

	<p>Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (<i>Citrofortunella Microcarpa</i>) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> Amiliah^{*1}, Nurhamidah², Dewi Handayani³ ^{1,2,3} Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Bengkulu *E-mail : amiliah_377@yahoo.co.id</p>					
						

ABSTRACT

This study aims to test the antibacterial activity of crude extracts and essential oils of citrus fruit peel calamansi against bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Calamansi citrus fruit raw material is obtained from the village of Pondok Kubang, Bengkulu Tengah (3.70660 S, 102.35780 E). The crude extract of citrus fruit peel obtained from the maceration result using 96% ethanol, furthermore crude extracts were obtained diluted concentrations of 40%, 20%, 10%, and 5%. The essential oil of citrus fruit peel is obtained from the distillation of stem-water, then made variation of concentration 20%, 15%, 10%, and 5%. The method used to test antibacterial activity is the method of paper disc diffusion. The antibacterial activity is shown by the presence on inhibitory zone diameter. The data of antibacterial test result were analyzed by using One Way Anova which showed the effect of treatment on test bacteria growth seen from ($P < 0,01$) and continued by Duncan test to know the effect of treatment. The results showed that the crude extract of citrus fruit peel had antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli* bacteria with moderate inhibitory diameter is 10 mm and 7.2 mm (medium) at concentration of 40%. The essential oil of citrus fruit peel has antibacterial activity against *S. Aureus* and *E. coli* bacteria with each inhibitory zone diameter 12,7 mm (strong) and 8,3 mm (medium) at concentration 20%.

Keywords : *citrus peel calamansi, antibacterial, Staphylococcus aureus, Escherichia coli*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bahan baku kulit buah jeruk Kalamansi diperoleh dari Desa Pondok Kubang, Bengkulu Tengah (3.70660 S, 102.35780 E). Ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi didapatkan dari hasil maserasi dengan menggunakan etanol 96%, selanjutnya ekstrak kasar yang diperoleh dibuat pengenceran konsentrasi 40%, 20%, 10%, dan 5%. Minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi didapatkan dari hasil destilasi uap-air, kemudian dibuat variasi konsentrasi 20%, 15%, 10%, dan 5%. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi kertas cakram. Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh adanya diameter zona hambat yang terbentuk. Data hasil uji antibakteri dianalisa statistika dengan menggunakan Anova satu arah (*One way*) yang menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri uji yang dilihat dari nilai ($P < 0,01$) dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. Aureus* dan *E.coli* dengan diameter zona hambat yang tergolong sedang yaitu 10 mm dan 7,2 mm pada konsentrasi 40%. Minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan masing-masing diameter zona hambat yaitu 12,7 mm (kuat) dan 8,3 mm (sedang) pada konsentrasi 20%.

Kata kunci : *kulit jeruk Kalamansi, antibakteri, Staphylococcus aureus, Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki berbagai varietas jeruk yang dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik dan dikenal hingga sekarang sangat beragam, hal ini karena beberapa jenis jeruk tersebut dapat disilangkan sehingga menghasilkan hibrida antar jenis yang memiliki karakter khas yang berbeda dari jenis tetuanya. Beberapa jeruk telah menjadi unggulan negara Indonesia seperti jeruk siam, jeruk keprok, jeruk manis, jeruk pamelon, jeruk nipis, dan lain-lain [1].

Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) merupakan jeruk hasil hibrida antara *citrus* sp dan *fortunella* sp yang pembudidayaannya dikembangkan diprovinsi Bengkulu sebagai produk unggulan. Jeruk Kalamansi dapat tumbuh hingga ketinggian 5 m, memiliki buah yang kecil, kulit jeruk berwarna hijau kekuningan yang cukup tipis, dan rasa buah yang asam saat matang [2].

Produksi buah jeruk Kalamansi dalam satu lahan budidaya bisa menghasilkan 100 Kg per harinya. Buah jeruk Kalamansi ini digunakan sebagai bahan baku pembuatan olahan sirup

Kalamansi yang banyak menyisakan kulit buah jeruk yang belum dimanfaatkan secara maksimal, padahal bagian kulit buah jeruk ini hampir 30% dari berat total buah yang masih bisa dimanfaatkan [3].

Kulit buah jeruk kaya akan nutrisi dan mengandung banyak senyawa metabolit sekunder seperti sumber flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan minyak atsiri [4]. Adanya kandungan metabolit sekunder seperti minyak atsiri [5] dalam kulit buah jeruk ini menjadi perhatian untuk diteliti sehingga dapat membuat kulit buah jeruk memiliki nilai ekonomis [6]. Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki peran sebagai agen antibakteri [7].

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau bahkan dapat membunuh bakteri yang bersifat patogen dengan cara mengganggu metabolismenya [8]. Pengendalian pertumbuhan bakteri patogen bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi bakteri pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh bakteri [9].

Bakteri patogen yang sering menginfeksi tubuh manusia ialah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi kulit dan keracunan makanan sedangkan *E. coli* dapat menyebabkan diare, infeksi saluran kemih, dan kemampuan menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus [10].

Berbagai macam penelitian telah dilakukan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen. Bahan-bahan alami yang berasal dari alam lebih diutamakan untuk pencegahan bakteri yang merugikan.

Penelitian aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri, secara langsung berkaitan dengan komponen yang terkandung didalamnya yaitu minyak atsiri, tanin, alkaloid, fenolat dan flavonoid [11].

Senyawa fenol dan turunannya (tanin) merupakan zat antibakteri yang bekerja dengan cara menghambat fungsi membran sel sehingga mengganggu permeabilitas membran sel dan menyebabkan pertumbuhan bakteri akan terhambat [12].

Minyak atsiri kulit buah jeruk purut (*Cyrtus hystrix*) mengandung komponen utama

golongan terpenoid. Senyawa tersebut telah terbukti mempunyai efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, dinding polisakarida dan ergosterol membran sel [13].

Berdasarkan permasalahan dan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dimulai dari bulan Maret 2018 sampai dengan Juni 2018. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pendidikan Kimia FKIP, Laboratorium Basic Science FMIPA, dan Laboratorium Biomedik FKIK, Universitas Bengkulu.

Alat-alat yang digunakan selama penelitian antara lain blender, botol vial, corong kaca, aluminium foil, alat destilasi, corong pisah, kertas saring, kertas HVS, sudip, pipet tetes, pipet volumetri, kaca arloji, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, erlenmeyer, cawan petri, jarum ose, bunsen, penggaris, pinset, Hotplate (Lab.Companion HP-3000I), neraca analitik (BEL Engineering M254Ai), oven (Memmert), rotary evaporator (Heidolph laborata 4000 Efficient), spektrofotometer UV-Vis (PD-303S), autoklaf (Hirayama HVA-85), mikropipet (eppendorf), inkubator (IB-11E), laminary air flow (Nuair NU-1263000E), dan vortex (VM-96B).

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah: etanol (teknis, 96%), Nutrient Agar (Merck), NaCl 0,9%, DMSO (Merck), kristal FeCl₃ (Merck, p.a), plat KLT, n-heksana, etil asetat, aquades, pita Mg (MERCK), larutan HCl (Merck, p.a, 32%), H₂SO₄ (Merck, p.a, 98%), dan KI (Merck, p.a).

Bahan yang diteliti adalah kulit buah jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) yang diperoleh dari industri sirup jeruk Kalamansi didaerah Pondok Kubang, Kabupaten Bengkulu Tengah. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Persiapan Sampel

Sampel kulit buah jeruk Kalamansi diambil dari industri sirup jeruk Kalamansi daerah Pondok Kubang, Kabupaten Bengkulu Utara. Kulit buah jeruk Kalamansi dibersihkan. Pada pembuatan ekstrak kasar, kulit buah jeruk yang telah dibersihkan selanjutnya dilakukan perajangan dengan cara dipotong kecil-kecil dan diiris setipis mungkin, hal ini dimaksudkan untuk mempercepat proses pengeringan.

Kulit buah jeruk Kalamansi yang telah terpotong-potong kemudian dikering-anginkan, simplisia yang telah kering selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplisia kering. Pada pembuatan minyak atsiri, kulit buah jeruk Kalamansi yang telah dibersihkan selanjutnya dirajang hingga diperoleh bagian-bagian yang cukup kecil kemudian langsung dilakukan destilasi uap-air.

Pembuatan Ekstrak Kasar

Serbuk kering kulit buah jeruk Kalamansi ditimbang 500 g dan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan 2 L etanol 96%. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk kulit buah jeruk Kalamansi selama 72 jam (3 hari) dengan sesekali diaduk ataupun dikocok

Prosedur diulangi dengan 1 kali pengulangan atau dilakukan remaserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh maserat. Hasil maserasi (maserat) tersebut dikasarkan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kasar

Skrining Fitokimia

Pembuatan Reagen untuk Uji Fitokimia

Pereaksi Mayer's

Larutan Besi (III) Klorida 1%

Sebanyak 1 g kristal FeCl_3 dimasukkan kedalam labu ukur kemudian dilarutkan dengan aquades hingga 100 ml.

Larutan Asam Sulfat 2 N

Sebanyak 13,9 ml H_2SO_4 pekat dimasukkan kedalam labu ukur yang telah berisi 100 ml aquades secara perlahan melalui dinding gelas, kemudian diencerkan hingga volume 250 ml.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam kulit jeruk Kalamansi. Metabolit sekunder yang diuji secara kualitatif antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, tanin, dan fenol.

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,2 g sampel ditambahkan dengan 0,1 g serbuk Mg dan beberapa tetes HCl 2N. Terbentuknya warna jingga sampai merah mengindikasikan adanya senyawa flavonoid [14]

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,2 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 5 ml HCl 2N kemudian disaring. Filtrat dimasukkan kedalam tabung reaksi lain dan ditetesi pereaksi Mayer's. Apabila terbentuk endapan berwarna putih menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid [15].

Uji Tanin

Sebanyak 0,2 g sampel dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 ml aquades. Lalu ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, biru-hijau atau biru-hitam kebiruan [16].

Uji Saponin

0,2 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml aquades. Kemudian dikocok kuat-kuat. Terbentuk buih yang stabil mengindikasikan adanya saponin [17].

Uji Terpenoid/Steroid

Plat KLT diaktivasi menggunakan oven selama 1 jam dengan suhu 110°C . Kemudian plat dipotong sepanjang 5 cm dan diberi tanda batas atas dan bawah dengan jarak masing-masing 1 cm. Lalu, sampel uji ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan elusi n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 6:4.

Setelah dihasilkan noda-noda kemudian plat KLT disemprot dengan penampak bercak H_2SO_4 . Kemudian dipanaskan menggunakan oven selama 15 menit pada suhu 50°C dan diamati perubahan warna yang terbentuk pada Plat KLT. Adanya warna merah muda atau pink

menunjukkan positif senyawa terpenoid sedangkan warna ungu positif steroid [18].

Penyulingan Minyak Atsiri

Destilasi minyak atsiri dari kulit jeruk Kalamansi dilakukan dengan metode destilasi uap air. Kulit buah jeruk Kalamansi yang telah dipotong atau diperoleh ukuran yang cukup kecil dimasukkan ke dalam penyulingan yang diletakkan di atas saringan yang berpori dan dibawahnya terdapat air

Selanjutnya di destilasi selama 3-4 jam, uap air akan masuk ke dalam kulit jeruk Kalamansi sehingga minyak atsiri akan ikut terbawa ke dalam kondensor. Hasil destilasi dipisahkan dengan corong pemisah [19].

Uji Aktivitas Antibakteri

Sterilisasi Alat

Seluruh alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan dicuci bersih dan dikeringkan. Alat-alat gelas yang digunakan dibungkus dengan kertas HVS dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan udara 1 atm dan suhu 121⁰C selama 15 menit [20].

Sudip dan pipet tetes direndam dengan etanol 96%, jarum ose dan pinset disterilkan dengan dipijarkan menggunakan nyala bunsen, dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit .

Pembuatan Medium

Media pembenihan Nutrient Agar (NA) dibuat dengan cara melarutkan 5,6 g NA kedalam 200 ml aquades (28 g/1000 ml) kemudian dipanaskan hingga larut. Mensterilkan media tersebut dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C selama 15 menit [21].

Peremajaan Bakteri

Mengambil 1 ose bakteri uji (*S. aureus* dan *E.coli*) kemudian menggoreskan ke dalam masing masing media NA miring [22].

Pembuatan Suspensi Bakteri

Membuat suspensi bakteri uji (*S. aureus* dan *E. coli*) diambil masing-masing 1 ose bakteri uji, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologis 0,9%,

kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Kekeruhan suspensi bakteri uji diukur dengan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 μ m.

Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji (ekstrak kasar) dibuat sebanyak 4 g ekstrak kulit buah jeruk Kalamansi dan melarutkannya dengan 5 ml pelarut DMSO. Sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 80%.

Kemudian dibuat variasi konsentrasi 40; 20; 10; dan 5% . Sedangkan pembuatan larutan uji (minyak atsiri) kulit buah jeruk Kalamansi diambil sebanyak 0,2 ; 0,15 ; 0,10 ; dan 0,05 g dilarutkan ke dalam 1 ml DMSO sehingga diperoleh variasi konsentrasi 20; 15; 10; dan 5% [23].

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Menimbang 0,05 gram Amoxicilin kemudian dilarutkan ke dalam 5 mL aquades steril lalu dihomogenkan. Kontrol negatif menggunakan pelarut DMSO [24].

Penentuan Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram untuk mengukur diameter pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Cara penentuannya adalah sebagai berikut: Suspensi bakteri digoreskan pada seluruh permukaan media NA yang telah memadat, kemudian diletakkan kertas cakram menggunakan pinset steril. Lalu pada kertas cakram ditetaskan larutan uji sebanyak 10 μ l. Selanjutnya, di inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Kemudian diukur diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan penggaris [25].

Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi dianalisis dengan analisis *one way* ANOVA. Apabila perlakuan yang diberikan menunjukkan pengaruh yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf signifikansi 1% yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi perlakuan yang terbaik [26]. Analisis *one way* ANOVA dilakukan dengan

menggunakan *Ms. Excel dan SPSS* versi 16 serta uji Duncan dilakukan dengan menggunakan fasilitas SPSS versi 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan Ekstrak Kasar Kulit Buah Jeruk Kalamansi

Sampel kulit buah jeruk Kalamansi diambil dari industri produksi sirup jeruk Kalamansi di Pondok Kubang, Kabupaten Bengkulu Tengah. Kulit buah jeruk Kalamansi dibersihkan dan dipisahkan daging buah jeruk yang masih menempel sehingga hanya kulit buah jeruknya saja. Proses ini diperoleh kulit buah jeruk Kalamansi sebanyak 3,2 Kg, lalu dilanjutkan perajangan atau dipotong kecil-kecil dan pengeringan.

Pengeringan kulit buah jeruk Kalamansi dengan cara dikering-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Pengeringan dilakukan untuk menghindari terjadinya kerusakan pada kandungan kimia seperti metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia kulit buah jeruk Kalamansi. Proses pengeringan ini juga dimaksudkan untuk mengurangi kadar air.

Pengurangan kadar air ini bertujuan untuk menghindari tumbuhnya jamur atau kapang yang dapat merusak simplisia, sehingga simplisia yang diperoleh tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama. Simplisia yang telah kering kemudian ditimbang dan diperoleh sebanyak 0,75 Kg sehingga kadar air yang terdapat didalam kulit buah jeruk Kalamansi adalah sebesar 76,56%. Simplisia kering diblender sampai didapatkan serbuk yang halus guna memperbesar luas permukaan sampel dan meningkatkan daya interaksinya dengan pelarut sehingga dapat mengoptimalkan proses ekstraksi.



Gambar 1 (a) Kulit Buah Jeruk Kalamansi Segar, (b) Kulit Buah Jeruk Kalamansi Setelah Kering

Ekstraksi kulit buah jeruk Kalamansi menggunakan ekstraksi cara dingin yaitu metode maserasi. Maserasi merupakan metode pengekstrakan simplisia yang menggunakan cairan penyari dengan beberapa kali pengocokan. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari (pelarut) [27].

Maserasi kulit buah jeruk Kalamansi dilakukan dengan merendam 500 g serbuk simplisia dalam pelarut yang akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung komponen aktif [28]. Perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel membuat larutan yang terpekat didesak keluar dari dalam dinding sel. Pelarut yang digunakan dalam maserasi ini adalah etanol 96%.

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan pengaruh efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Etanol merupakan pelarut yang banyak digunakan karena dapat melarutkan sebagian besar golongan senyawa sehingga lebih mudah untuk menembus bahan intraseluler dalam mengekstrak komponen aktif dari bahan tumbuhan [29].

Proses maserasi ini berlangsung selama 3×24 jam pada suhu ruangan dengan beberapa kali pengocokan. Tujuan dilakukan pengocokan yaitu agar seluruh serbuk dapat kontak dengan pelarut dan senyawa dapat terekstrak dengan optimal. Setelah proses maserasi, pelarut dipisahkan dari sampel simplisia dengan penyaringan.

Residu yang diperoleh dilakukan remaserasi sebanyak satu kali agar senyawa aktif yang masih terdapat dalam sampel dapat terekstrak. Filtrat simplisia kulit buah jeruk Kalamansi diperoleh sebanyak 2,3 L yang dipekatkan dengan cara evaporasi menggunakan rotary evaporator diperoleh ekstrak kasar 47,12 g dengan rendemennya 9,4%.

2. Penyulingan Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Kalamansi

Proses yang dilakukan untuk memperoleh minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi terdiri dari dua tahap yaitu perlakuan pendahuluan dan

pemisahan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi.

Perlakuan pendahuluan dilakukan dengan pengecilan ukuran dengan cara dirajang atau dipotong kecil-kecil untuk memperbesar luas permukaan kontak saat destilasi. Minyak atsiri dalam tanaman aromatik dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, kantung minyak atau rambut glanural karena itu minyak atsiri hanya dapat diekstraksi apabila uap air berhasil menembus jaringan tanaman dan mendesaknya ke permukaan (hidrodifusi), tetapi proses ini berlangsung sangat lambat bila bahan dalam keadaan utuh. Sehingga perlu dilakukan perajangan untuk memaksimalkan proses pemisahan minyak atsiri yang akan dilakukan. Selanjutnya proses pemisahan minyak atsiri jeruk Kalamansi dilakukan dengan cara destilasi.

Destilasi merupakan suatu proses pengambilan (pemisahan) minyak atsiri dari bahannya dengan bantuan uap air yang terjadi karena adanya perbedaan titik didih diantara komponen-komponen bahan.

Didalam alat suling terdapat minyak atsiri dan air, dimana keduanya bersifat tidak dapat bercampur. Destilasi yang digunakan dalam memisahkan minyak atsiri dari kulit buah jeruk Kalamansi yaitu menggunakan destilasi uap-air. Sampel kulit buah jeruk Kalamansi yang digunakan dalam setiap proses destilasi sebanyak 1,4 Kg dengan waktu destilasi selama 3-4 jam.

Destilasi dilakukan dua kali dengan jumlah yang sama. Sampel diletakkan diatas sangsang (saringan) berpori dan dibawah sangsang terdapat air yang dipanaskan. Permukaan air berada dibawah sangsang, sehingga tidak ada kontak langsung antara air dan sampel kulit buah jeruk Kalamansi. Pada destilasi uap-air, antara air dan minyak atsiri dalam kulit buah jeruk Kalamansi tidak menguap secara bersama-sama.

Pada awalnya air akan menguap setelah proses pemanasan dilakukan, setelah mencapai suatu kesetimbangan tekanan tertentu maka uap air akan masuk ke jaringan dalam bahan dan mendesak minyak atsiri ke permukaan. Minyak atsiri akan ikut menguap bersama uap air menuju kondensor (pendingin).

Proses destilasi ini dijalankan sampai minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi terekstrak seluruhnya. Selama proses destilasi

volume air dijaga konstan dengan penambahan air sedikit demi sedikit. Destilat yang diperoleh belum berupa minyak atsiri murni, namun merupakan campuran antara minyak atsiri dan air.

Untuk memisahkan, destilat ditampung dan dimasukkan kedalam corong pisah dimana terlihat dua bagian, bagian atas terdapat minyak atsiri dalam jumlah yang sedikit sedangkan air terletak dibagian bawah. Bagian minyak atsiri yang dipisahkan ditampung pada botol vial yang berbeda dan dibungkus dengan kertas aluminium foil.

Rendemen yang dihasilkan dari destilasi uap-air terhadap sampel kulit buah jeruk Kalamansi yaitu sebesar 0,0596%.

Uji Organoleptis minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Organoleptis Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Kalamansi

No	Organoleptis	Hasil
1	Bentuk	Cair
2	Warna	Bening
3	Bau	Khas aromatis

Uji Fitokimia Kulit Buah Jeruk Kalamansi

Hasil uji fitokimia secara kualitatif ditemukan terdapat kandungan metabolit sekunder pada kulit buah jeruk Kalamansi (*C. microcarpa*). (Tabel 2)

Pada serbuk kulit buah jeruk Kalamansi menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid, saponin, dan tanin. Pada uji alkaloid, penambahan pereaksi Mayer akan menyebabkan terbentuknya endapan berwarna putih untuk uji positifnya. Namun, hasil pengamatan uji alkaloid serbuk kulit buah jeruk Kalamansi diperoleh hasil yaitu tidak terdeteksi atau sedikitnya kadar senyawa alkaloid.

Uji identifikasi flavonoid, penambahan pita magnesium dan asam klorida akan menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid yang ada sehingga menimbulkan reaksi warna merah atau jingga yang merupakan ciri adanya flavonoid pada sampel.

Tabel 2 Hasil Uji Fitokimia Serbuk Kulit Buah Jeruk Kalamansi

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Hasil
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	Negatif
Flavonoid	Mg+HCl	Coklat orange	Positif
Tanin	FeCl ₃	Coklat Kehitaman	Positif
Saponin	aquades lalu dikocok	Terdapat buih yang stabil	Positif

Dalam analisis ini diperoleh hasil pengamatan berupa perubahan warna menjadi coklat orange yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid yang terkandung pada serbuk kulit buah jeruk Kalamansi.

Kandungan tanin dalam tumbuhan diuji dengan menggunakan pereaksi FeCl₃ 1%. Hasil yang diperoleh pada sampel serbuk kulit buah jeruk Kalamansi positif mengandung tanin dengan memberikan warna hijau kehitaman.

Uji identifikasi saponin pada sampel serbuk kulit buah jeruk Kalamansi menunjukkan hasil positif senyawa saponin Hasil uji fitokimia menggunakan ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi menunjukkan hasil positif untuk golongan senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid (Tabel 3).

Tabel 3 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Kulit Buah Jeruk Kalamansi

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Keterangan
Alkaloid	Mayer	Endapan Putih	positif
Flavonoid	Mg+HCl	Merah magenta	positif
Tanin	FeCl ₃	coklat kehitaman	positif
Saponin	Aquades, dikocok	Buih yang stabil	positif
Terpenoid	KLT, H ₂ SO ₄ pekat	Ada noda merah muda	positif
Steroid	KLT, H ₂ SO ₄ pekat	-	negatif

Hal ini karena sampel yang diujikan telah melalui proses ekstraksi sebelumnya sehingga jaringan-jaringan penghasil metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan dapat ditembus dan dimasukkan oleh pelarut sehingga metabolit

sekunder yang terdapat dalam tumbuhan mengalami interaksi dan ikut keluar dari sel jaringan. Pada uji alkaloid, ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi menunjukkan hasil yang positif, penambahan pereaksi Mayer akan menyebabkan terbentuknya endapan berwarna putih berupa endapan kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuriem (II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuriem (II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk Kalium tetraiodomerkurat (II).

Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K⁺ dari Kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap [30].

Hasil uji flavonoid untuk ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi menggunakan potongan pita Magnesium dan HCl pekat menghasilkan warna merah magenta. Tujuan penggunaan Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga [31].

Kandungan tanin dalam ekstrak diuji dengan menggunakan FeCl₃ 1%. Hasil yang diperoleh positif mengandung tanin dengan memberikan warna hijau kehitaman. Pada penambahan FeCl₃ 1%, diperkirakan larutan ini bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin membentuk senyawa kompleks. Hasil reaksi tersebut yang akhirnya menimbulkan warna hijau atau biru kehitaman [32].

Uji identifikasi saponin pada ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi juga menunjukkan hasil positif terdapat buih yang stabil karena saponin memiliki glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus terpenoid sebagai gugus non polar yang bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan aquades dapat membentuk misel yang terlihat pada hasil pengamatan berupa buih yang stabil [33].

Untuk uji terpenoid atau steroid menggunakan analisis KLT menunjukkan bahwa

ekstrak mengandung senyawa terpenoid karena adanya noda merah muda pada plat KLT.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar dan Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Kalamansi

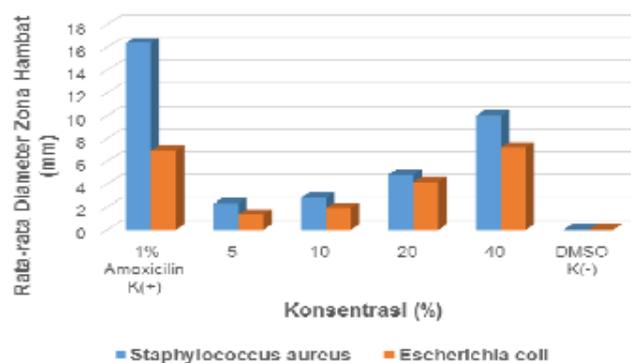
Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi terhadap *S. aureus* dan *E. Coli* dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dalam cawan petri yang telah berisi medium nutrient agar (NA).

Pada pengujian ini menggunakan kertas cakram yang berdiameter 6 mm. Kemampuan ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi dalam berbagai variasi konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E.coli* dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk. Bakteri uji yang telah diremajakan kemudian dihitung nilai OD masing-masing bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yaitu sebesar 0,090 dan 0,092 yang disetarakan dengan kepadatan bakteri sebesar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

Dalam satu cawan petri berisi 3 cakram kertas yang masing-masingnya akan diteteskan larutan uji dengan konsentrasi yang sama dan diukur diameter zona hambatnya terhadap *S. Aureus* dan *E. coli*.

Kekuatan daya antibakteri menurut Davis dan Stout dalam Ngajow bahwa zona hambat <5 mm tergolong lemah, 5-10 mm tergolong sedang, 10-20 mm tergolong kuat, dan >20 mm tergolong sangat kuat [34].

Pada gambar 2 dapat dilihat nilai rata-rata zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri uji (*S.aureus* dan *E.coli*) bahwa kemampuan penghambatan bakteri uji yang paling besar pada konsentrasi 40% masing-masing yaitu 10 mm dan 7,2 mm dan tergolong sedang. Sedangkan daya hambat yang tergolong lemah terlihat pada konsentrasi 20%, rata-rata diameter zona hambatnya yaitu 4,8 dan 4,2 mm, konsentrasi 10%, rata-rata diameter zona hambatnya yaitu 2,8 dan 1,9 mm dan konsentrasi 5% yaitu masing-masing sebesar 2,3 mm dan 1,3 mm.



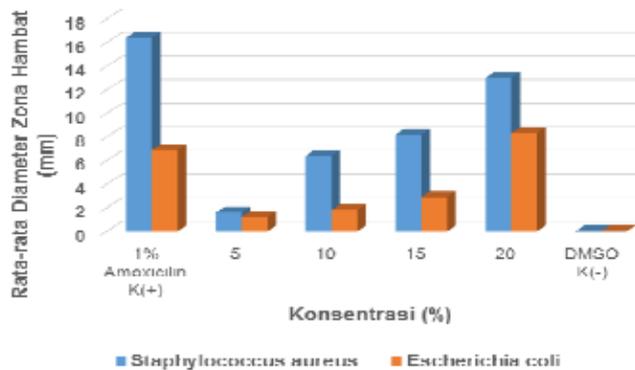
Gambar 2 Hubungan Konsentrasi Ekstrak Kasar Kulit Buah jeruk Kalamansi terhadap Diameter Zona Hambat

Berdasarkan Gambar 2, ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi terbukti mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk dimana semakin besar konsentrasi ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi maka semakin besar pula penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri uji dimana kemampuan menghambat ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi terhadap bakteri *S.aureus* berbeda dengan *E. Coli* yang diduga karena adanya perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri.

Perbedaan tingkat sensitivitas antara bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dikarenakan bakteri *S.aureus* memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan pada bakteri *Escherichia coli*. Tingkat sensitivitas ini ditandai dengan tingginya tingkat hambatan yang dihasilkan oleh suatu senyawa antimikroba tertentu. Hal ini karena adanya perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri.

Bakteri *E. Coli* merupakan gram negatif yang memiliki lapisan dinding sel yang dilapisi oleh lipopolisakarida, lipoprotein, lapisan peptidoglikon, dan porin, sehingga pada media yang ditumbuhi *E. Coli* terbentuk zona hambat yang relatif kecil [35] sedangkan bakteri gram positif *S. aureus* memiliki lapisan dinding sel yang lebih tipis terdiri atas lapisan peptidoglikon dan asam teikoat, sehingga dengan mudah dihambat oleh ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi [36].

Hasil uji minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi terhadap pertumbuhan bakteri uji yang dilakukan dalam 3 kali pengulangan diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambatnya (Gambar 3)



Gambar 3. Hubungan Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Kalamansi Terhadap Diameter Zona Hambat

Berdasarkan Gambar 3 variasi konsentrasi minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi mempengaruhi zona hambat yang terbentuk dimana semakin tinggi konsentrasi maka zona hambat yang terbentuk juga semakin besar dengan perbedaan signifikan.

Pada konsentrasi 5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji (*S. aureus* dan *E. coli*) rata-rata diameter zona hambat sebesar 2,3 mm (lemah) dan 1,3 mm (lemah).

Pada konsentrasi 10%, rata-rata diameter zona hambatnya masing-masing yaitu 6,4 (sedang) dan 1,8 (lemah), untuk konsentrasi 15%, rata-rata diameter zona hambatnya masing-masing yaitu 8,2 (sedang), 2,9 (lemah). Kemampuan penghambatan bakteri uji (*S. aureus* dan *E. coli*) paling besar terlihat pada konsentrasi 20 % masing masing yaitu 13 mm (kuat) dan 7,2 mm (sedang).

Berdasarkan hasil ANOVA yang menggunakan SPSS 16, pada kolom Signifikansi diperoleh nilai ($P < 0,01$) dan hasil ANOVA yang menggunakan Ms. Excel bahwa nilai F hitung $> F$ tabel. Pada ekstrak kasar mempengaruhi pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan nilai F hitung (452,897) dan F hitung (154,164) untuk penghambatan *E.coli*. Pada minyak atsiri juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai F hitung (541,328) untuk penghambatan *S.aureus* dan F hitung (93,731) untuk penghambatan *E.coli*.

Dengan demikian, pada taraf $\alpha = 0,01$ dapat dikatakan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata antara perlakuan (konsentrasi) terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar

perlakuan dilakukan uji lanjut (Post Hoc) melalui uji Duncan.

Hasil uji Duncan ini juga dapat diketahui pengaruh perlakuan (konsentrasi) yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E. coli*.

Tabel 4. Uji Duncan Pengaruh Perlakuan Ekstrak Kasar Terhadap Pertumbuhan Bakteri Uji

Rata-rata diameter zona hambat	Perlakuan				K(+)	K(-)
	Konsentrasi Ekstrak Kasar					
	5%	10%	20%	40%		
<i>S. aureus</i>	2,3d	2,8d	4,8c	10b	16,4a	0e
<i>E.coli</i>	1,3cd	1,9c	4,2b	7,2a	6,9a	0d

Keterangan: angka yang berbeda diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda signifikan ($< 0,01$)

Pada tabel 4 bahwa konsentrasi ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk. Pada konsentrasi 5% dan 10% ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi dalam menghambat bakteri *S. aureus* menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Pada konsentrasi 5% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan konsentrasi 10% ataupun dengan kontrol negatif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Perlakuan pada konsentrasi 40% merupakan konsentrasi yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E. coli* masing-masing yaitu 10 dan 7,2 mm.

Tabel 5. Uji Duncan Pengaruh Perlakuan Minyak Atsiri Terhadap Pertumbuhan Bakteri Uji

Rata-rata diameter zona hambat	Perlakuan				K(+)	K(-)
	Konsentrasi Ekstrak Kasar					
	5%	10%	20%	40%		
<i>S. aureus</i>	1,6t	6,4s	8,2r	12,7q	16,4p	0u
<i>E.coli</i>	1,2s	1,8rs	2,9r	8,3p	6,9q	0t

Keterangan: angka yang berbeda diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda signifikan ($< 0,01$)

Pada tabel 5 bahwa perlakuan (konsentrasi) minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk karena dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Untuk bakteri *E.coli* dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 10% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan konsentrasi 5% ataupun 15% dan terlihat bahwa konsentrasi 20% merupakan konsentrasi yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yaitu masing-masing 12,7 dan 8,3 mm.

Pada penentuan aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi digunakan pembanding antibiotik amoxicilin yang merupakan antibiotik bakterisidal dan mempunyai spektrum luas yang menghambat sintesis dinding sel selama sel membelah.

Amoxicilin mengasilasi enzim transpeptidase yang berperan membentuk ikatan antar peptidoglikon pada pembentukan dinding sel sehingga sel bakteri mati akibat lisis [37], yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun negatif.

Hal ini terbukti bahwa pada penelitian menunjukkan hasil zona hambat untuk amoxicilin terbentuk sangat luas dan kekuatan antibakterinya tergolong kuat.

Hasil yang diperoleh pada kontrol negatif (DMSO) tidak menunjukkan zona hambat disekitar kertas cakram yang menunjukkan bahwa DMSO tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Hasil serupa ditunjukkan dalam penelitian Rahmi (2020) yang menunjukkan bahwa DMSO yang digunakan sebagai pelarut tidak menunjukkan adanya potensi aktivitas antibakteri [38].

Aktivitas antibakteri pada ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi akibat adanya senyawa-senyawa fitokimia pada kulit buah jeruk Kalamansi, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid. Senyawa metabolit sekunder ini akan mengganggu komponen penyusun membran sel ataupun permeabilitas membran sel sehingga terjadi pengkerutan ataupun komponen yang ada dalam sel keluar, bahkan dapat menghambat pembentukan membran sel dan menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri.

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dengan dengan cara menyebabkan terganggunya permeabilitas dinding sel bakteri [39]. dan mampu menghambat motilitas bakteri [40]. 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.

Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikon pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel [41].

Tanin dapat membunuh pertumbuhan bakteri karena mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein dan menyebabkan membran sel bakteri mengkerut yang mengakibatkan permeabilitas sel menurun [42].

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, jadi mekanisme kerja saponin menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida [43].

Senyawa terpenoid juga diketahui aktif melawan bakteri, mekanisme yang terjadi melibatkan pemecahan membran sitoplasma dari peran komponen-komponen yang bersifat hidrofobik [44].

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa terpenoid adalah terpenoid bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Kerusakan porin merupakan pintu keluar masuknya substansi, sehingga mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi maka pertumbuhan bakteri terhambat atau mati [45].

Pada hasil pengujian bahwa kemampuan antibakteri dari minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi lebih besar dibandingkan dengan ekstrak kasarnya. Hal ini diduga karena komponen yang terkandung dalam minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi.

Menurut Chen dkk (2013) diketahui ada dua komponen utama yang terdapat pada kulit buah jeruk Kalamansi yaitu monoterpen dan seskuiterpen. Kedua komponen ini dikenal mempunyai sifat antimikroba terkhusus sebagai antibakteri [46].

Menurut Trombetta, dalam Pratiwi, dkk kandungan monoterpen pada minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Umumnya monoterpen bersifat lipofilik. Monoterpen telah dibuktikan lebih cenderung berdifusi ke fasa struktur membran bakteri dibandingkan fasa air. Terakumulasinya molekul monoterpen ke fasa membran akan membuat membran mengalami pengembangan (swelling), meningkatkan permeabilitas membran sehingga merusak membran yang mengikat protein sel bakteri [47].

Dari hasil analisis penelitian ini bahwa ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi memiliki potensi sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E. coli* sehingga kulit buah jeruk Kalamansi bernilai ekonomis yang perlu dikembangkan untuk bisa diaplikasikan sebagai krim ataupun obat yang mampu mengendalikan pertumbuhan bakteri ataupun membunuh bakteri.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri uji yaitu:

1. Ekstrak kasar kulit buah jeruk Kalamansi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E. coli*, hal ini dilihat dari nilai signifikansi ($P < 0,01$). Kemampuan antibakteri ekstrak kasar jeruk Kalamansi tergolong sedang dengan diameter zona hambat yaitu 10 mm dan 7,2 mm pada konsentrasi 40%.
2. Minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E. coli*, hal ini dilihat dari nilai signifikansi ($P < 0,01$). Kemampuan antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi

tergolong kuat (12,7 mm) dan sedang (8,3 mm) pada konsentrasi 20%.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu:

1. Mengetahui senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri dengan cara isolasi dan identifikasi senyawa murni ekstrak kasar dan minyak atsiri kulit buah jeruk Kalamansi.
2. Mengetahui dosis yang tepat untuk digunakan dalam pengaplikasian sebagai antibakteri baik berupa sediaan krim atau obat.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika – Puslitbanghorti – Balitbangtan – Kementerian Pertanian, *Jenis Jeruk Yang Berkembang di Indonesia*, artikel <http://balitjestro.litbang.pertanian.go.id/jenis-jeruk-yang-berkembang-di-indonesia/> 23 Maret, 2020.
- [2] Novita, T., Tuti Tutuarima, dan Hasanuddin, Sifat Fisik Dan Kimia Marmalade Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa*): Kajian Konsentrasi Pektin Dan Sukrosa, *Eksakta*, 2017, 18 (2): 164-172.
- [3] Elmitra dan Yuska Noviyanti, Uji Sifat Fisik Sabun Padat Transparan Dari Minyak Astiri Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa*), *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*, 2020, 5 (1): 40-48.
- [4] Devy, N.F., F. Yulianti, dan Andrini, Kandungan Flavonoid dan Limonoid pada Berbagai Fase Pertumbuhan Tanaman Jeruk Kalamondin (*Citrus mitis Blanco*) dan Purut (*Citrus hystrix Dc.*), *Jurnal Hortikultura*, 2010, 20 (1) : 360-367
- [5] Saputra, K.A., Ni Made Puspawati, dan I Wayan Suirta, Kandungan Kimia Minyak Atsiri Dari Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia*, 2017: 11(1): 64-68.
- [6] Hidayati, Distilasi Minyak Atsiri Dari

- Kulit Jeruk Pontianak Dan Pemanfaatannya dalam Pembuatan Sabun Aromaterapi, *Biopropal Industri*, 2012, . 3 (2): 39-49.
- [7] Ensamory, M.L., Rahmawati dan Diah Wulandari Rousdy, Aktivitas Antijamur Infusa Kulit Buah Jeruk Siam (*Citrus nobilis*) Terhadap *Aspergillus niger* EMP1 U2, *Jurnal Labora Medika* , 2017, 1(2): 6-13
- [8] Pratiwi, R.H., Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik, *Jurnal Pro-Life* , 2017, 4 (3): 418-429.
- [9] Marfuah, I., Eko Nurcahya Dewi dan Laras Rianingsih, Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* , 2018, 7(1): 7-14.
- [10] Fitri , W.N., dan Driyanti Rahayu, Review: Akitivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan *Melastomataceae* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*, *Farmaka Suplemen* , 2018, 16 (2): 69-77.
- [11] Parama, P.W., I Dewa Made Sukrama dan Steffano Aditya Handoko, Uji efektifitas antibakteri ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* in vitro, *Bali Dental Journal*, 2019, 3 (1) : 45-52
- [12] Dewi, M.K., Evie Ratnasari dan Guntur Trimulyono, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu, *LenteraBio* , 2014, 3 (1): 51 –57
- [13] Murniati, Dedy Suhendra, Erin Ryantin G, Sri Seno Handayani dan Dwi Ariani, Penambahan Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Purut Terhadap Kualitas Sabun Transparan Dari Minyak Inti Buah Ketapang, *Jurnal Sains dan Teknologi*, 2020, 9(2): 176-187.
- [14] Sogandi dan Putu Nilasari, Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Potensinya sebagai Inhibitor Karies Gigi, *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 2019, 9 (2): 73-81
- [15] Nurhamidah, Hazli Nurdin, Yunazar Manjang dan Abdi Dharmaa., Identifikasi Profil Fitokimia Dan Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Dietil Eter Daun Surian (*Toona sinensis* (A.Juss) M.Roem) Dengan Metode DPPH, *Alotrop*, 2019: 3(1): 65-69.
- [16] Marlindaa, M., Meiske S. Sangia dan Audy D. Wuntua, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.), *Jurnal MIPA Unsrat Online* , 2012, 1 (1) 24-28
- [17] Agustina, W., Nurhamidah dan Dewi Handayani. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L.). *Alotrop*. 2017: 1(2) : 117-122.
- [18] Wahyuni, I., Erina, Fakhurrrazi, Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* roxb) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner (JIMVET)* 2018, 2(3):242-254
- [19] Muhtadin, A.F., Ricky Wijaya, Pantjawarni Prihatini, dan Mahfud, Pengambilan Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk Segar dan Kering dengan Menggunakan Metode Steam Distillation , *Jurnal Teknik Pomits*, 2013, 2(1): F98-F101
- [20] Tille, P., *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* 13th Edition, St. Louis Missouri: Elsevier. eBook ISBN: 9780323277426
- [21] Emrizal dan Siti Zuraida, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.F) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia* , 2018, 6 (2) : 72 - 75
- [22] Sudewi , S., dan 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-*

- [23] Oktasila, D., Nurhamidah dan Dewi Handayani, Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Alotrop*, 2019: 3(2): 158-169.
- [24] Pratiwi, R.S., Tjiptasurasa dan Retno Wahyuningrum, Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Kayu Nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) Terhadap *Bacillus subtilis* Dan *Escherichia coli*, *Pharmacy*, 2011, 8(3): 1-10.
- [25] Nurhayati, L. S., Nadhira Yahdiyani dan Akhmad Hidayatulloh, Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal teknologi Hasil Peternakan*, 2020, 1(2): 41-46.
- [26] Huda, N., Djufri dan Laili Suhairi, Perbandingan Perendaman Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca* var. Raja) Dan Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata*) Terhadap Karakteristik Organoleptik Dan Fisik Daging Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*, 2017, 2(1): 63-77.
- [27] Indarto, Windy Narulita, Bambang Sri Anggoro dan Aulia Novitasari, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium Acnes*, *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 2019, 10 (1): 67-78
- [28] Dwicahyani, T., Sumardianto dan Laras Rianingsih, Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 2018, 7(1): 15-24.
- [29] Suhendra, C.P., I Wayan Rai Widarta dan Anak Agung Istri Sri Wiadnyani, Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 2019, 8(1): 27-35.
- [30] Marlina, S.D., Venty Suryanti dan 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.
- [31] Ergina, Siti Nuryanti dan Indarini Dwi Pursitasari, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol, *Jurnal Akademika Kimia*, 2014, 3 (3): 165 - 172
- [32] Ikalinus, R., Sri Kayati Widyastuti dan Ni Luh Eka Setiasih, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*), *Indonesia Medicus Veterinus*, 2015, 4(1) : 71-79
- [33] Minarno, E.B., Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavanoid Pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cagar, Dan Dataran Tinggi Dieng, *El-Hayah*, 2015, 5(2): 73-82.
- [34] Ngajow, M., Jemmy Abidjulu dan 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
- [35] Hamidah, M.N., Laras Rianingsih, dan Romadhon, Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* Dan *S. Aureus*, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 2019, 1(2): 11-21.
- [36] Sujadmiko, W.K.K.Y., dan Prima Retno Wikandari, Resistensi Antibiotik Amoksisilin Pada Strain *Lactobacillus plantarum* B1765 Sebagai Kandidat Kultur Probiotik, *UNESA Journal of Chemistry*, 2017, 6(1): 54-58.
- [37] Ulya, M., Fauzia Nilam Orienty, Maulida Hayati, Efek Uji Daya Bunuh Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus Auranti Folia*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*, *Jurnal B-Dent*, 2018, 5 (1): 30 - 37

- [38] Rahmi, M., dan Dwi Hilda Putri, Aktivitas Antimikroba DMSO sebagai Pelarut Ekstrak Alami, 2020, *Serambi Biologi*, 2020, 5(2): 56-58
- [39] Nomer, N.M.G.R., Agus Selamat Duniaji dan Komang Ayu Nocianitri, Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 2019, 8 (2): 216-225.
- [40] Manik, D.F., Triana Hertiani dan Hady Anshory, Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Khazanah*, 2014, 6 (2): 1-11.
- [41] Sudarmi, K., Ida Bagus Gede Darmayasa dan I Ketut Muksin, Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* ATCC, *Jurnal Simbiosis*, 2017, 5(2): 47 – 51
- [42] Sinea, Y., dan Gergonius Fallo, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Bio- Edu : Jurnal Pendidikan Biologi*, 2016, 1(1): 9-11.
- [43] Kurniawan, B., dan Wayan Ferly Aryana, Binahong (*Cassia Alata* L) As Inhibitor Of *Escherichia Coli*, Growth, *Journal Majority*, 2015, 4 (4): 100-104
- [44] Rahmawati, F., Maria Bintang, I Made Artika, Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of *Geranium homeanum* Turez Leaves, *Current Biochemistry*, 2017, 4 (3): 13 – 22.
- [45] Egra, S., Mardhiana, Mut Rofin, Muhammad Adiwena, Nur Jannah, Harlinda Kuspradini, dan Tohru Mitsunaga, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu, *Agrovigor*, 2019, 12 (1): 26 – 31 .
- [46] Chen, H.C., Li-Wen Peng, Ming-Jen Sheu, Li-Yun Lin, Hsiu-Mei Chiang, Chun-Ta Wu, Chin-Sheng Wu and Yu-Chang Chen, Effects of hot water treatment on the essential oils of calamondin, *Journal of food and drug analysis*, 2013, 21: 363-368.
- [47] Pratiwi, D., Irma Suswati. Dan Mariyam Abdullah, Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap *Salmonella typhi* Secara In Vitro. *Jurnal Saintika Medika*, 2013, 2 (2): 110-115

Penulisan sitasi artikel ini adalah Amiliah, Nurhamidah dan Dewi Handayani, Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Alotrop*, 2021: 5(1):