

**PENGARUH EKSTRAK KULIT BUAH JERUK NIPIS  
(*Citrus Aurantiifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI**

*Escherichia Coli* secara in vitro

**Karya Tulis Ilmiah**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Diajukan oleh:

**Anis Khoirotun Nisa'**

**01.207.5443**

Kepada

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG**

2011

**KARYA TULIS ILMIAH**

**PENGARUH EKSTRAK KULIT BUAH JERUK NIPIS (*Citrus Aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia Coli* secara in vitro**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

**Anis Khoirotn Nisa'**

**01.207.5443**

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

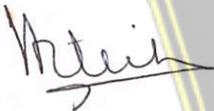
pada tanggal 7 Februari 2011

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Susunan Tim Penguji**

Pembimbing I

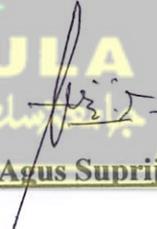
Anggota Tim Penguji



Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes.

dr. Hj. Oathrunnada Djam'an, M.Si,Med.

Pembimbing II



dr. H. Joko Wahyu W., M.Kes.

dr. HM. Agus Suprijono, M.Kes.

Semarang, Februari 2011

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And

## PRAKATA

Assalamu'alaikum wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis telah diberi kesehatan, kesabaran, ilmu, dan kesempatan untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah berjudul **“PENGARUH EKSTRAK KULIT BUAH JERUK NIPIS (*Citrus Aurantiifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia Coli* secara in vitro**” ini tepat waktunya sebagai bagian persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran UNISSULA. Sholawat dan salam selalu tercurah kepada junjungan besar Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya.

Terselesaikannya penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat:

1. Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes., Sp.And selaku Dekan Fakultas Kedokteran Umum Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah mengijinkan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing I dan dr. H. Joko Wahyu W., M.Kes selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran, dan dorongan sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan.
3. dr. Hj. Qathrunnada Djam'an, M.Si,Med. Dan dr. HM. Agus Suprijono, M.Kes selaku penguji Karya Tulis Ilmiah ini.
4. dr. Ridha Wahyutomo selaku Kepala Bagian Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UNISSULA Semarang.

5. Kedua orang tuaku H. Kasdi Yanto dan Hj. Sunarti serta adikku Izzatul Mawaddah yang telah memberikan doa, semangat, dan dukungan moral maupun spiritual selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis sehingga tersusunnya Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan di masa datang.

Akhir kata, penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi serta bermanfaat bagi para pembaca.

Wassalamu'alaikum wr. Wb.

Semarang, Januari 2011

Penulis



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
INTISARI .....	x
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Escherichia coli</i> .....	5
2.1.1 Taksonomi <i>Escherichia coli</i> .....	5
2.1.2 Morfologi dan identifikasi <i>Escherichia coli</i> .....	5
2.1.3 Proses Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> .....	6
2.1.4 Biakan <i>Escherichia coli</i> .....	6
2.2 Jeruk nipis .....	7
2.2.1 Taksonomi Jeruk nipis.....	7

2.2.2 Morfologi Tumbuhan.....	8
2.2.3 Kandungan kimia dan manfaat .....	8
2.3 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba	
in vitro.....	10
2.2.4 PH lingkungan .....	10
2.2.5 Temperatur .....	10
2.2.6 Nutrien .....	11
2.2.7 Stabilitas obat .....	11
2.2.8 Waktu Inkubasi .....	11
2.2.9 Faktor aktivitas metabolik mikroorganisme .....	12
2.4 Mekanisme kerja antibakteri Estrak kulit buah jeruk nipis.....	12
2.5 Antimikroba ciprofloksasin .....	14
2.2.10 Mekanisme kerja .....	14
2.2.11 Farnakokinetik .....	14
2.2.12 Efek samping dan interaksi obat .....	14
2.6 Uji kepekaan terhadap antimikroba in vitro .....	15
2.2.13 Metode dilusi .....	15
2.2.14 Metode difusi .....	16
2.7 Kerangka Teori .....	17
2.8 Kerangka Konsep .....	18
2.9 Hipotesis .....	18
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>19</b>
3.1 Jenis Penelitian dan rancangan penelitian.....	19

3.2	Variabel Dan Definisi Operasional .....	19
3.3	Populasi dan Sampel .....	20
3.4	Instrumen dan bahan penelitian .....	20
3.5	Cara Penelitian .....	21
3.6	Tempat dan Waktu .....	24
3.7	Analisis Hasil .....	24
3.8	Alur Kerja Penelitian .....	25
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>26</b>
4.1	Hasil penelitian .....	26
4.2	Pembahasan .....	29
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>32</b>
5.1	Simpulan .....	32
5.2	Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>34</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 1 Zona Hambat Ekstrak kulit buah jeruk nipis ( <i>Citrus Aurantiifolia</i> ) terhadap <i>Escherichia coli</i> pada media nutrient agar (dalam mm) .....	26
Tabel 2 Data hasil uji Kruskal-Wallis.....	28



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Uji normalitas .....	36
Lampiran 2 Uji homogenitas .....	37
Lampiran 3 Uji Kruskal-Wallis .....	37
Lampiran 4 Uji Mann-Whitney .....	38
Lampiran 5 Foto hasil penelitian .....	44
Lampiran 6 Surat ijin penelitian .....	48
Lampiran 7 Surat keterangan telah melakukan penelitian .....	49



## INTISARI

Akhir-akhir ini terdapat permasalahan resistensi antibiotic terhadap bakteri, sebagai alternatif dicoba bahan alam dengan menggunakan kulit jeruk nipis yang mengandung flavonoid sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit buah jeruk nipis terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Jenis penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Jumlah sampel penelitian sebanyak 21 cawan petri dengan metode difusi agar, dibagi menjadi 7 kelompok yaitu I sebagai kontrol positif (ciprofloksasin 10 $\mu$ g), II sebagai kontrol negatif (aquades), dan III,IV,V,VI dan VII sebagai kelompok dengan perlakuan ekstrak kulit buah jeruk nipis 20%,40%,60%,80% dan 100%, dan masing-masing kelompok dengan 3 kali percobaan.

Hasil rata-rata dari hitung zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yaitu K-I 30mm dengan satu cawan petri yang sebagian bakterinya tidak tumbuh; K-II 0mm; K-III 0mm; K-IV 0mm; K-V 6,67mm; K-VI 9,33mm; K-VII 12,33mm. Sebaran data tidak normal ( $p < 0,05$ ) dan tidak homogen ( $p < 0,05$ ) maka data dianalisis dengan uji non parametrik Kruskal Wallis, hasilnya terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* ( $p < 0,05$ ) pada K-I, K-V, K-VI, dan K-VII.

Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat pengaruh dari ekstrak kulit buah jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro pada K-V, VI, VII dan K-I (kontrol positif).

Kata Kunci : Ekstrak kulit buah jeruk nipis, pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) merupakan buah yang mudah ditemui di negara-negara tropis termasuk Indonesia dan dimanfaatkan juga sebagai obat (Dalimartha,2000). Alasan lain penggunaan obat dari alam adalah banyaknya kasus pemakaian antibiotika yang tidak tepat untuk pengobatan infeksi bakteri memunculkan berbagai masalah setelah puluhan tahun pemakaiannya yaitu menimbulkan bakteri yang resisten terhadap antibiotika (Simadibrata,2006). Kandungan dalam jeruk nipis yang bersifat antimikroba, salah satunya adalah flavonoid. Konsentrasi flavonoid yang lebih tinggi berada pada daun dan kulit kupasannya (Winarsi,2007). Antimikroba dari kulit buah jeruk nipis pernah diteliti sebelumnya oleh Rizky Wahyu (2008) bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Indikasi adanya antimikroba pada kulit buah jeruk nipis maka pada penelitian ini dicobakan pada bakteri gram negatif antara lain *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan *Escherichia coli* merupakan anggota flora normal pada usus besar manusia yang juga bisa menyebabkan infeksi primer pada usus. Diare merupakan salah satu infeksi saluran pencernaan yang banyak menjadi wabah tidak hanya di negara berkembang tetapi juga di negara maju. (Simadibrata,2006). Diare infeksius yang sering ditemukan merupakan intoksikasi dari bakteri *Escherichia coli* (Jawetz *et.al*,2005).

*Escherichia coli* sebagai penyebab infeksi pada gastroenteritis memiliki angka kejadian yang tinggi. Diperkirakan pada orang dewasa setiap tahunnya mengalami diare sebanyak 99.000.000 kasus, dan di Amerika Serikat, 1,5% dari pasien yang dirawat di rumah sakit akibat diare. Dari penelitian di Rumah Sakit Persahabatan didapatkan 38,29% etiologi diare akut disebabkan oleh *Escherichia coli* (Simadibrata,2006). Menurut *World Gastroenterology Organisation global guidelines* (2005), epidemiologi penyebab diare infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* diperantarai oleh air dan makanan.

Pengobatan pada penyakit diare oleh karena bakteri yaitu dengan pemberian antibiotik karena antibiotik bekerja sebagai pembunuh dan penghambat pertumbuhan bakteri. Tetapi dengan berkembangnya populasi mikroba yang resisten menyebabkan antibiotik yang tadinya efektif sebagai antimikroba menjadi berkurang daya terapetiknya. Efek samping berkaitan dengan antibiotik profilaksis, dapat saja lebih berat daripada potensi manfaat yang diharapkan (Simadibrata,2006). Sehingga perlu dikembangkan pemanfaatan bahan alam sebagai pengganti antibiotik. Penggunaan bahan alam sebagai obat semakin meningkat. Hal ini dikarenakan bahan alam memiliki keuntungan, antara lain: relatif mudah didapat, murah, efek sampingnya relatif rendah, dan pada satu tanaman memiliki lebih dari satu efek farmakologi (Katno,2004). Banyak tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, salah satu diantaranya yaitu jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*). Menurut berbagai pustaka, buah jeruk nipis, khususnya di bagian kulit buah

mengandung flavonoid, seperti poncirin, hesperidine, rhoifolin dan naringin, (Dalimartha,2000). Flavonoid menyebabkan inaktivasi material genetik sehingga mengganggu pembentukan DNA *gyrase*, akibatnya transport informasi genetik dan proses pembiakan terganggu (Simamora,2009). Kosentrasi flavonoid yang lebih tinggi berada pada daun dan kulit kupasannya dibandingkan dengan jaringan yang lebih dalam (Winarsih,2007). Pada penelitian yang dilakukan oleh Rizqy Wahyu (2008) bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* pada kosentrasi 20%,40%, 80% dan 100%.

Dengan adanya indikasi kulit buah jeruk nipis mempunyai daya antimikroba, maka perlu dilakukan penelitian tentang efek antimikroba ekstrak kulit buah jeruk nipis terhadap beberapa bakteri gram negatif salah satu diantaranya terhadap *Escherichia coli* secara in vitro dengan menggunakan metode difusi.

## 1.2 Perumusan Masalah

Adakah Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro?

## 1.3 Tujuan penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui daya hambat ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan berbagai konsentrasi.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Mengukur diameter zona hambat aquades steril, cakram ciprofloksasin 10 $\mu$ g, dan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap bakteri *Escherichia coli* secara in vitro.
- 1.3.2.2 Membandingkan diameter zona hambat aquades steril, cakram ciprofloksasin 10 $\mu$ g, dan ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%

### 1.4 Manfaat

#### 1.4.1 Manfaat Praktis

1. Menambah informasi kepada masyarakat tentang kegunaan kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*)
2. Memanfaatkan kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) yang biasanya hanya menjadi limbah.

#### 1.4.2 Manfaat Teoritis

1. Menambah pengetahuan dalam bidang fitofarmasi
2. Dasar untuk penelitian selanjutnya di masa yang akan datang, khususnya mengenai daya antimikroba dari ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*)

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Escherichia coli*

##### 2.1.1 Taksonomi *Escherichia coli*

Dunia : *Prokariota*

Divisi : *Proteobacteria*

Kelas : *Gamma-proteobacteria*

Ordo : *Eubakteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Spesies : *coli* (Tortora,2010).

##### 2.1.2 Morfologi dan identifikasi

Enterobacteriaceae adalah batang pendek gram negatif yang dapat membentuk rantai. Morfologi khususnya dapat dilihat dalam pertumbuhan pada perbenihan padat in vitro, tetapi morfologinya sangat bervariasi dalam bahan klinik (Jawetz *et.al*, 2005)

*Escherichia coli* adalah kuman berbentuk batang pendek (kokobasil), negatif gram, ukuran 0,4  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ , sebagian besar gerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul. *Escherichia coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi, pada media yang dipergunakan untuk isolasi kuman enteric, sebagian besar *strain Escherichia coli* tumbuh sebagai koloni

yang meragi laktosa. *Escherichia coli* bersifat mikroaerofilik. Beberapa *strain* bila ditanam pada agar darah menunjukkan hemolisis tip beta (Karsinah dkk, 2004)

### 2.1.3 Proses Pertumbuhan *Escherichia coli*

Untuk meneruskan informasi genetik pada perbanyakkan sel, sebelum pembelahan sel harus dibuat satu salinan dari genom yang prosesnya dinamakan replikasi. Proses ini dimulai dari untaian DNA yang direplikasi secara bersamaan, pada untaian-untaian tersebut terdapat molekul *polymerase* DNA III dan serangkaian enzim pembantu. Yang termasuk adalah *topoisomerase* DNA (*DNA gyrase*) yang berfungsi untuk mengendurkan jalinan untaian ganda DNA yang erat, *helikase* yang memisahkan untaian ganda DNA menjadi untaian tunggal. Agar informasi genetik yang disimpan di dalam DNA dapat digunakan maka harus disalin ulang dalam bentuk RNA, proses ini disebut transkripsi. Dan informasi genetik yang terkandung dalam DNA menyandikan urutan asam amino dari protein-protein fungsional, biosintesis protein ini disebut translasi. Pada proses translasi ini diperlukan faktor inisiasi agar terjadi asosiasi antara mRNA dengan tRNA (Koolman, 2000).

### 2.1.4 Biakan *Escherichia coli*

*Escherichia coli* dan kebanyakan bakteri enterik lain membentuk koloni yang bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata. Pola peragian karbohidrat dan aktivitas dekarboksilase asam amino serta

enzim lain biasanya digunakan dalam pembedaan biokimia. Beberapa tes, misalnya pembentukan indol dari triptofan, biasanya digunakan untuk pengenalan cepat. Biakan pada perbenihan “diferensial” yang mengandung zat warna khusus dan karbohidrat (misalnya eosin metilen biru [EMB], perbenihan MacConkey, atau perbenihan deoksikolat) membedakan koloni peragi laktosa (berwarna) dari koloni yang tidak meragikan laktosa (tak berpigmen) dan dapat digunakan untuk identifikasi presumtif bakteri enterik secara tepat (Jawetz *et.al*,2005).

*Escherichia coli* secara khas memberi hasil positif pada indol, lisin dekarboksilase, dan peragian manitol serta membentuk gas dari glukosa. Isolat urin dengan cepat dapat dikenali sebagai *Escherichia coli* karena terjadi hemolisis pada agar darah, morfologi koloni yang khas dengan “kilau” iridesen pada perbenihan diferensial misalnya agar EMB, dan tes bercak positif pada indol. Lebih dari 90% isolat *Escherichia coli* bersifat positif terhadap  $\beta$ -glukoronidase yang menggunakan substrat 4-metilumbeliferil- $\beta$ -glukoronida (MUG). Isolat dari tempat-tempat pada tubuh selain urin, dengan ciri-ciri khasnya sering dapat dipastikan sebagai *Escherichia coli* dengan tes MUG positif (Jawetz *et.al*, 2005).

## 2.1 Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*)

### 2.2.1 Taksonomi Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*)

- Kingdom : *Plantae*  
 Divisi : *Spermatophyta*  
 Sub divisi : *Angiospermae*  
 Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Rutales*  
Family : *Rutaceae*  
Genus : *Citrus*  
Spesies : *Citrus aurantifolia swingle* (Depkes RI,1991)

### 2.2.2 Morfologi tumbuhan

Jeruk nipis memiliki pohon kecil bercabang lebat, tetapi tidak beraturan, tinggi 1,5 - 3,5 m, batang bulat, berduri pendek, kaku, dan tajam. Daun tunggal, tangkai daun bersayap sempit. Helaian daun memiliki pangkal bulat, ujung tumpul, tepi beringgit, permukaan atas berwarna hijau tua mengilap, permukaan daun bagian bawah berwarna hijau muda, panjang 2,5 – 9 cm, lebar 2 – 5 cm. Bunga majemuk, tersusun dalam malai yang keluar dari ketiak daun, bunga berbentuk bintang, diameter 1,5 – 2,5 cm, berwarna putih, baunya harum. Buahnya berbentuk bulat sampai bulat telur, diameter 2,5 – 5 cm, berkulit tipis tanpa benjolan, berwarna hijau yang akan menjadi kuning jika matang, rasanya asam. Bijinya banyak, kecil- kecil, licin, bulat telur sungsang (Dalimartha,2000)

### 2.2.3 Kandungan kimia dan manfaat

Buah jeruk nipis memiliki beberapa kandungan kimia antara lain ; asam sitrat, dammar, lemak, vitamin C, vitamin B1, asam amino triptofan, lisin dan mineral besi, kalsium, fosfor, synephrine dan N-methyltyramine(Mursito,2001).

Tanaman jeruk nipis, khususnya di bagian kulit buah mengandung minyak atsiri dengan rincian komponen sebagai

berikut: limonene (82,06%),  $\beta$  pinene (7,29%),  $\beta$  mirsena (4,59%),  $\beta$  linalool (1,61%),  $\alpha$  pinena (1,59%), terpineol (0,30%),  $\alpha$  elemena (0,21%), selain itu juga mengandung flavonoid, seperti *poncirin*, *hesperidine*, *rhoifolin* dan *naringin* (Agusta,2000, Dalimartha,2000). Komponen minyak atsiri yang diduga sebagai antibakteri adalah Limonene, Linalool, dan mirsen yang bekerja membunuh bakteri dengan menghancurkan membran sel bakteri (Pasqua *et al*, 2007). Flavonoid menyebabkan inaktivasi material genetik sehingga mengganggu pembentukan DNA *gyrase*, akibatnya transport informasi genetik dan proses pembiakan terganggu (Simamora,2009).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk membuktikan efek antimikroba, antara lain : Menurut penelitian yang dilakukan Ratih Dyah Pratiwi, Fakultas Farmasi UGM (1992) minyak atsiri daun jeruk nipis mempunyai aktivitas hambatan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada kadar 20%, 40%, dan 80% serta *Escherichia coli* pada kadar 40% dan 80% (Dalimartha,2000). Di samping itu air perasan jeruk nipis mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Streptococcus haemoliticus* (Mursito, 2001). Penelitian yang dilakukan oleh Rizqy Wahyu, Fakultas Kedokteran UNS (2008) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis mempunyai hambatan terhadap

pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada kadar 20%, 40 %, 80% dan 100%.

### 2.3 Faktor Lingkungan yang mempengaruhi aktivitas antimikroba in vitro

Diantara banyak faktor yang mempengaruhi antimikroba secara in vitro, faktor yang secara nyata mempengaruhi hasil- hasil tes adalah:

#### 2.3.1 PH Lingkungan

PH merupakan indikasi konsentrasi ion hidrogen. Peningkatan dan penurunan konsentrasi ion hidrogen dapat Mikroorganisme yang terdapat pada media dengan PH asam dapat dibasmi pada suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan mikroorganisme pada media dengan PH basa (Jawetz *et.al*, 2005). Peningkatan dan penurunan konsentrasi ion hidrogen dapat menyebabkan ionisasi gugus- gugus dalam protein, amino dan karbohidrat. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi protein yang mengganggu pertumbuhan sel (Pratiwi, 2008).

#### 2.3.2 Temperatur

Temperatur menentukan aktivitas enzim yang terlibat dalam aktivitas kimia. Peningkatan temperatur sebesar 10<sup>0</sup>C dapat meningkatkan aktivitas enzim sebesar dua kali lipat. Pada temperatur yang sangat tinggi akan terjadi denaturasi protein yang *irreversible*, sedangkan pada temperatur yang sangat rendah aktivitas enzim akan berhenti. Pada temperatur pertumbuhan optimal akan terjadi kecepatan pertumbuhan optimal dan dihasilkan sel yang maksimal

(Pratiwi,2008). Selain, berpengaruh pada laju pertumbuhan, temperatur yang ekstrim dapat membunuh mikroorganisme, panas yang ekstrim digunakan untuk sterilisasi, temperatur dingin yang ekstrim juga dapat membunuh sel mikroba (Jawetz *et.al.*, 2005).

### 2.3.3 Nutrien

Kebanyakan mikroba yang hidup bebas akan tumbuh dengan baik pada ekstrak ragi, bakteri parasit mungkin membutuhkan zat-zat khusus yang hanya terdapat dalam darah atau dalam ekstrak jaringan hewan. Pada banyak organisme, senyawa tunggal (seperti misalnya asam amino) dapat bertindak sebagai sumber energi, sumber karbon dan sumber nitrogen, organisme lain memerlukan senyawa yang berbeda untuk tiap sumber. Bila pada perbenihan nonsintetik bahan- bahan alamiah yang digunakan kekurangan zat makanan tertentu, zat makanan itu harus disediakan tersendiri (Jawetz *et.al.*, 2005).

### 2.3.4 Stabilitas obat

Pada temperatur inkubator, beberapa obat antimikroba kehilangan aktivitasnya (Jawetz *et.al.*, 2005).

### 2.3.5 Waktu inkubasi

Mikroorganisme tidak dimatikan hanya dihambat setelah berhubungan singkat dengan obat antimikroba. Makin lama masa pengeraman berlangsung, makin besar kemungkinan timbulnya mutan resisten (Jawetz *et.al.*, 2005).

### 2.3.6 Faktor aktivitas metabolik mikroorganisme

Mikroorganisme yang metabolismenya tidak aktif dan dapat bertahan lama terhadap pengaruh obat memiliki turunan yang sangat peka terhadap obat yang sama (Jawetz *et.al*, 2005).

## 2.4 Mekanisme Kerja Antimikroba Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis

Mekanisme kerja sebagian besar antimikroba dibagi menjadi empat cara :

### 2.4.1 Penghambatan sintesis dinding sel

Bakteri memiliki dinding sel untuk mempertahankan bentuk mikroorganisme dan menahan sel bakteri yang memiliki tekanan osmotik yang tinggi dalam selnya. Kerusakan pada dinding sel atau hambatan pembentukannya akan menyebabkan lisis pada sel. Pada keadaan hipertonik, kerusakan pembentukan dinding sel mengakibatkan terbentuknya protoplas maupun sferoplas, yang bila ditempatkan pada lingkungan dengan keadaan normotonik, protoplas maupun sferoplas dapat menghisap cairan secara cepat, membengkak dan kemudian pecah (Jawetz *et.al*, 2005):

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penicillin, sefalosporin, basitrain, vankomisin, dan sikloserin (Setiabudy,2008).

### 2.4.2 Penghambatan fungsi selaput sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput sitoplasma yang bekerja sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif. dan dengan demikian mengendalikan susunan dari dalam sel. Bila fungsi

selaput sel terganggu, makromolekul dan ion akan lolos dari sel, dan terjadilah kerusakan atau kematian sel (Jawetz *et.al*, 2005).

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin (Setiabudy, 2008).

#### 2.4.3 Penghambatan sintesis protein (yaitu hambatan translasi dan transkripsi bahan genetik)

Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri ribosom terdiri dari dua sub unit yang dinyatakan dengan ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S (Setiabudy, 2008).

#### 2.4.4 Penghambatan sintesis asam nukleat

Antimikroba yang masuk dalam golongan ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Pada rifampisin menghambat pertumbuhan bakteri melalui ikatan kuat pada *polymerase* RNA yang bergantung DNA pada bakteri, sedangkan pada kuinolon akan menghambat sintesis DNA pada bakteri dengan menghambat *gyrase* DNA (Jawetz *et.al*, 2005).

Flavonoid menyebabkan inaktivasi material genetik sehingga mengganggu pembentukan DNA *gyrase*, akibatnya transport informasi genetik dan proses pembiakan terganggu (Simamora, 2009).

## 2.5 Antimikroba Ciprofloksasin

### 2.5.1 Mekanisme kerja

Bentuk *double helix* DNA harus dipisahkan menjadi 2 utas DNA pada saat akan berlangsungnya replikasi dan transkripsi. Pemisahan ini selalu mengakibatkan *overwinding* pada double helix DNA sebelum titik pisah. Hambatan ini dapat diatasi bakteri dengan bantuan enzim DNA *gyrase* (*topoisomerase II*) yang berfungsi menimbulkan relaksasi pada DNA yang mengalami *positive supercoiling* (pilinan positif yang berlebihan) pada waktu transkripsi dan replikasi DNA (Setiabudy,2008).

### 2.5.2 Farmakokinetik

Penyerapan ciprofloksasin terhambat bila diberikan bersama dengan antasida. Obat ini hanya sedikit terikat dengan protein tetapi didistribusi dengan baik pada berbagai organ tubuh. Dalam urin, mencapai kadar yang melampaui Kadar Hambat Minimal untuk kuman patogen selama minimal 12 jam. ciprofloksasin dapat mencapai kadar tinggi dalam cairan serebrospinal bila ada meningitis. Ciprofloksasin dengan dosis 500mg dengan pemberian per oral memiliki kadar puncak 1,5 – 3 mg/L dan bioavailabilitas oral 60-80% serta volume distribusi 2,5-5 l/kg (Setiabudy,2008).

### 2.5.3 Efek Samping dan Interaksi Obat

Kebanyakan terjadi keadaan yang merugikan yang melibatkan saluran pencernaan, pada 3-17% pasien mengeluh mual, muntah dan rasa kurang nyaman pada perut. Penggunaan obat ini pada anak merupakan kontraindikasi karena pada hewan coba dapat

menyebabkan *arthropathy* (Brunton et. al, 2008). Ciprofloksasin juga dapat menghambat metabolisme teofilin dan meningkatkan kadar teofilin dalam darah sehingga dapat menyebabkan intoksikasi (Setiabudy,2008).

## 2.6 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba in vitro

Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara in vitro bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Uji kepekaan terhadap obat antimikroba dapat dilakukan melalui dua cara :

### 2.6.1 Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antimikroba.

Prinsip dari metode dilusi adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih atau tidak ada pertumbuhan mikroba adalah KHM dari obat.

Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi

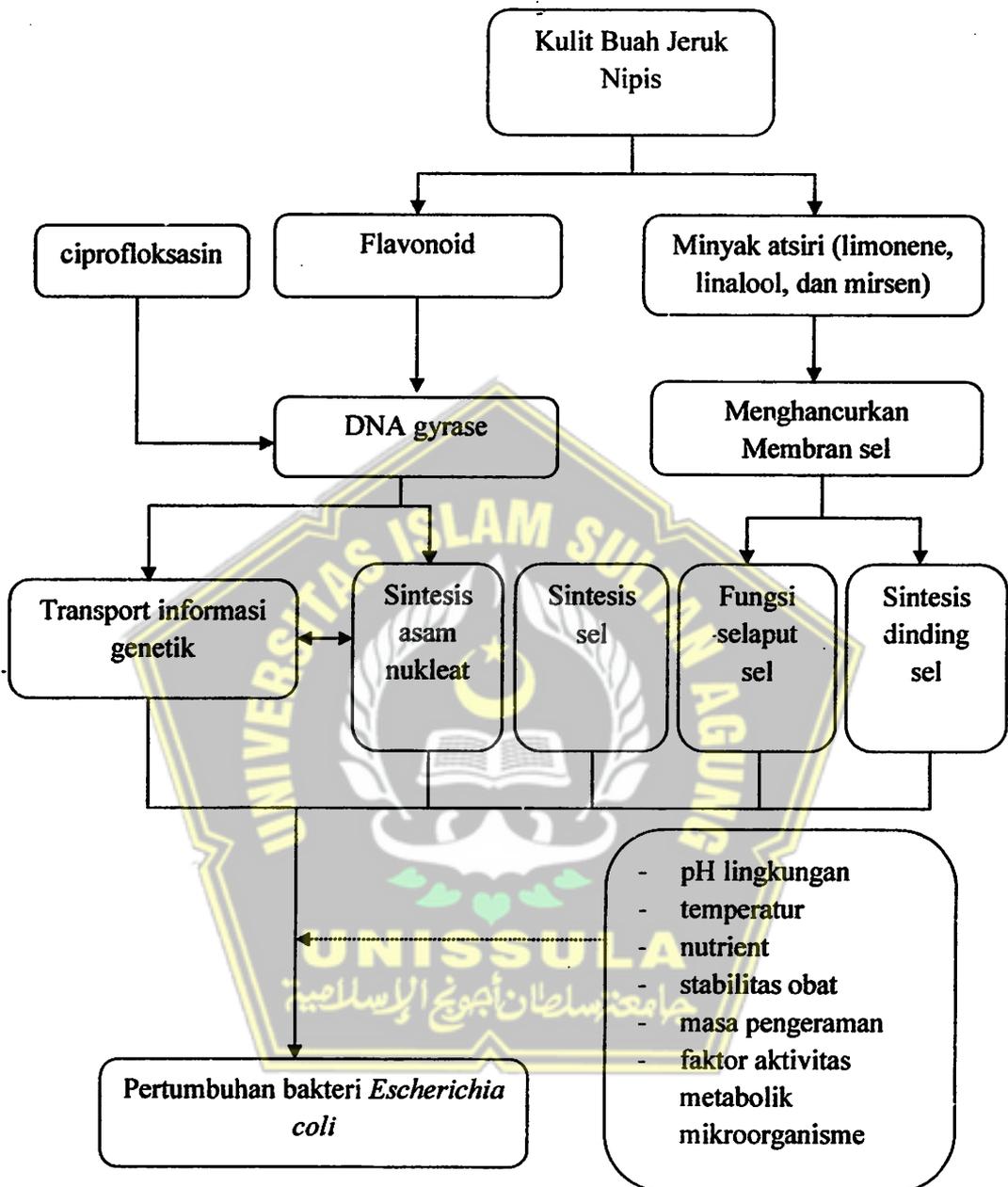
terendah obat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap uji bakteri tersebut(Dzen,dkk.2003).

#### 2.6.2 Metode Difusi

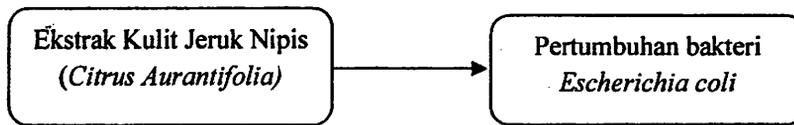
Prinsip dari metode difusi cakram adalah obat dijenuhkan kedalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area atau zona jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen,dkk.2003).



## 2.7 Kerangka Teori



## 2.8 Kerangka konsep



## 2.9 Hipotesis

Ada pengaruh ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro.



## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*.

#### 3.2 Variabel dan Definisi Operasional

##### 3.2.1 Variabel

###### 3.2.1.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia*).

###### 3.2.1.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pertumbuhan *Escherichia coli*.

##### 3.2.2 Definisi operasional

3.2.2.1 Ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia*) adalah ekstrak dari kulit buah jeruk nipis yang didapat dari proses ekstraksi dengan pelarut etanol dan dibuat menjadi beberapa konsentrasi : 100%, 80%, 60%, 40%, 20%.

Skala : Ordinal.

3.2.2.2 Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah dengan mengukur diameter zona hambat pada nutrient agar sebagai media tanam bakteri *Escherichia coli* menunjukkan

sensitivitas bakteri terhadap ekstrak dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan millimeter (mm)

Skala : Ratio

### 3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli* pada kultur murni yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang pada tanggal 4-5 Januari 2011.

3.3.2 Sampel yang diambil adalah koloni bakteri *Escherichia coli* dengan kepekatan sesuai dengan standar Mac Farland 0,5 yang mengandung  $1,5 \times 10^8$  bakteri/mL

### 3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

#### 3.4.1 Instrumen penelitian

3.4.1.1 Tabung reaksi

3.4.1.2 Pipet ukur

3.4.1.3 Ose

3.4.1.4 Lampu spiritus

3.4.1.5 Lidi kapas steril

3.4.1.6 Cawan petri

3.4.1.7 Nutrient agar

3.4.1.8 HIB (Heart Infusion Broth)

3.4.1.9 Kertas saring

3.4.1.10 Pinset

3.4.1.11 Jangka sorong

### 3.4.2 Bahan penelitian

3.4.2.1 Ekstrak Kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia*) dengan konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80% dan 100%

3.4.2.2 Bakteri *Escherichia coli* dengan kepekatan kuman sesuai standar Mac Farland 0,5 yang mengandung  $1,5 \times 10^8$  bakteri/mL

3.4.2.3 Cakram ciprofloksasin 10  $\mu$ g

3.4.2.4 Aquades steril

### 3.5 Cara Penelitian

3.5.1 Sterilisasi alat menggunakan oven pada suhu  $160 - 180^\circ\text{C}$  selama 2 jam dan sterilisasi media menggunakan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit.

3.5.2 Ambil strain bakteri *Escherichia coli* dengan ose yang telah disterilkan, masukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi HIB (Heart Infusion Broth), lalu amati kekeruhan suspensi, bandingkan dengan standar Mac Farland 0,5 yang mengandung  $1,5 \times 10^8$  bakteri/ml

3.5.3 Pembuatan ekstrak kulit jeruk nipis 100% : Dari simplicia kering kulit buah jeruk nipis sekitar 100 gram dimasukkan ke dalam maselator dicampur dengan pelarut 500 ml etanoi diaduk- aduk dan didiamkan selama 24 jam. Disaring dengan kertas saring dan filtratnya diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

- 3.5.4 Pembuatan ekstrak kulit jeruk nipis 80 % : masukkan 4 ml ekstrak kulit jeruk nipis 100 % ke dalam tabung reaksi. Tambahkan ke dalam tabung reaksi tersebut 1 ml aquades steril. Volume- volume diatas ditentukan dengan :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$V_1$  = volume awal

$M_1$  = konsentrasi awal

$V_2$  = volume akhir

$M_2$  = konsentrasi akhir.

- 3.5.5 Pembuatan media dengan ekstrak kulit jeruk nipis 60 % : masukkan 3 ml ekstrak kulit jeruk nipis 100 % ke dalam tabung reaksi. Tambahkan ke dalam tabung reaksi tersebut 2 ml aquades steril. Volume- volume diatas ditentukan dengan :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$V_1$  = volume awal

$M_1$  = konsentrasi awal

$V_2$  = volume akhir

$M_2$  = konsentrasi akhir.

- 3.5.6 Pembuatan media dengan ekstrak kulit jeruk nipis 40 % : masukkan 2 ml ekstrak kulit jeruk nipis 100 % ke dalam tabung reaksi. Tambahkan ke dalam tabung reaksi tersebut 3 ml aquades steril. Volume- volume diatas ditentukan dengan :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$V_1$  = volume awal

$M_1$  = konsentrasi awal

$V_2$  = volume akhir

$M_2$  = konsentrasi akhir.

- 3.5.7 Pembuatan media dengan ekstrak kulit jeruk nipis 20 % : masukkan 1 ml ekstrak kulit jeruk nipis 100 % ke dalam tabung reaksi. Tambahkan ke dalam tabung reaksi tersebut 4 ml aquades steril.

Volume- volume diatas ditentukan dengan :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$V_1$  = volume awal

$M_1$  = konsentrasi awal

$V_2$  = volume akhir

$M_2$  = konsentrasi akhir.

- 3.5.8 Inokulasikan bakteri *Escherichia coli* pada nutrient agar pada cawan petri dengan menggunakan lidi kapas steril.
- 3.5.9 Cakram dibuat dari kertas saring Wattman dan direndam pada ekstrak kulit buah jeruk nipis berbagai konsentrasi beberapa saat ( $\pm$  15 menit) agar terhisap sempurna. Masing- masing konsentrasi dilakukan 3 kali.
- 3.5.10 Sebagai kontrol positif digunakan cakram ciprofloksasin 10  $\mu$ g.
- 3.5.11 Sebagai kontrol negatif rendam kertas saring yang direndam pada aquades steril beberapa saat ( $\pm$  15 menit) agar terhisap sempurna.

3.5.12 Cakram diangkat dan siap diletakkan pada permukaan media yang sebelumnya ditanami bakteri *Escherichia coli*.

3.5.13 Setelah itu dilakukan inkubasi dengan menggunakan incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

3.5.14 Kemudian hasilnya diamati dengan mengukur zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm).

### **3.6 Tempat dan Waktu**

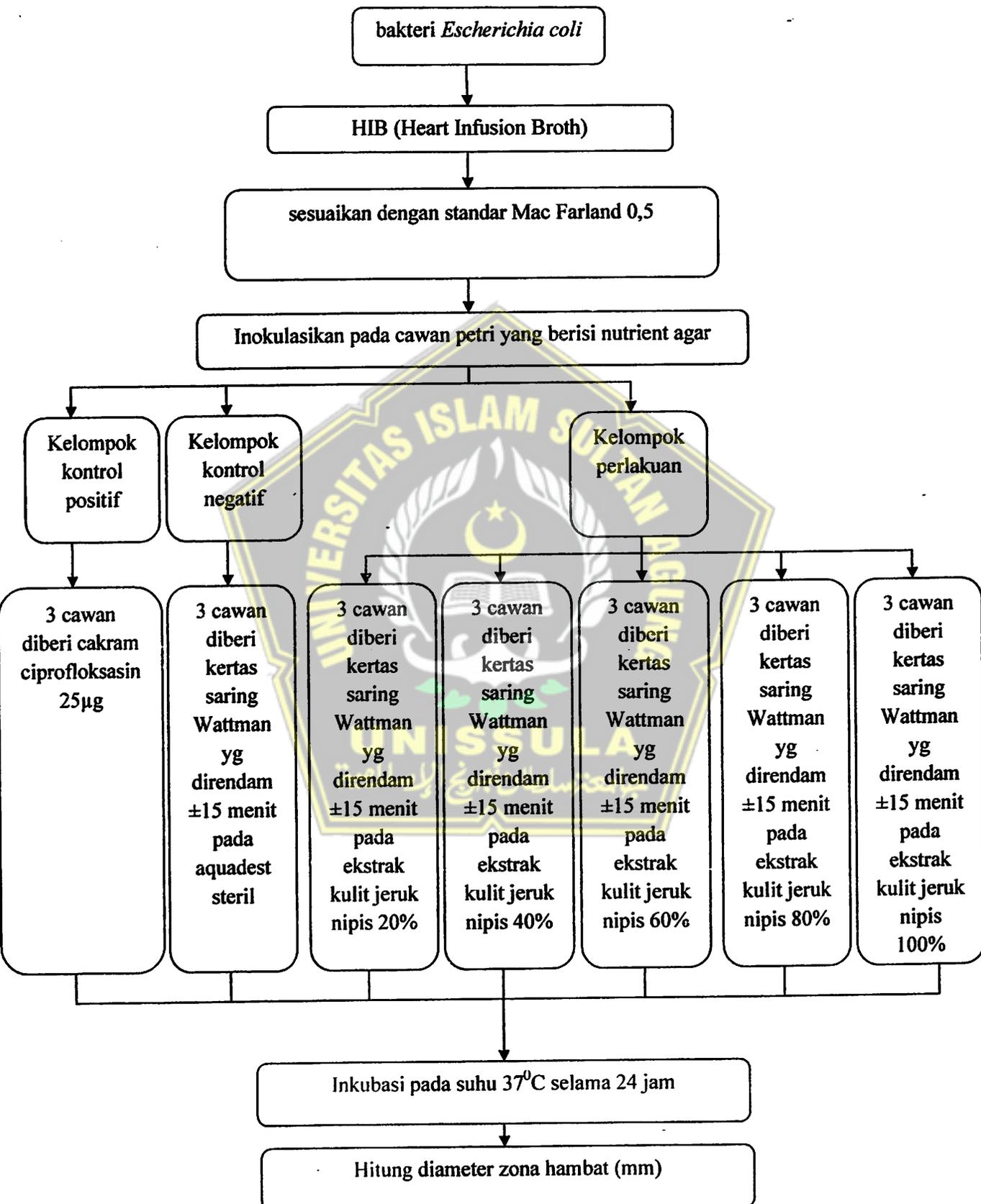
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang.

Waktu penelitian dilaksanakan pada tanggal 4-5 Januari 2011.

### **3.7 Analisis Hasil**

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dikumpulkan kemudian ditabulasikan dengan analisa secara statistic. Normalitas dan homogenitas data diuji dengan *Shapiro- Wilk test* dan *Levene test*. karena sebaran data tidak normal dan data tidak homogen maka dilanjutkan uji non parametrik *Kruskal Wallis test* dan *Mann Whitney* (Dahlan, 2004).

## 3.8 Alur kerja Penelitian



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 21 cawan petri, yang terdiri dari kelompok kontrol (6 medium) dan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) dalam berbagai konsentrasi. Penelitian ini diselenggarakan pada tanggal 4-5 Januari 2011 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang dan didapatkan hasil penelitian sebagai berikut:

Tabel 4.1 Zona Hambat Ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) terhadap *Escherichia coli* pada media nutrient agar (dalam mm)

percobaan	Kosentrasi dan zona hambat (mm)						
	K-I	K-II	K-III	K-IV	K-V	K-VI	K-VII
I	30	0	0	0	6,5	9	12
II	30	0	0	0	6,5	9	10,5
III	30	0	0	0	7	10	14,5
Rata-rata					6,67	9,33	12,33
dan	30	0	0	0	±	±	±
Standar Deviasi					0,2887	0,5774	2,0207

Keterangan :

- K-I : Kontrol positif (ciprofloksasin 10  $\mu$ g)
- K-II : Kontrol negative (aquades steril)
- K-III : ekstrak jeruk nipis dengan kosentrasi 20%
- K-IV : ekstrak jeruk nipis dengan kosentrasi 40%
- K-V : ekstrak jeruk nipis dengan kosentrasi 60%
- K-VI : ekstrak jeruk nipis dengan kosentrasi 80%
- K-VII : ekstrak jeruk nipis dengan kosentrasi 100%

Setelah data diperoleh, kemudian diolah menggunakan uji one way Anova dengan syarat data berdistribusi normal dan homogen. Oleh karena itu perlu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Lihat pada lampiran 1.

Dari hasil uji normalitas tersebut diketahui bahwa nilai signifikansinya tidak berdistribusi normal pada Kolmogorov-Smirnov karena nilai signifikansi  $< 0,05$  , sedangkan pada Saphiro-Wilk didapatkan nilai signifikansi (0,000; 0,000; 0,726) juga tidak berdistribusi normal karena  $p < 0,05$ .

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk menentukan apakah data homogen apa tidak. Lihat di lampiran 2.

Dari uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai Levene Statistic (5,936) dengan signifikasi 0,003 ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data tidak homogen. Karena data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, maka tidak dapat dilakukan pengujian dengan one way

Anova, selanjutnya dilakukan dengan uji non parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis. Lihat lampiran 3.

Dari tabel output yang didapat setelah melakukan uji non parametrik Kruskal-Wallis terlihat bahwa pada kolom asymp. Sig adalah 0,003 atau probabilitasnya lebih kecil dari 0,05 maka hipotesa nol ditolak. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna (signifikan) pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* antar berbagai konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; 100%.

Tabel 4.2 data hasil uji Mann Whitney

pembanding	Jenis perlakuan	Nilai p
K-II	K-I	0,25
	K-III	1,000
	K-IV	1,000
	K-V	0,34
	K-VI	0,34
	K-VII	0,37

Pada tabel diatas didapatkan  $p < 0,05$  antara K-II dengan K-I dan ekstrak kulit buah jeruk nipis pada K-V, K-VI, dan K-VII, yang berarti bahwa zona hambatan pertumbuhan yang terbentuk pada *Escherichia coli* berbeda bermakna secara statistic. Sedangkan pada K-III dan K-IV didapatkan  $p > 0,05$ , hal ini menunjukkan bahwa zona hambatan pertumbuhan yang terbentuk pada konsentrasi tersebut tidak berbeda bermakna secara statistic.

## 4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian di atas dapat diketahui bahwa pengaruh pemberian ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) dengan konsentrasi 20% dan 40% tidak terbentuk zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, hasil ini bertentangan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rizqy Wahyu (2008) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis mempunyai hambatan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* mulai kadar 20%. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi zat antimikroba antara ekstrak dan minyak atsiri kulit jeruk nipis serta adanya perbedaan pada kelompok bakteri yang diuji, *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif sedangkan *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negative (Jawetz *et.al*,2005, Gillespie,S., 2007). Sedangkan dengan pemberian ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) dengan konsentrasi 60% jumlah rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah 6,67 mm, dengan pemberian ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) dengan konsentrasi 80% jumlah rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah 9,33mm, dengan pemberian ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) dengan konsentrasi 100% jumlah rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah 12,33 mm Dan pada kelompok kontrol positif jumlah rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah 30 mm dengan ada 1 cawan petri yang bakterinya hanya tumbuh sebagian. Hal ini karena diameter zona hambat dalam metode difusi dipengaruhi oleh standar obat dan konsentrasi, sehingga bakteri tersebut

dikatakan sensitive, intermediet dan resisten. Untuk obat yang susah larut, diameter zona hambat yang terbentuk lebih kecil dibandingkan obat yang mudah larut. Hasil yang didapat dari metode difusi sering inadekuat untuk tujuan klinis, hal ini dikarenakan metode difusi itu sederhana dan tidak membutuhkan banyak biaya dan paling banyak digunakan pada saat tidak tersedianya alat laboratorium yang lebih canggih. Metode difusi yang lebih lanjut yaitu menggunakan E-test yang dapat mengestimasi minimal inhibitory concentration (MIC) yang dapat memperlihatkan konsentrasi minimal obat menghambat pertumbuhan bakteri (Tortora, 2010)

Berdasarkan hasil rata-rata pertumbuhan bakteri di atas dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) yang digunakan, maka zona hambat yang terbentuk semakin besar pula. Hal ini mendukung teori bahwa ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) mengandung flavonoid yang bersifat antimikroba. Mekanisme kerja flavonoid adalah menyebabkan inaktivasi material genetik sehingga mengganggu pembentukan DNA *gyrase*, akibatnya transport informasi genetik dan proses pembiakan terganggu (Simamora, 2009). Dengan mekanisme tersebut maka flavonoid dalam ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*) juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi akan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini terbukti dengan adanya zona hambat bakteri pada nutrient agar pada K-V, K-VI dan K-VII.

Penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ratih Dyah Pertiwi tentang minyak atsiri daun jeruk nipis yang mempunyai aktivitas hambatan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada kadar 20%, 40%, dan 80% serta *Escherichia coli* pada kadar 40% dan 80%. Penelitian yang dilakukan oleh Rizqy Wahyu (2008) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis mempunyai hambatan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada kadar 20%, 40 %, 80% dan 100%. Hal ini menunjukkan bahwa jeruk nipis, pada daun dan kulit buah yang kosentrasi flavonoidnya lebih tinggi dibandingkan jaringan di dalamnya memiliki manfaat antimikroba (Winarsi,2007)

Keterbatasan pada penelitian ini antara lain belum diketahui kadar hambat minimum dari ekstrak kulit buah jeruk nipis terhadap *Escherichia coli* misalnya dengan melihat jumlah tumbuhnya koloni bakteri, melakukan penelitian dengan hanya penggunaan senyawa flavonoid pada ekstrak kulit buah jeruk nipis, serta belum diketahui penyebab pada 1 cawan petri dengan cakram ciprofloksasin yang bakteri *Escherichia coli* hanya tumbuh sebagian.

## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Simpulan

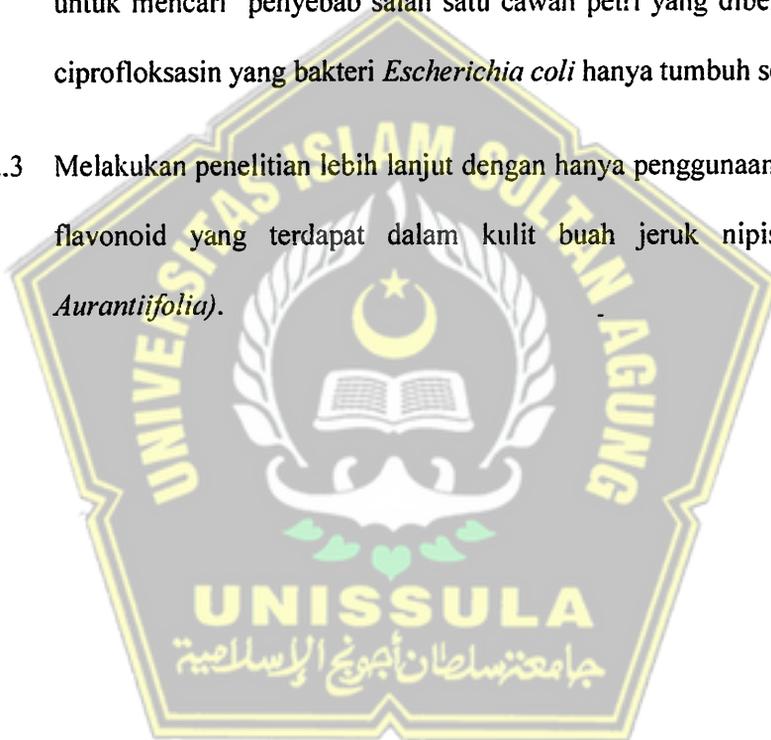
Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat dibuat kesimpulan sebagai berikut:

- 5.1.1 Dari hasil penelitian secara *in vitro* pada cakram aquades steri, konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis 20% dan 40% tidak terdapat zona hambat, pada konsentrasi 60% jumlah rata-rata zona hambat adalah 6,67 mm, pada konsentrasi 80% jumlah rata-rata zona hambat adalah 9,33mm, pada konsentrasi 100% jumlah rata-rata zona hambat adalah 12,33 mm Dan pada kelompok kontrol positif jumlah rata-rata zona hambat adalah 30 mm dengan ada 1 cawan petri yang bakterinya hanya tumbuh sebagian, sehingga disimpulkan ada pengaruh kulit ekstrak jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.
- 5.1.2 Pada konsentrasi yang lebih tinggi ekstrak kulit buah jeruk nipis yang digunakan, maka zona hambat yang terbentuk lebih besar pula. Namun lebih kecil dibandingkan dengan ciprofloksasin sebagai kontrol positif.

## 5.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian terhadap ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*), maka disarankan:

- 5.2.1 Pengujian dengan metode dilusi untuk mengetahui kadar hambat minimum dari ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*).
- 5.2.2 Melakukan pengujian metode difusi lebih lanjut yaitu dengan E-test untuk mencari penyebab salah satu cawan petri yang diberi cakram ciprofloksasin yang bakteri *Escherichia coli* hanya tumbuh sebagian.
- 5.2.3 Melakukan penelitian lebih lanjut dengan hanya penggunaan senyawa flavonoid yang terdapat dalam kulit buah jeruk nipis (*Citrus Aurantiifolia*).



## DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A., 2000, Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia, Penerbit ITB.Bandung. h: 90
- Brunton,L.L, Parker. K, Blumenthal .D, Buxton.L, 2008, Goodman and Gilman's manual of pharmacology and therapeutics. The McGraw-Hill Companies Inc, United States of America, p: 722-727
- Dahlan, M.S., 2006, Statistika Untuk Kedokteran Dan Kesehatan, seri 1, cetakan II, Arkans, Jakarta, h:1-28, 47-56, 86-97
- Dalimartha, S., 2000, Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2, Trubus Agriwidya, Jakarta, h: 85-88
- Depkes R.I., 1991, Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid 1, Badan penelitian dan Pengembangan Kesehatan, h: 144
- Dzulkarnain, B.,Dian Sundari, Au Chozin, 1996, Tanaman Obat bersifat Antibakteri di Indonesia, Cermin Dunia Kedokteran No.110,1996 35
- Gillespie,S., 2007, At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi, Erlangga Medical Series, Jakarta, h:50-51
- Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E., 2005. Mikrobiologi Kedokteran, Edisi 20, Salemba Medika, Jakarta, h: 209, 224-228, 233-235,282, 351-352,357
- Karsinah, Lucky H.M., Suharto dan Mardiatuti H.W, 1994, Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran, Bina Rupa Aksara, Jakarta, h: 163
- Katno,2004, Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, [http://www.litbang.depkes.go.id/bpto/keamanan\\_TO.pdf](http://www.litbang.depkes.go.id/bpto/keamanan_TO.pdf) (31 Maret 2010)
- Koolman,J., 2000, Atlas Berwarna dan teks Biokimia. Hipokrates, Jakarta.h: 218-226
- Mursito, B., 2001, Ramuan tradisional untuk Gangguan Ginjal, Penebar Swadaya, Jakarta, h: 44-45
- Pasqua, R.D, Hoskins,N., Betts, G., 2007, Membrane Toxicity of Antimicrobial Compounds from Essential Oils, Departement of Food Science, Division of Microbiology, University of Naples, *Journal of Microbiology*, [http://pubs.acs.org/cgi\\_bin/abstract.cgi/jafcau/asap/abs/jf0636465.html](http://pubs.acs.org/cgi_bin/abstract.cgi/jafcau/asap/abs/jf0636465.html), dikutip tanggal 7 februari 2011
- Pratiwi, S.,2008. Mikrobiologi Farmasi, Erlangga. Jakarta, h: 111-114

- Sartika, Dewi.R.A, Indrawani.Y.M, Sudiarti.T. 2005, Analisis Mikrobiologi *Escherichia coli* 0157 : H7 pada hasil olahan hewan sapi dalam proses produksinya, Makara Kesehatan vol. 9 no.1 Juni 2005 : 23- 28
- Setiabudy. R., 2008. Farmakologi dan Terapi edisi 5 (Cetak Ulang dengan Perbaikan), Balai Penerbit FKUI, Jakarta. h: 586-587, 718-722
- Simadibrata, M., , 2006, Buku Ajar Ilmu Penyakit dalam jilid 1, Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, h: 393, 410-411
- Simamora, A., 2009, Flavonoid dalam Apel dan Aktivitas antioksidannya, Jurnal Kedokteran Meditek vol 15 no 40 Januari – April 2009, h: 24
- Tortora, G.J, 2010, *Appendix-F Classification of Bacteria According to Bergey's Manual*, Microbiology an introduction, Tenth Edition, Pearson Education Inc.,United States of America, p:280,572.
- Wahyu, R., 2008, Daya Hambat Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* in vitro, Surakarta, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Abstract skripsi.
- Widyowati,R.,2008, Skrining Fitokimia dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Tanaman *Garcinia Celebica* Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Shigella Dysenteriae*, dan *Candida Albicans*, dalam: <http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=gdlhub-gdl-res-2008-widyowati-6651&q=flavonoid+anti+bakteri> , dikutip tanggal 13 Januari 2011
- Winarsi,H., 2007, Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Kanisius, Yogyakarta, h: 177.

