruk nipis yang diketahui mempunyai aktivitas antibakteri adalah minyak atsiri dan flavonoid. Prinsip kerjanya yaitu dengan merusak dinding sel. Gugus alkohol pada senyawa flavonoid merusak sel bakteri dengan memanfaatkan perbedaan kepolarannya dengan lipid penyusun sel bakteri.⁸ Pada ekstrak daun jeruk nipis konsentrasi 100% memiliki hambatan pertumbuhan tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi-konsentrasi yang lain dan termasuk dalam repon hambat cepat. Tapi bila dibandingkan dengan kontrol positif yaitu Kloramfenikol, cakram berisi Kloramfenikol menghasilkan daya hambat lebih besar dibandingkan ekstrak daun jeruk nipis konsentrasi 100%.

Sedangkan pada konsentrasi terkecil 5% memiliki hambatan pertumbuhan terendah. Pada pengenceran ekstrak daun jeruk nipis digunakan pengencer aquades steril kemudian terjadi pengurangan zat aktif dari ekstrak sehingga aktivitas antibakterinya berkurang yang dapat ditunjukkan dengan adanya pengurangan zona hambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhii* seiring penurunan konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis. Semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula kandungan zat aktif sehingga aktivitas antibakterinya akan semakin besar dan juga sebaliknya semakin rendah konsentrasi semakin sedikit kandungan zat aktif sehingga aktivitas antibakteri akan semakin berkurang.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, Kadar Bunuh Minimal (KBM) yang dibutuhkan bakteri *Salmonella typhii* sehingga terbentuknya zona hambat adalah 5% ekstrak daun jeruk nipis ditambah 95% aquades dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan adalah sebesar 8,89 mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menghasilkan zona hambat yang semakin besar.
2. Diameter rata-rata zona hambat terbesar yang dapat dihasilkan oleh ekstrak daun jeruk nipis terhadap perumbuhan bakteri *Salmonella typhii* adalah sebesar 22,13 mm pada konsentrasi ekstrak 100% dan kontrol

positif yaitu kloramfenikol 30 μ g yang menghasilkan zona hambat sebesar 40,20 mm. Dengan demikian perbandingan diameter rata-rata ekstrak daun jeruk nipis adalah 0,55 kali dari diameter zona hambat Kloramfenikol atau 50,05%. Dan keduanya tergolong dalam kategori sensitif pada ekstrak daun jeruk nipis dan Kloramfenikol.

Untuk diadakan penelitian lebih spesifik mengenai berapa kadar bunuh minimal yang diperlukan dari ekstrak daun jeruk nipis terhadap *Salmonella typhii*. Disarankan juga untuk mengkaji lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri pada ekstrak daun jeruk nipis maka perlu dilakukan penelitian mengenai senyawa aktif lain yang berperan sebagai antibakteri pada ekstrak daun jeruk nipis, uji toksisitas dan dosis ekstrak daun jeruk nipis yang aman apabila diaplikasikan sebagai antibiotik. Selain itu perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk menentukan berapa dosis yang diperlukan sehingga efek antibakteri ekstrak daun jeruk nipis ini sebanding dengan Kloramfenikol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Saifudin A, Rahayu V, Teruna HY, *Standarisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta, 2011
2. Kadarohman A, Dwiyantri G, Anggraini Y, Khumaisah LL, *Komposisi Kimia dan Uji aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kemangi terhadap bakteri E.coli, Shigella sonnei, dan Salmonella enteridis*, Jurnal Prodi Kimia FPMIPA UPI, Bandung, 2011
3. Agusta A, *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*, ITB press, Bandung, 2000
4. Widiasningrum D., *Uji Daya Antibakteri Minyak Atsiri Dari Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia Swingle.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*, Skripsi Fakultas Farmasi STIFAR, Semarang, 2004
5. Cak Mus, 2012, *Informasi Spesies*, Tersedia, (<http://www.plantamor.com/index.php?plant=343>) [06 Oktober 2012]
6. Anonym, *Interpretation table WHO 2003*, www.intechopen.com/download, diunduh 1 Maret 2013
7. Greenwood D, Finch R, Davey P, *Antibiotics Sensitivity Test in antimicrobial and chemotherapy*, Oxford University Press, United Kingdom, 2003
8. Gunawan GS, Setiabudy, Nafrialdi, *Farmakologi dan Terapi*, Percetakan Gaya Baru, Jakarta, 2007