

UJI POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT JERUK NIPIS *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle TERHADAP *Vibrio* sp.

Indra Adi Wira Prasetya¹⁾ Aziz²⁾, Evy Ratnasari Ekawati³⁾, Muhammad Sungging Pradana³⁾,
Nadiyah Al Batati³⁾, Esti Rizkiana Pratiwi¹⁾

¹⁾Program Studi S1 Mikrobiologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

²⁾Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

³⁾Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

Email: evysains@dosen.umaha.ac.id

ABSTRACT

Lime (*Citrus aurantifolia*) is one of the herbal plants that is rich in benefits, especially as a herbal medicines. Besides of lime fruit, lime peel also has antibacterial properties such as essential oils which contain flavonoids which can inhibit bacterial growth. This research utilizes lime peel which will be extracted as a test material. This research was conducted to determine the potential of lime peel extract at various concentrations in inhibiting the growth of *Vibrio* sp.. This research used the well-diffusion method using MHA as a test medium to determine whether lime peel extract can inhibit the growth of *Vibrio* sp. Various concentrations and penicillin as a positive control used in this research to determine which concentration has a greatest potential for inhibiting the growth of *Vibrio* sp. Result of this study used qualitative analysis by comparing the clear zone size produced on the medium. The obtained result shown that 20%, 40%, 60%, 80% and 100% concentration of lime peel can forming a clear zone which mean they can inhibit the growth of *Vibrio* sp. The best concentration used to inhibit *Vibrio* sp. is 100% concentration which produce 23.7 mm clear zone on MHA medium. Lime peel extract can be used to inhibit *Vibrio* sp. growth based on the research result.

Keywords: *Lime peel extract, Vibrio sp., antibacteria*

PENDAHULUAN

Jeruk nipis adalah salah satu tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional (Razak, *et al.*, 2013). Tanaman ini mudah diperoleh serta memiliki harga yang relatif murah. Jeruk nipis juga sering dimanfaatkan sebagai obat batuk alami, peluluh dahak, obat influenza, dan obat jerawat (Lauma, *et al.*, 2015)

Jeruk nipis memiliki berbagai kandungan senyawa kimia yang bermanfaat seperti: asam sitrat, asam amino (triptofan dan lisin), minyak atsiri (sitral, limonen, geranilacetate, linalilacetate, felandren, cadin, actildehyde, nonildehyde), glikosida, vitamin B1 dan C. Selain itu jeruk nipis juga

mengandung senyawa metabolit saponin dan flavonoid, yaitu hisperidin, naringin, tangeretin, eriocotrin dan eriocitrocid (Adindaputri, *et al.*, 2013). Kulit buah jeruk nipis memiliki konsentrasi flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan bagian lainnya seperti biji, buah, dan air perasan dari jeruk nipis membuat kulit jeruk nipis memiliki daya antibakteri dan antioksidan (Sarwono *et al.*, 2003). Berdasarkan Herawati, *et al.* (2020), 1 gram ekstrak kulit jeruk nipis mengandung 1.12 % flavonoid.

Ekstrak kulit jeruk nipis telah digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Streptococcus mutans*

(Sari, *et al.*, 2022; Jeffrey, *et al.*, 2019). Minyak atsiri yang terkandung dalam kulit jeruk nipis juga diketahui mampu menghambat bakteri seperti *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* dan *Pasteurella* (Agusta, 2000). Bakteri-bakteri tersebut merupakan bakteri penyebab penyakit penting bagi manusia.

Vibriosis merupakan salah satu penyakit penting yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. Spesies patogen *Vibrio* mampu menyebabkan gastroenteritis akut yang ditandai dengan mual, muntah, demam, sakit kepala dan diare (Yang, *et al.*, 2008). Diketahui terdapat 12 spesies *Vibrio* yang mampu menyebabkan penyakit pada manusia. Tiga spesies yang paling umum adalah *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* (Sarker, *et al.*, 2019).

Vibrio sp banyak ditemukan pada

permukaan air yang terkontaminasi oleh feses yang mengandung bakteri tersebut. Sehingga proses infeksi dapat berasal dari air, makanan, dan sanitasi yang buruk (Widyastana *et al.* 2007; Sarker, *et al.*, 2019). Dewi *et al.*, (2020) dan Rocha *et al.*, (2016) menyatakan bahwa sebagian besar spesies *Vibrio* resisten terhadap salah satu antibiotik seperti ampisilin (Amp), siprofloksacin (Cip), kloramfenikol (Clo), nitrofurantoin (Nit), gentamisin (Gen), oksitetrasiklin (Otc), tetracycline (Tet), dan streptomisin (Str).

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. serta mengetahui konsentrasi yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. secara in-vitro.

METODOLOGI PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental karena terdapat variabel kontrol dan bebas berupa konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis yang diberikan terhadap sampel bakteri *Vibrio* sp. yang akan menghasilkan variabel terikat berupa ukuran zona hambat yang terbentuk.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei dan Juni 2021 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas, rak tabung, hot plate, neraca digital, spatula, mikropipet, lampu spiritus, inkubator, vortex, pipet volume 10ml, jarum inokulasi, jangka sorong digital dan autoclave.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain akuades steril, media NB (*nutrient broth*), media NA (*Nutrient Agar*), media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Sucrose*), media NaCl fisiologis 0,85%, suspeni bakteri *Vibrio* sp., kulit jeruk nipis *Citrus aurantifolia*, standar *McFarland* 0,5.

Metode Penelitian

Penelitian dimulai dengan tahapan preparasi ekstrak kulit jeruk nipis yang dilakukan dengan merendam 2,5 kg sampel kulit dengan 6 liter methanol selama 2 x 24 jam. Hasil perendaman kemudian disaring sehingga dihasilkan residu dan filtrat. Filtrat selanjutnya dievaporasi sehingga dihasilkan ekstrak methanol kental.

Hasil ekstraksi yang diperoleh diasumsikan ekstrak yang memiliki konsentrasi 100%. Ekstrak jeruk nipis konsentrasi 100% dibuat pengenceran dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dengan menggunakan NaCl fisiologis steril sebagai pelarut.

Isolat bakteri *Vibrio* sp. dari NA *slant* disuspensikan ke dalam 5 ml NaCl fisiologis 0,85% dan dihomogenkan. Kekekruhan suspensi yang dihasilkan dibandingkan dengan larutan standar Mc Farland 0,5 yang setara dengan $1,5 \times 10^8$.

Pengujian ekstrak kulit jeruk nipis pada *Vibrio* sp. dimulai dengan dituangkannya 5 mL MHA kedalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat (sebagai dasaran). Setelah memadat, diletakkan 3 pencadang baja dan diatur jaraknya antar pencadang. Satu mL suspensi bakteri selanjutnya dicampurkan kedalam 20 mL media MHA, campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri yang telah ada pencadang baja sebagai lapisan kedua (*seed layer*) dan dibiarkan memadat. Setelah memadat pencadang baja diangkat secara aseptik dari cawan petri, sehingga terbentuk sumuran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian berbagai ekstrak kulit jeruk nipis terhadap *Vibrio* sp. disajikan dalam Tabel 1. Penentuan kategori hambatan dilakukan berdasarkan Greenwood, *et al.* (2007). Kategori hambatan dapat ditentukan sebagai berikut, Kurang efektif : <10 mm; Aktivitas lemah : 10-15 mm; Aktivitas sedang : 16-20mm; Aktivitas kuat : >20mm.

Berdasarkan hasil uji didapatkan bahwa seluruh konsentrasi kulit jeruk nipis memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan *Vibrio* sp. hasil uji ANOVA didapat bahwa nilai p-value (0,000) < 0,05 yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan

Ekstrak kulit jeruk nipis yang telah diencerkan dalam konsentrasi tertentu dan dimasukkan ke dalam tiap sumuran yang berbeda sebanyak 100 µl. cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Mengamati adanya zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong digital.

Analisis Data

Data yang didapatkan dari hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel yang menyatakan rerata diameter serta keterangan aktivitas hambatannya. Data yang telah ditabulasi juga dianalisis secara statistic menggunakan aplikasi SPSS 20, dengan uji ANOVA untuk membandingkan ada tidaknya perbedaan pengaruh pada setiap konsentrasi.

yang bermakna. Uji post hoc menggunakan uji Games-Howell dikarenakan variansi data diketahui tidak homogen setelah dilakukan uji Levene. Hasil uji Games-Howell didapatkan bahwa seluruh konsentrasi dan kontrol positif memiliki nilai p-value < 0,05 bila dibandingkan dengan kontrol negatif. Sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan signifikan dari seluruh perlakuan terhadap kontrol negatif. Didapatkan pula bahwa aktivitas terbaik dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. adalah konsentrasi 100% dengan hasil diameter zona hambat 23.7 ± 1.2 mm.

Tabel 1. Hasil Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis

Konsentrasi	Mean Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori hambatan
Kontrol Negatif	0 ± 0	Tidak ada hambatan
20%	13.7 ± 1.5	Aktivitas lemah
40%	14.3 ± 0.6	Aktivitas lemah
60%	17.2 ± 0.3	Aktivitas sedang
80%	20.2 ± 0.3	Aktivitas kuat
100%	23.7 ± 1.2	Aktivitas kuat
Kontrol Positif Penicillin G	24.3 ± 0.6	Aktivitas kuat

Ekstrak kulit jeruk nipis juga menunjukkan aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan konsentasi 80% ekstrak (Ekawati, *et al.*, 2019). Pada konsentrasi 100%, ekstrak kulit jeruk nipis juga mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan luas zona hambat yang ditunjukkan sebesar 26,69 mm (Sari, *et al.*, 2021). Konsentrasi 50% ekstrak kulit jeruk nipis mampu menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* sebesar 33,5 mm (Sari, *et al.*, 2022). Penelitian lain mengenai ekstrak kulit jeruk nipis juga menunjukkan adanya potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Jeffrey, *et al.*, 2019) dan *Prevotella intermedia* (Agatha, 2021).

Ekstrak kulit jeruk nipis mampu menunjukkan aktivitas antibakteri karena mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder. Adindaputri, *et al.*, (2013) menyatakan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis mengandung flavonoid yang mampu menghambat produksi enzim glukosiltransferase *Streptococcus mutans* yang menjadi penyebab karies pada gigi. Flavonoid

merupakan senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak protein serta menembus peptidoglikan pada dinding sel (Egra, *et al.*, 2019).

Loizzo, *et al.* (2012) menjelaskan bahwa daun dan kulit jeruk nipis mengandung senyawa flavonoid yang bermacam-macam. Pada kulit jeruk nipis ditemukan berbagai senyawa flavonoid seperti rutin (35, 1 mg/ 100 g), kaempferol (13,8 mg/ 100 g) dan apigenin (10,8 mg/ 100 g). senyawa flavonoid lain juga ditemukan dalam jumlah kurang dari 10 mg/ 100 g, diantaranya adalah quercetin dan nobiletin

Terdapat senyawa metabolit lain yang dapat ditemukan dalam kulit jeruk nipis, seperti minyak atsiri, saponin, alkaloid, steroid dan tannin (Pratiwi, 2013., Noviyanti, *et al.*, 2022). Senyawa tannin mampu merusak permeabilitas sel dan integritas membran sel. Selain itu senyawa ini juga mencegah proses sintesis protein (Liu, *et al.*, 2020) Senyawa alkaloid mampu merusak membrane dan dinding sel bakteri, serta menghambat proses sintesis asam nukleat dan protein (Yan, *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa, ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. Aktivitas hambatan paling kuat ditunjukkan pada konsentrasi 100% dengan rerata zona hambat sebesar 23.7 mm. Rekomendasi dari penelitian ini adalah ekstrak kulit jeruk nipis dengan konsentasi 80% dan 100% memiliki aktivitas hambatan kuat, sehingga dapat dilanjutkan untuk pengujian in-vivo terhadap bakteri *Vibrio* sp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulisan artikel ini dapat terselesaikan karena dapat dukungan dari pihak terkait yaitu tim laboratorium yang membantu, tim dosen

pembimbing yang memberikan arahan dan sarannya dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adindaputri, Z., Purwanti, N. dan Wahyudi I. A. 2013. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, vol: 20(2): 126-131.
- Agatha, V., Kurnia, C. dan Sugiaman, V. K. 2021. Aktifitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Prevotella intermedia*. *Jurnal*

- Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*. Vol. 33 (2): 167-173
- Agusta, A 2000. Cara Sehat dengan Wewangian Alami. Jakarta: Penebar Swadaya. 31-37.
- Dewi, P. W. P., Julyantoro, P. G. S. dan Kartika, I. W. D. 2020. Antibiotics Resistance Level of *Vibrio* spp. Isolated From Northern Bali Area. *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*. Vol. 4 (2): 30-34
- Egra, S., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., dan Tohru, M. D. 2019. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor*. Vol. 12 (1): 26–31.
- Ekawati, E. R., Pradana, M. S. dan Darmanto, W. 2019. Lime (*Citrus aurantifolia*) Peel as Natural Antibacteria for Wound Skin Infection Caused by *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 11 (1): 363-366
- Greenwood D, Slack R, Peutherer J, & Barer M, 2007. *Medical Microbiology*, China: Elsevier.
- Jayasree, L., Janakiram, P., Madhavi, R. 2006. Characterization of *Vibrio* spp. Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh (India). *Journal of the World Aquaculture Society*., 37(4): 523-532
- Jeffrey, Satari, M. H. dan Kurnia, D. 2019. Antibacterial Effect of Lime (*Citrus aurantifolia*) Peel Extract in Preventing Biofilm Formation. *Journal of Medicine and Health*. Vol. 2 (4): 1020-1029
- Lauma, S. W., Pangemanan D. H. C., Hutagalung, B. S. P. 2015. Uji Efektivitas Perasan Air Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Pharmacon*. Vol: 4 (4): 09-15.
- Loizzo, M. R., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F., De Luca, D., Colica, C. dan Menichini, F. 2012. Evaluation of *Citrus aurantifolia* Peel and Leaves Extracts for Their Chemical Composition, Antioxidant and Anti-Cholinesterase Activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 92: 2960-2967
- Liu, M., Feng, M., Yang, K., Cao, Y., Zhang, J., Xu, J., Hernández, S. H., Wei, X. dan Fan, M, 2020. Transcriptomic and Metabolomic Analyses Reveal Antibacterial Mechanism of Astringent Persimmon Tannin Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Pork. *Food Chemistry*. Vol. 309: 125692
- Novriyanti, R., Putri, R. E. K. dan Rijai, L. 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Menggunakan Metode DPPH. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. Vol. 15: 165-170
- Pratiwi, D., Suswati, I., dan Abdullah, M. 2013. Efek Anti Bakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Salmonella typhi* Secara In Vitro. *SAINTIKA MEDIA: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga*. Vol. 9 (2): 110–115
- Razak, A., Jamal, A. dan Revilla, G. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* s.) Terhadap

- Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Vol. 2 (1): 5-8
- Rocha, R. S., Sousa O. V., dan Vieira, R. H. 2016. Multi drug resistant *Vibrio* associated with an estuary affected by shrimp farming in Northeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 105 (1), 337-340
- Sari, A. N. dan Asri, M. T. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*. *LenteraBio*. Vol. 11 (3): 443-448
- Sari, D. I., Wahjuni, R. S., Praja, R. N., Utomo, B., Fikri, F., dan Wibawati, P. A. 2021. Perasan Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) Menghambat Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Medik Veteriner*. Vol. 4 (1): 63-71
- Sarker, M.K.D., Ahammed, T., Sahabuddin, M., Akter, P., Haque, A., Hossain, M.R., Mosaib, M.G., Islam, M.R., Mondol, G.C., Alam, M.F. 2019. Antibiotic Resistance Analysis of *Vibrio* spp Isolated from Different Types of Water Sources of Bangladesh and Their Characterization. *European Journal of Medical and Health Sciences*. Vol. 1(4): 19-29
- Sarwono, B. 2003. *Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Sukenda; A.J. Sihombing; F. Novianti; Widanarni. 2005. Penapisan Bakteri Probiotik dan Peranannya terhadap Infeksi Buatan *Vibrio harveyi* pada Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 4(2): 181-187.
- Widyastana, I. W. Y., Kawuri, R. dan Dalem, A. A. G. R. 2015. Keberadaan Bakteri Patogen *Vibrio cholerae* pada Beberapa Hasil Perikanan Yang Dijual di Pasar Tradisional Kota Denpasar. *Jurnal Metamorfosa*. Vol. 2 (1): 16-22
- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B. dan Li, M. 2021. Antibiotics Review Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids. *Antibiotics*. Vol. 10(318): 1-30.
- Yang, Z.Q., Jiao, X.A. Zhou, X.H. Cao, G.X. Gu, R.X. 2008. Isolation and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from fresh, low-temperature preserved, dried and salted seafood products in two coastal areas of eastern China. *International J. of Food Microbiol*. Vol. 125: 279-285