



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAUN JERUK KALAMANSI  
(*Citrofortunella microcarpa*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*  
Deza Oktasila<sup>\*1</sup>, Nurhamidah<sup>2</sup>, Dewi Handayani<sup>3</sup>  
<sup>1,2,3</sup>Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP  
Universitas Bengkulu  
<sup>\*</sup>E-mail : dezaoktasila.do@gmail.com**



### ABSTRACT

This study aims to examine the antibacterial activity of ethanol extract and essential oil of Kalamansi citrus leaves (*Citrofortunella microcarpa*) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The raw material of Kalamansi citrus leaves is obtained from the Village of Pondok Kubang, Bengkulu Tengah (3.7006°S, 102.3578°E). Ethanol extract from Kalamansi citrus leaves was obtained by maceration using ethanol 96%, then ethanol extract was made dilution concentration 40 ; 20; , 10; and 5%. The essential oil of Kalamansi citrus leaves is obtained by water-vapor distillation, then made variations of concentration 20;, 15;, 10; and 5%. The method used to test the antibacterial activity is the paper disc diffusion method , the antibacterial activity is shown by the diameter of the inhibiting zone formed. The data of antibacterial test result were analyzed by using One Way Anova test which showed the effect of treatment on the growth of test bacteria seen from the value ( $P < 0,01$ ) and continued by Duncan test to know the effect of the treatment. The results showed that ethanol extract of Kalamansi citrus leaves had antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli* bacteria with moderate inhibitory diameter is 7.20 and 5.73 mm at concentration 40%, while antibacterial activity on essential oil of Kalamansi citrus leaves is categorized as strong with inhibition zone diameter is 14.83 and 13.00 mm at concentration 20%.

**Keywords :** Kalamansi citrus leaves, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan minyak atsiri daun jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bahan baku daun jeruk Kalamansi diperoleh dari Desa Pondok Kubang, Bengkulu Tengah (3.7006° LS, 102.3578° BT ). Ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi didapatkan dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%, selanjutnya ekstrak etanol yang diperoleh dibuat pengenceran konsentrasi 40; 20; 10; dan 5%. Minyak atsiri daun jeruk Kalamansi diperoleh melalui destilasi uap-air, kemudian dibuat variasi konsentrasi 20; 15; 10; dan 5%. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu metode difusi kertas cakram, kemudian aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh adanya diameter zona hambat yang terbentuk. Data hasil uji antibakteri dianalisa statistika dengan menggunakan uji Anova satu arah (One way) yang menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri uji dilihat dari nilai ( $P < 0,01$ ) dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter zona hambat yang tergolong sedang yaitu 7,20 dan 5,73 mm pada konsentrasi 40%, sedangkan aktivitas antibakteri pada minyak atsiri daun jeruk Kalamansi termasuk kategori kuat dengan masing-masing diameter zona hambat yaitu 14,83 dan 13,00 mm pada konsentrasi 20%.

**Kata kunci:** Daun Jeruk Kalamansi, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

### PENDAHULUAN

Penyakit infeksi termasuk salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi adalah suatu keadaan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, berkembang biak dan menimbulkan penyakit [1]. Sebagian besar penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme berupa bakteri diantaranya yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Bakteri *S.aureus* merupakan bakteri gram positif yang dapat ditemukan dimana saja termasuk pada tubuh manusia. Pada tubuh manusia, jika bakteri ini dalam jumlah normal

maka tidak berpotensi menimbulkan penyakit, akan tetapi bakteri *S.aureus* sering menimbulkan bakterimia dan menjadi bakteri patogen pada manusia sehingga dapat menyebabkan berbagai macam penyakit yang dikarenakan faktor virulensi yang bervariasi yang dimiliki oleh bakteri [2].

Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* diantaranya yaitu impetigo [3], bisul [4], jerawat [5] dan lesi di permukaan kulit yang tampak seperti lepuhan [6].

Bakteri lainnya yang dapat menyebabkan penyakit infeksi di tubuh manusia adalah *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif dan menjadi flora normal di dalam usus manusia untuk

menguraikan sisa-sisa makanan [7]. Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan timbulnya infeksi saluran kencing [8], infeksi primer pada usus misalnya diare [9] serta timbulnya infeksi pada jaringan tubuh lain di bagian luar [10].

Infeksi yang disebabkan oleh pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ini akan berbahaya bagi tubuh jika tidak ditangani secara baik.

Pengobatan yang biasa digunakan dalam penanganan infeksi oleh bakteri yaitu suatu formula yang mengandung zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau bahkan membunuhnya yang dikenal sebagai antibakteri atau biasa disebut sebagai antibiotik [11].

Penggunaan antibiotik akan dapat menimbulkan efek samping bagi tubuh dan dapat menimbulkan resistensi bakteri bila digunakan secara sembarangan [12]. Karena itu dewasa ini ramai kembali aktivitas berupa pemanfaatan berbagai tanaman obat yang mampu berperan sebagai agen antibakteri [13].

Salah satu tanaman budidaya di Indonesia termasuk di Bengkulu adalah tanaman jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) [14], yang hingga saat ini dimanfaatkan hanya untuk air perasan buahnya sebagai bumbu masakan dan bahan baku pembuatan sirup industri rumahan sehingga ada bagian dari tanaman berupa daun yang hanya akan terbuang dan belum dimanfaatkan oleh masyarakat.

Berdasarkan uraian tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret hingga Juni 2018. Tempat penelitian di Laboratorium Kimia FKIP, Laboratorium Basic Science FMIPA dan Laboratorium Biomedik FKIK Universitas Bengkulu.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : neraca analitik, lemari pendingin, blender, aluminium foil, rangkaian alat destilasi uap-air, statif dan klem, alat-alat gelas laboratorium, tabung reaksi beserta rak, jarum ose, autoklaf (Hiramaya HVA-85), mikropipet (Eppendorf), yellow tip, pinset, spuit, lampu spiritus, rotary evaporator, hotplate (Lab. Companion HP-30001), incubator (IB-11E), laminar air flow (Nuair NU-1263000 E),

spektrofotometer Uv-Vis (PD-303S), vortex (VM-968).

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah: etanol teknis 96%, Nutrient Agar (Merck), kristal  $FeCl_3$  p.a (Merck), aquades, NaCl 0,9%, pita Mg (Merck),  $Na_2SO_4$  Anhidrat p.a (Merck), larutan HCl 32 % p.a (Merck),  $H_2SO_4$  98 % p.a (Merck), KI dan DMSO (Merck), kertas saring.

Sampel daun Jeruk Kalamansi yang digunakan, diambil dari Lembaga Pengembangan Pertanian Baptis (LPPB) Pondok Kubang, Kecamatan Pondok Kelapa, Kabupaten Bengkulu Tengah.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*.

## Prosedur Penelitian Preparasi Sampel

Untuk pembuatan ekstrak digunakan 3,1 kg daun Jeruk Kalamansi. Daun di rajang setipis mungkin agar dapat mempercepat proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung agar aktivitas metabolit sekunder yang terkandung didalam daun jeruk tidak berkurang [15]. Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk halus.

Untuk pembuatan minyak atsiri, digunakan 8,8 kg daun jeruk yang terlebih dahulu di rajang atau dipotong-potong, kemudian langsung dilakukan proses destilasi uap-air untuk memperoleh minyak atsiri.

## Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia daun jeruk ditimbang sebanyak 500 g dan dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%, dengan cara merendam simplisia selama 72 jam (3 hari) dengan sesekali diaduk ataupun dikocok kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh maserat [16] yang selanjutnya dikentalkan menggunakan rotary vacuum evaporator sehingga didapatkan ekstrak kasar.

Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus ;

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{berat bubuk simplisia total}} \times 100 \%$$

## Pembuatan Reagen

### a. Pembuatan Pereaksi Mayer

Sebanyak 13,6 gram  $\text{HgCl}_2$  dilarutkan dengan 60 ml aquades ke dalam gelas kimia. Di dalam gelas kimia yang berbeda, dilarutkan 5 gram KI dengan 10 ml aquades. Kemudian kedua larutan dicampurkan secara perlahan dan diencerkan hingga 100 ml di dalam labu ukur dengan menggunakan aquades.

### b. Pereaksi Lieberman-Burchard

Sebanyak 5ml asam asetat anhidrat dicampurkan secara perlahan dengan 5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat didalam gelas kimia dan kemudian diencerkan dengan 100 ml etanol.

### c. Larutan $\text{FeCl}_3$ 1%

Sebanyak 1 gram kristal  $\text{FeCl}_3$  dimasukkan ke dalam labu takar ukuran 100 ml dan dilarutkan dengan hingga tanda batas .

### d. Larutan $\text{H}_2\text{SO}_4$ 2 N

Sebanyak 13,9 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dimasukkan dengan pipet tetes secara perlahan dan hati-hati tetes demi tetes ke dalam labu takar berukuran 250 ml yang telah berisi 100 ml aquades dan selanjutnya dilakukan pengenceran hingga tanda batas.

## Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui menentukan secara kualitatif ada atau tidaknya golongan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri yang terkandung dalam daun jeruk Kalamansi. Golongan senyawa yang diuji antara lain alkaloid, tanin, terpenoid/steroid, flavonoid dan saponin.

Langkah-langkah dalam uji fitokimia sebagai berikut :

### a. Uji Flavonoid

Sebanyak 200 mg sampel ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan beberapa tetes HCl 2N. Terbentuknya warna jingga sampai merah mengindikasikan adanya senyawa flavonoid [17]. Pada uji ini senyawa flavonoid akan direduksi oleh gas hidrogen hasil reaksi antara pita Mg dan HCl dan membentuk senyawa kompleks dengan  $\text{Mg}^{2+}$  yang berwarna merah atau jingga.

### b. Uji Alkaloid

Sebanyak 200 mg sampel dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan dengan 5 ml HCl 2N kemudian disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditetesi pereaksi Mayer's. Terbentuknya endapan berwarna putih menunjukkan adanya alkaloid [18].

### c. Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g sampel dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml aquades dan ditambahkan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, biru-hijau atau biru-hitam kebiruan [19].

### d. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml aquades dan dikocok dengan kuat . Terbentuk buih yang stabil menunjukkan keberadaan dari saponin [20].

### e. Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 200 mg sampel dimasukkan ke tabung reaksi dan ditambahkan dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Adanya senyawa triterpenoid ditandai timbulnya warna merah muda dan steroid ditandai warna hijau atau biru [21].

Selain itu uji keberadaan terpenoid dan steroid dapat dilakukan dengan uji warna pada plat KLT [22] yang telah diaktivasi selama 1 jam dengan suhu  $110^\circ\text{C}$ . Ekstrak kasar ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan campuran n-heksana dan etil asetat (6:4) dan disemprot dengan larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dan selanjutnya dipanaskan selama 15 menit pada suhu  $50^\circ\text{C}$ .

Terbentuknya noda berwarna merah muda atau pink menunjukkan adanya senyawa terpenoid [23] sedangkan warna ungu menunjukkan adanya steroid [24].

## Penyulingan Minyak Atsiri

Sampel daun jeruk segar jeruk yang digunakan sebanyak 8800 g dengan 4 kali destilasi, untuk setiap proses destilasi digunakan 2200 g daun jeruk yang sudah dirajang dengan lama waktu pelaksanaan yaitu 3 – 4 jam tiap kali destilasi. Hasil destilat ditampung dan dimasukkan ke dalam corong pisah dan dibiarkan selama satu malam.

Pemisahan fasa minyak dilakukan

dengan mengeluarkan air secara perlahan dari corong pisah dan minyak atsiri yang diperoleh ditampung dalam wadah yang berbeda.

Selanjutnya ditambahkan Natrium sulfat anhidrat untuk mengurangi kadar air di dalam minyak dan dipisahkan dari fase minyak dengan cara disaring [25] dan hasil yang diperoleh disimpan dalam botol berwarna gelap.

Rendemen hasil penyulingan dihitung dengan rumus ;

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{massa minyak (gr)}}{\text{massa sampel (gr)}} \times 100\%$$

## Uji Aktivitas Antibakteri

### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh alat terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan dan alat beserta media yang akan digunakan selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit . Jarum ose disetrilkan dengan dipijarkan menggunakan nyala Bunsen. Untuk cawan petri dan pipet tetes disterilkan menggunakan larutan etanol 96% .

### b. Pembuatan Medium

Media pembenihan Nutrient Agar (NA) dibuat dengan melarutkan 5,6 gram NA ke dalam 200 mL aquades dan dipanaskan hingga larut. Selanjutnya disterilkan didalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

### c. Peremajaan Mikroba Uji

Diambil 1 ose bakteri uji *S.aureus* dan *E. coli* kemudian digoreskan kedalam media NA miring dan diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C.

### d. Pembuatan Suspensi Bakteri

Membuat suspensi bakteri uji *S.aureus* dan *E. Coli* dengan mengambil masing- masing 1 ose bakteri uji, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 ml larutan NaCl fisiologis 0,9%, dihomogenkan dengan alat vortex.

Kekeruhan suspensi dari bakteri uji diukur menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 µm.

### e. Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji ekstrak dibuat dengan melarutkan 4 g ekstrak etanol daun jeruk kedalam 5 ml pelarut DMSO, sehingga

diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 80%. Kemudian dibuat variasi untuk konsentrasi 40 ; 20; 10; dan 5%.

Untuk membuat larutan uji minyak atsiri daun jeruk diambil masing-masing sebanyak 0,2 ; 0,15 ; 0,10 ; dan 0,05 g dan masing-masing dilarutkan ke dalam tabung yang berisi 1 ml DMSO sehingga akan diperoleh konsentrasi masing-masing sebesar 20; 15; 10; dan 5%.

### f. Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol positif dibuat dengan menimbang sebanyak 0,05 gram antibiotik Amoxicilin kemudian mengencerkannya ke dalam 5 mL aquades dan dihomogenkan.

Amoxicilin merupakan antibiotik bakterisidal yang mempunyai spektrum luas dalam menghambat sintesis dinding sel selama sel membelah. Untuk larutan kontrol negatif digunakan pelarut DMSO.

### g. Penentuan Aktivitas Antibakteri

Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak etanol dan minyak atsiri daun jeruk Kalamansi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi kertas cakram dengan mengukur diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Setiap bakteri uji digoreskan pada cawan petri yang berisi media agar padat, kemudian diletakkan cakram kertas berdiameter 6 mm yang telah steril menggunakan pinset steril dan cakram ditetesi larutan uji sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet.

Untuk setiap uji dilakukan 3 kali pengulangan untuk setiap konsentrasi pengujian dalam penelitian ini dilakukan dengan variasi konsentrasi yaitu 5; 10; 20; dan 40% untuk larutan uji dari ekstrak etanol daun jeruk , sedangkan variasi konsentrasi untuk larutan uji dari minyak atsiri daun jeruk yaitu 5; 10; 15; dan 20%.

Setelah itu campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur dengan penggaris millimeter. dicari rata-rata diameter zona hambat dan dianalisa ada tidaknya pengaruh ekstrak dan minyak atsiri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

## Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Minyak Atsiri

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri ekstrak dan minyak atsiri daun jeruk Kalamansi dianalisis dengan perhitungan statistik melalui analisis *one way* ANOVA.

Apabila perlakuan yang diberikan menunjukkan pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf signifikan 1% (<0,01) yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi perlakuan yang terbaik.

Analisis *one way* ANOVA menggunakan fasilitas SPSS versi 16 *for Windows* dan Ms. Excel. Uji Duncan dilakukan dengan menggunakan fasilitas SPSS versi 16 *for Windows*.

Dalam penelitian ini juga dilakukan analisa statistik melalui uji T (Ms.Excel) untuk mengetahui perbedaan nyata pada rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol dengan konsentrasi 20% dan minyak atsiri daun jeruk dengan konsentrasi 20% terhadap kedua bakteri uji.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel daun jeruk Kalamansi diambil dari Lembaga Pengembangan Pertanian Baptis (LPPB) di Desa Pondok Kubang, Kecamatan Pondok Kelapa, Kabupaten Bengkulu Tengah.

Dari 3100 g daun jeruk segar, setelah pengeringan diperoleh 780 g serbuk simplisia sehingga didapatkan (%) kadar air pada daun jeruk Kalamansi yaitu sebesar 74,84 %.

### Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Kalamansi

Sampel daun jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) berupa serbuk simplisia akan diolah menjadi ekstrak etanol melalui proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam 500 g serbuk simplisia halus dalam pelarut etanol 96 %.

Proses perendaman berlangsung dengan beberapa kali penggojokan yang tujuannya agar seluruh serbuk simplisia dapat kontak dengan pelarut dan senyawa dapat tersekstrak secara optimal. Setelah melalui proses perendaman, dilakukan filtrasi untuk memperoleh maserat dan selanjutnya dipekatkan dengan cara evaporasi menggunakan rotary evaporator. Hasil ekstrak

kasar yang diperoleh sebanyak 28,76 g dengan (%) rendemen sebesar 5,75 %.

### Penyulingan Minyak Atsiri Daun Jeruk Kalamansi

Sampel daun jeruk Kalamansi yang digunakan sebanyak 8800 gram. Berat minyak atsiri daun jeruk yang diperoleh sebesar 4,24 g dengan nilai rendemennya sebesar 0,048%. Minyak atsiri dari daun jeruk Kalamansi yang diperoleh berbentuk cairan jernih, berwarna kuning pucat dan memiliki bau khas tanaman jeruk Kalamansi.

### Uji Fitokimia Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kalamansi

Hasil uji fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi disajikan sebagai berikut (Tabel 1)

Hasil uji fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa daun jeruk Kalamansi terbukti positif mengandung metabolit sekunder berupa senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin karena memberikan hasil uji yang sesuai.

**Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Serbuk Simplisia Dan Ekstrak etanol Daun Jeruk Kalamansi**

Uji	Pereaksi	Hasil Pengamatan		Hasil
		Serbuk Simplisia	Ekstrak Etanol	
Alkaloid	Mayer	Endapan Putih	Endapan Putih	Ada
Flavonoid	Mg+HCl	Orange Kehitaman	Merah Magenta	Ada
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Hijau Kehitaman	Hijau Kehitaman	Ada
Saponi	Aquades, Dikocok	Buih stabil	Buih stabil	Ada
Terpenoid	CH <sub>3</sub> COOH anhidrat + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Tidak Dilakukan	Ada Noda Merah	Ada
Steroid	CH <sub>3</sub> COOH anhidrat + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Tidak Dilakukan	Ada Noda Hijau	Tidak ada

Untuk uji fitokimia ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi menunjukkan hasil positif untuk semua golongan senyawa yang diujikan yakni positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Hal terjadi karena sampel berupa ekstrak telah melalui proses ekstraksi sehingga metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan dapat ditembus dan ditarik keluar oleh pelarut etanol.

Untuk uji terpenoid dan steroid menggunakan analisis KLT menunjukkan bahwa

ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi positif mengandung senyawa terpenoid dan tidak mengandung senyawa steroid.

### Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Minyak Atsiri Daun Jeruk Kalamansi

Hasil dari peremajaan bakteri uji, pembuatan suspensi dan penentuan nilai OD dari masing-masing bakteri diperoleh nilai OD *S. aureus* = 0,90 dan untuk *E. coli* = 0,92 dimana tingkat kekeruhannya disetarakan dengan kekeruhan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL.

Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada tabel 2.

Ada 4 kategori kekuatan daya hambat zat antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk yaitu kategori lemah bila diameter zona hambat < 5 mm, kategori sedang dengan diameter 5 s/d 10 mm, kategori kuat dengan diameter 10 s/d 20 mm dan kategori sangat kuat dengan diameter > 20 mm [26].

**Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kalamansi**

Bakteri uji	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata Diameter Zona Hambat ± SD
		I	II	III	
<i>Staphylococcus aureus</i>	5%	3,6	3,3	3,0	3,30 <sup>e</sup> ± 0,3000
	10%	4,0	3,7	4,3	3,97 <sup>cd</sup> ± 0,3512
	20%	5,0	4,6	6,0	5,20 <sup>c</sup> ± 0,7211
	40%	7,3	8,3	6,0	7,20 <sup>b</sup> ± 1,1533
	K(+) <sup>1</sup> %	16,0	16,6	17,0	16,53 <sup>a</sup> ± 0,5033
	K(-)	0	0	0	0 ± 0
<i>Escherichia coli</i>	5%	3,0	3,0	3,3	3,10 <sup>c</sup> ± 0,1732
	10%	3,6	3,0	4,0	3,53 <sup>c</sup> ± 0,5033
	20%	4,0	5,3	4,3	4,53 <sup>bc</sup> ± 0,6807
	40%	7,0	5,6	4,6	5,73 <sup>b</sup> ± 1,2055
	K(+) <sup>1</sup> %	6,6	8,3	7,6	7,50 <sup>a</sup> ± 0,8544
	K(-)	0	0	0	0 ± 0

Ket : (a-e) angka berbeda diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda signifikan (<0,01)

Pada tabel 2 dapat dilihat nilai rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi yang terbentuk terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan bakteri uji yang paling besar pada konsentrasi 40% masing-masing yaitu 7,20 dan 5,73 mm yang tergolong kategori sedang.

Pada konsentrasi 20% dengan rata-rata diameter zona hambatnya terhadap bakteri *S.*

*aureus* dan *E.coli* yaitu 5,20 mm (kategori sedang) dan 4,53 mm (kategori lemah); pada konsentrasi 10% rata-rata diameter zona hambatnya yaitu untuk *S. aureus* 3,97 mm (kategori lemah) dan 3,53 mm (kategori lemah) untuk *E.coli* dan pada konsentrasi 5% rata-rata diameter zona hambatnya adalah untuk *S. aureus* 3,30 mm (kategori lemah) dan untuk *E.coli* 3,10 mm (kategori lemah).

Berdasarkan hasil yang diperoleh terlihat bahwa perubahan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi maka semakin besar pula penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri uji.

Hasil pengukuran diameter zona hambat minyak atsiri daun jeruk Kalamansi terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dapat dilihat pada dibawah ini (Tabel 3)

**Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Kalamansi**

Bakteri uji	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata Diameter Zona Hambat ± SD
		I	II	III	
<i>Staphylococcus aureus</i>	5%	2,6	3,0	3,0	2,87 <sup>a</sup> ± 0,2309
	10%	10,0	8,0	7,0	8,30 <sup>a</sup> ± 1,5275
	15%	13,0	10,8	14,0	12,60 <sup>a</sup> ± 1,6371
	20%	14,6	15,3	14,6	14,83 <sup>aa</sup> ± 0,4041
	K(+) <sup>1</sup> %	16,0	16,6	17,0	16,53 <sup>ap</sup> ± 0,5033
	K(-)	0	0	0	0 ± 0
<i>Escherichia coli</i>	5%	2,8	2,3	3,0	2,70 <sup>a</sup> ± 0,3606
	10%	6,6	9,0	8,3	7,97 <sup>a</sup> ± 1,2342
	15%	10,0	11,0	9,3	10,10 <sup>a</sup> ± 0,8544
	20%	13,0	14,0	12,0	13,00 <sup>p</sup> ± 1,000
	K(+) <sup>1</sup> %	8,3	6,6	7,6	7,50 <sup>r</sup> ± 0,8544
	K(-)	0	0	0	0 ± 0

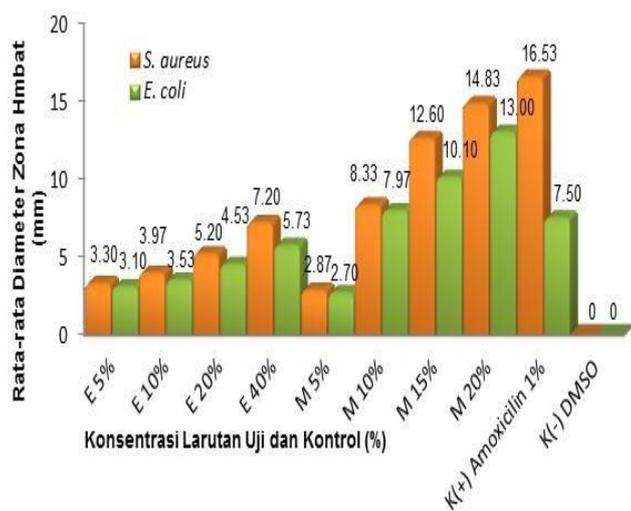
Ket : (p-s) angka berbeda diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda signifikan (<0,01)

Berdasarkan tabel 3 dapat disimpulkan yaitu :

1. Pada konsentrasi 5% minyak atsiri daun jeruk Kalamansi diperoleh rata-rata diameter zona hambat untuk *S. aureus* sebesar 2,87 mm (kategori lemah) dan untuk *E. coli* sebesar 12,70 mm (kategori lemah).
2. Pada konsentrasi 10%, rata-rata diameter zona hambat untuk *S. aureus* sebesar 8,30 mm (kategori sedang) dan untuk *E. coli* sebesar 7,97 mm (kategori sedang).
3. Pada konsentrasi 15%, rata-rata diameter zona hambatnya untuk *S. aureus* sebesar 12,60 mm (kategori kuat) dan untuk *E. coli*

- sebesar 10,10 mm (kategori kuat).
4. Kemampuan penghambatan bakteri terbesar terlihat pada konsentrasi 20 % dengan rata-rata diameter zona untuk *S. aureus* sebesar 14,83 mm (kategori kuat) dan untuk *E. coli* sebesar 13,00 mm (kategori kuat).

Hasil tersebut menunjukkan variasi konsentrasi minyak atsiri daun jeruk Kalamansi mempengaruhi pertumbuhan bakteri uji dimana . semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri, maka zona hambat yang terbentuk juga semakin besar. (Gambar 1)



**Gambar 1. Grafik Hubungan Variasi Konsentrasi Larutan Uji terhadap Rata-Rata Diameter Zona Hambat**

Dari gambar 1 diketahui bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan minyak atsiri daun jeruk Kalamansi (terhadap bakteri uji memiliki perbedaan signifikan pada rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dari larutan uji terhadap bakteri uji *S. aureus* berbeda dengan *E. coli* yang disebabkan karena kinerja senyawa antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri [27].

Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan untuk isolasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi adalah etanol yang bersifat polar sehingga senyawa-senyawa yang bersifat polar banyak yang ikut tertarik dalam ekstrak.

Hal ini menyebabkan aktivitas antibakteri yang diinginkan tidak optimal karena bakteri *E. coli* merupakan bakteri gram negatif [28] yang lebih banyak mengandung lipid dan sedikit

peptidoglikan, memiliki membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel) [29].

Membran luar bakteri gram negatif terdiri dari fosfolipid yang tersusun atas lipid A yang bersifat nonpolar, sehingga senyawa antibakteri yang ada didalam daun jeruk Kalamansi seperti flavonoid dan saponin yang merupakan senyawa polar akan lebih sulit menembus lapisan lipid yang nonpolar untuk masuk ke dalam sel [30].

Hal inilah yang akan menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram negatif lebih lemah dibandingkan dengan bakteri gram positif.

Hasil analisa uji one way ANOVA menggunakan SPSS 16 for Windows diperoleh nilai  $P = 0,000 (<0,01)$  pada setiap zona hambat terhadap *S. aureus* maupun *E. coli* dengan taraf signifikan (0,01), yang menunjukkan  $H_0$  ditolak.

Hasil analisa uji ANOVA menggunakan Ms.Excel dimana hasil  $F_{hitung} > F_{tabel}$  menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan (konsentrasi) dengan diameter zona hambat yang terbentuk.

Hasil dari uji lanjut melalui uji Duncan dengan tujuan melihat pengaruh perlakuan (konsentrasi) yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E. coli*, diperoleh perlakuan (konsentrasi) ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk.

Hasil analisa menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk pada konsentrasi 40% merupakan konsentrasi yang menunjukkan adanya zona bening dengan rata-rata diameter zona hambat paling besar diantara diameter zona hambat yang dihasilkan dari variasi konsentrasi 5; 10; 20; dan 40%.

Kekuatan daya hambat ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi pada konsentrasi 40% terkategori sedang dengan rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* adalah 7,20 mm dan untuk *E. coli* adalah 5,73 mm.

Hasil analisa uji Duncan untuk minyak atsiri daun jeruk menunjukkan pada konsentrasi 20% terdapat adanya zona bening dengan rata-rata diameter zona hambat paling besar diantara diameter zona hambat yang dihasilkan dari variasi konsentrasi 5; 10; 15; dan 20%.

Kekuatan daya hambat atsiri daun jeruk pada konsentrasi 20% terkategori kuat dengan rata-rata diameter zona hambatnya terhadap bakteri *S. aureus* adalah 14,83 mm dan terhadap

bakteri *E. coli* adalah 13,00 mm.

Hasil uji Duncan ini menunjukkan adanya perbedaan nyata pada perlakuan (konsentrasi) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Analisa lanjutan berupa uji T dengan menggunakan *Ms. Excel*, terhadap perlakuan penggunaan larutan uji berupa ekstrak etanol konsentrasi 20% dengan minyak atsiri konsentrasi 20% terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*. nilai  $P = 0,000132$  ( $<0,01$ ) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada rata-rata diameter zona hambat untuk ekstrak etanol konsentrasi 20% dan minyak atsiri konsentrasi 20%.

Dari analisa ini dapat diperoleh hasil bahwa minyak atsiri daun jeruk Kalamansi memiliki kekuatan daya hambat lebih besar dibanding ekstrak etanol dimana kekuatan daya hambat minyak atsiri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* termasuk dalam kategori kuat

Pada penentuan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan minyak atsiri daun jeruk Kalamansi, antibiotik amoxicilin digunakan sebagai pembanding (kontrol positif) terhadap larutan uji.

Amoxicilin akan menghambat pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun negatif dengan cara mengasilasi enzim transpeptidase yang berperan membentuk ikatan antar peptidoglikon pada pembentukan dinding sel sehingga sel bakteri mati akibat lisis [31].

Larutan DMSO sebagai kontrol negatif menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat karena tidak memiliki kemampuan aktivitas sebagai antibakteri [32],

Aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol dan minyak atsiri daun jeruk Kalamansi didukung dengan keberadaan dari berbagai senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun jeruk Kalamansi, seperti alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan terpenoid [33].

Keberadaan metabolit sekunder ini menjadi faktor penting yang mendukung aktivitas antibakteri melalui mekanismenya terhadap bakteri [34].

Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri diduga melalui cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikon pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel [35].

Senyawa flavonoid juga diketahui memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri

dengan dengan cara menyebabkan terganggunya permeabilitas dinding sel bakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma [36] yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri [37].

Kerusakan membran sitoplasma ini akan menyebabkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan menyebabkan bisa masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, yang akan dapat menyebabkan kematian bakteri [38].

Pada perusakan membran sitoplasma, ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat [39].

Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak akan mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma yang mengakibatkan bocornya membran sitoplasma sehingga bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian [40].

Pada senyawa tanin diduga kemampuannya sebagai antibakteri bekerja dengan menghambat sintesis khitin yang membentuk dinding sel pada bakteri dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat [41].

Untuk senyawa saponin sebagai antibakteri cara kerjanya adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel yang dapat memicu keluarnya senyawa intraseluler sitoplasma dari sel yang dapat mengakibatkan kematian pada sel [42].

Pada hasil pengujian diketahui bahwa kemampuan antibakteri dari minyak atsiri daun jeruk Kalamansi lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanolnya, karena pada minyak atsiri terdapat kandungan senyawa terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri [43].

Hal ini adalah akibat reaksi dari senyawa terpenoid dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin [44].

Kerusakan porin merupakan pintu keluar masuknya substansi, sehingga mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati [45].

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, diduga komponen bioaktif berupa

saponin, flavonoid dan terpenoid yang terkandung dalam daun jeruk Kalamansi bersifat sebagai antibakteri bakteriosidal karena dapat mendenaturasi protein dan merusak membran sitoplasma sel sehingga menyebabkan kematian pada sel bakteri [46].

Hal tersebut menunjukkan bahwa potensi limbah daun jeruk Kalamansi yang berasal dari pemangkasan dapat kita manfaatkan kemampuan antibakterinya.

## SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun jeruk Kalamansi (*C.microcarpa*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, hal ini dilihat dari nilai signifikan ( $P < 0,01$ ).

Kemampuan antibakteri ekstrak etanol daun jeruk Kalamansi terhadap kedua bakteri tergolong sedang dengan diameter zona hambat yaitu 7,20 dan 5,73 mm pada konsentrasi 40%.

2. Minyak atsiri Ekstrak daun jeruk Kalamansi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, hal ini dilihat dari nilai signifikan ( $P < 0,01$ ).

Kemampuan antibakteri minyak atsiri daun jeruk Kalamansi terhadap kedua bakteri tergolong kuat dengan diameter zona hambat sebesar 14,80 dan 13,00 mm pada konsentrasi 20%.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri ekstrak dan minyak atsiri daun jeruk Kalamansi dengan menggunakan banyak variasi konsentrasi agar dapat ditentukan nilai konsentrasi optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Said , N.I., Ruliasih Marsidi, Mikro-organisme Patogen Dan Parasit Di Dalam Air Limbah Domestik Serta Alternatif Teknologi Pengolahan, *JAI* , 2005: 1(1): 65-81.
- [2] Lutpiatina, L, Cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aerogenosa* pada Steteskop di Rumah Sakit, *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 2017: 6(2): 61-

- 66.
- [3] Amagai, M., N. Matsuyoshi, Z. H. Wang, C. Andl , J. R. Stanley , Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1, *Nature Medicine*, 2000: 6: 1275–1277
- [4] Hidayah, N., Aisyah Khoirotn Hisan, Ahmad Solikin, Irawati, Dewi Mustikaningtyas, Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*, *Journal of Creativity Students* , 2016: 1 (1): 1-9
- [5] Pangestu, N,S, Nurhamidah, Elvinawati, 2017, Aktivitas Antioksidan dan Anti Bakteri Ekstrak Daun *Jatropha gossypifolia L*, *Alotrop*. 1(1): 15-19.
- [6] Homenta, H., Infeksi biofilm bakterial, *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 2016: 4(1): 1- 11
- [7] Haribi, R., Khoirul Yusron, Pemeriksaan *Escherichia coli* Pada Air Bak Wudhlu 10 Masjid Dikecamatan Tlogosari Semarang, *Jurnal Kesehatan*, 2010: 3 (1): 21-26.
- [8] Widianingsih, M., Aldino Marcos de Jesus, Isolasi *Escherichia coli* Dari Urine Pasien Infeksi Saluran Kemih Di Rumah Sakit Bhayangkara Kediri , *Al-Kauniyah ; Journal of Biology*, 2018: 11(2): 99-108
- [9] Septiasari, D., Arum Siwiendrayanti, Hubungan Higiene Pedagang Dan Sanitasi Dengan Jumlah Bakteri *Coliform* Pada Daging Ayam, *Jurnal Pena Medika*, 2016: 6(2): 80 –90
- [10] Hilda, Berliana , Pola Resistensi Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Berbagai Antibiotik Di Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur Tahun 2013, *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 2015: 4(2): 63-68.
- [11] Adibi,S, Hendry Nordan, Septri Nurjaya Ningsih, Moga Kurnia, Evando, Salastri Rohiat, Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Daun *Strobilanthes crispus* Bl (Keji Beling) ) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Alotrop* ,2017: 1( 2): 148-154.
- [12] Andriani, Y, Habsah Mohamad, M.N.I, Kassim., N.D. Rosnan., D.F. Syamsumir., J. Saidin.,*et al*, Evaluation on *Hydnophytum formicarum Tuber* from Setiu

- Wetland (Malaysia) and Muara Rupit (Indonesia) for Antibacterial and Antioxidant activities and anti-cancer Potency against MCF-7 and HeLa Cell. *Journal of Applied Pharmaceutical Science (JAPS)* , 2017: 7(9):30-37.
- [13] Andriani, Y., Habsah Mohamad, Kesaven Bhubalan, M. Iqmal Abdullah, Hermansyah Amir., Phytochemical Analyses, Anti Bacterial And Anti-Biofilm Activities Of Mangrove-Associated *Hibiscus tiliaceus* Extracts And Fractions Againts *Pseudomonas aeruginosa*, *Journal of Sustainability Science and Management (JSSM)* , 2017: 12 (2): 45-51.
- [14] Tutuarima, T., Kurnia Harlina Dewi, Novita Sinambela, Optimasi Proses Maserasi Hasil Samping Industri Sirup Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*), *Agrotechno*, 2018: 3(2): 359-364
- [15] Mohamad, H., Y. Andriani., K. Bakar., C.C. Siang., D.F. Syamsumir., A. Alias *et al* ,Effect of drying method on anti – microbial, anti-oxidant activities and isolation of bioactive compounds from *Peperomia pellucida* (L) Hbk. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* , 2015: 7(8): 578-584.
- [16] Amir, H, Bambang Gonggo Murrцитro, , Uji Microtetrazolium (MTT) Ekstrak Metanol Daun *Phaleriamacrocarpa* (Scheff.) Boerl Terhadap Sel Kanker Payudara MCF<sub>7</sub> , *Alotrop*, 2017: 1 (1) : 27-32.
- [17] Agustina, W., Nurhamidah, Dewi Handayani. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L.). *Alotrop*. 2017: 1(2) : 117-122.
- [18] Sarfina, J, Nurhamidah, Handayani, D, 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Daun *Ricinus communis* L (Jarak Kepyar), *Alotrop*, 1(1): 66-70.
- [19] Sari, P.P., Wiwik Susanah Rita, dan Ni Made Puspawati, Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin Dari Ekstrak Daun trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr)Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* (*E. coli*), *Jurnal Kimia*, 2015: 9(1):27-34.
- [20] Nastiti,D.S., Nurhamidah, I Nyoman Chandra, 2017.PemanfaatanEkstrak Buah *Morus alba* L. (Murbei) Sebagai Pengawet Alami Ikan *Seraoides lepotolepis* (Selar).*Alotrop*, 2019:3(1):1-7.
- [21] Tria, G., Nurhamidah. Hermansyah Amir, Potensi Ekstrak Metabolit Sekunder *Eugenia uniflora* L. Sebagai Bahan Pengawet Tahu. *Alotrop*. 2018:2(1):39-45
- [22] Marliana, S.D., Venty Suryanti, Suyono, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi* , 2005: 3 (1): 26-31.
- [23] Hartini, V.A., Khairul Anam, Bambang Cahyono, Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Daun Ketapang Kencana (*Terminalia Muelleri* Benth) dan Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* , 2012: 15 (2) : 47–52.
- [24] Sari,I.,The Characterization Of Simplisia, Isolation And Identification Of Chemical Constituens From Thallus *Turbinaria decurrens* Bory, *Jurnal Natural*, 2015: 15(2): 18-27.
- [25] Alam, P.N., Aplikasi Proses Pengkelatan untuk Peningkatan Mutu Minyak Nilam Aceh, *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan* , 2007 : 6 (2): 63-66.
- [26] Oktarina,D.,Sumpono, Rina Elvia. ,Uji Efektivitas Asap Cair Cangkah Buah *Hevea Brasilensis* Terhadap Aktivitas Bakteria *Escherichia coli*, *Alotrop*, 2017:1(1):1-5.
- [27] Andriani , Y., M.A.W.Effendy, T. M.T. Sifzizul,Mohamad Habsah, Antibacterial, Radical- Scavenging Activities And Cytotoxicity Properties Of *Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Leaves In Hepg2 Cell Lines, *IJPSR*, 2011: 2(7): 1700-1706.
- [28] Melliawati, R., *Escherichia Coli* dalam kehidupan manusia, *BioTrends* , 2009: 4 (1): 10-14.
- [29] Noviana, H., Pola kepekaan antibiotika *Escherichia coli* yang diisolasi dari berbagai spesimen klinis, *J Kedokter Trisakti* , 2004: 23 (4) : 122-126.
- [30] Sudewi , S., Widya Astuty Lolo ,

- Kombinasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*, *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2016; 4(2): 36-42.
- [31] Kalalo, L.P., Aryati, B. Subagjo. Pola Bakteri dan Tes Kepekaan Antibiotika Wanita Hamil dengan Bakteriuria Asimtomatis, *Indonesian Journal Of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 2006; 12(3): 103 - 109
- [32] Pratiwi, R.S., Tjiptasurasa, Retno Wahyuningrum, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) Terhadap *Bacillus subtilis* Dan *Escherichia coli*, *Pharmacy*, 2011; 8(3): 1-10.
- [33] Jamaluddin, N., Maimunah Hindun Pulungan, Warsito, Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC, *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*, 2017; 6 (2): 61-66.
- [34] Putri, H.D., Sumpono, Nurhamidah., Uji Aktivitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (*Hevea brassiliensis*) Dan Aplikasinya Dalam Penghambatan Ketengikan Daging Sapi, *Alotrop*, 2018 : 2(2): 97-105
- [35] Dwicahyani, T., Sumardianto, Laras Rianingsih, Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *J. Peng. & Biotek. Hasil Pi.*, 2018; 7 (1): 15-24.
- [36] Ngajow, M., Jemmy Abidjulu, Vanda S. Kamu, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal MIPA Unsrat online*, 2013; 2(2): 128-132.
- [37] Astriyai, W., Puguh Surjowardojo, Tri Eko Susilorini, Daya Hambat Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) Dengan Pelarut Ethanol Dan Aquades Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah, *Jurnal Ternak Tropika*, 2017; 18(2): 8-13.  
Prasko, Bambang Sutomo, Suwarsono,
- [38] Iman Supardan, Daya Hambat Daun Alpukat Muda Terhadap Bakteri Mulut (*Streptococcus Mutans*)
- [39] Andriani, Y., NHM Lazim, A Asari, F. Mohamad, TST Muhammad, N Ismail, *et al*, Evaluation of selected echinoderms from peninsular Malaysia for cytotoxicity against HepG<sub>2</sub> cells, antioxidant and antibacterial activities, and their metabolites profiling, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2018: 8 (10): 32 – 38.
- [40] Andriania, Y., Desy Fitriya Syamsumir, Tee Ching Yee, Faizah Shaharom Harisson, Gan Ming Herng, Siti Aishah Abdullah *et al*, Biological Activities of Isolated Compounds from Three Edible Malaysian Red Seaweeds, *Gracilaria changii*, *G. manilaensis* and *Gracilaria* sp., *Natural Product Communications*, 2016; 11 (8): 1117 – 1120.
- [41] Nuryani, S., Jhunnison, Daya Antifungi Infusa Daun Kenikir (*cosmos caudatus* k) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Secara in Vitro, *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 2016; 5(1): 5-11
- [42] Kusumowati, I.T.D., Rosita Melannisa, Angga Prasetyawan Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma affine* D. Don), *Biomedika*, 2014; 6 (2) : 22-25.
- [43] Yuliani, R., Peni Indrayudha, Septi Sriandita Rahmi, Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Pharmakon*, 2011: 12(2): 50-54
- [44] Das, P., Shoma Dutta, Jaripa Begum, Md. Nural Anwar, Antibacterial and Antifungal Activity Analysis of Essential Oil of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth, *Bangladesh J Microbiol*, 2013; 30 (1&2): 7-10,
- [45] Hafizah, I., Fine Farhani Muliati, Sulastri-anah, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Porifera (*Spongia Officinalis*) terhadap *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, *Medula*, 2016; 4 (1): 296-302.
- [46] Ningsih, A.S., Christina Nugroho Ekowati, Sumardi, Salman Farisi, Uji Daya Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat

ALOTROP, *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 2019: 3 (2): 158-169.

Dari Kefir dengan Inokulum Ragi Tape  
Terhadap *Escherichia coli* , *Biosfer*  
*Jurnal Tadris Pendidikan Biologi* , 2018:  
9 (2): 28-42

Penulisan sitasi artikel ini adalah

Oktasila, D., Nurhamidah, Dewi Handayani, Uji  
Aktivitas Antibakteri Daun Jeruk Kalamansi  
(*Citrofortunella microcarpa*) Terhadap Bakteri  
*Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*,  
*Alotrop*, 2019: 3(2): 158-169.