

**UJI BIOAKTIVITAS *CRUDE* BUAH JERUK NIPIS
(*Citrus aurantifolia*) TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

**ALDINO RAMADHIANTO
14.870.0027**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2017**

**UJI BIOAKTIVITAS *CRUDE* BUAH JERUK NIPIS
(*Citrus aurantifolia*) TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

**ALDINO RAMADHIANTO
14.870.0027**



Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan
Gelar Sarjana di Fakultas Biologi
Universitas Medan Area

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2017**

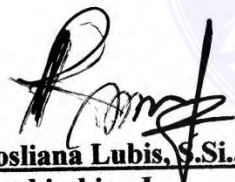
**UJI BIOAKTIVITAS *CRUDE* BUAH JERUK NIPIS
(*Citrus aurantifolia*) TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**ALDINO RAMADHIANTO
14.870.0027**

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains Pada
Fakultas Biologi Universitas Medan Area**

**Disetujui Oleh
Komisi Pembimbing**



**Rosliana Lubis, S.Si., M.Si
Pembimbing I**



**Jamilah Nasution, S.Pd., M.Si
Pembimbing II**



**Dr. Agus Sudibyo, M.Si
Dekan**



**Ferdinand Susilo, S.Si., M.Si
Ka. Prodi/WD I**

Tanggal Kelulusan : 15 September 2017

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan skripsi ini yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku, apabila di kemudian hari ditemukan adanya plagiat dalam skripsi ini.

Medan, 15 September 2017



Aldino Ramadhianto
14.870.0027

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI UNTUK KEPENTINGSN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Aldino Ramadhianto
NPM : 148700027
Program Studi : Biologi
Fakultas : Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-Exklusif Royalti-Free Right)** atas karya ilmiah yang berjudul : Uji Bioaktivitas *Crude* Buah Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Secara *In Vitro* beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada Tanggal : 15 September 2017
Yang menyatakan



(Aldino Ramadhianto)

ABSTRAK

Aktivitas antimikroba dari crude buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang dibuktikan pada penelitian ini dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda-beda. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakteri air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diuji secara *In vitro*. Penelitian ini menggunakan metode ekperimental dengan pengujian laboratorium untuk perasan jeruk nipis menggunakan metode *Kirby-baurier of susceptibility test*, dengan data yang diperoleh diolah menggunakan statistik secara uji *Analisis of Varian (Anova)* dengan pengambilan data secara rancangan acak lengkap. Hasil penelitian menunjukkan bahwa air perasan buah jeruk nipis memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% terbentuk zona hambat dengan diameter rata-rata 12,6 mm, 15,4 mm, 16,6 mm, 17,3 mm. Jadi, semakin tinggi konsentrasi air perasan jeruk nipis maka daya hambatnya semakin baik.

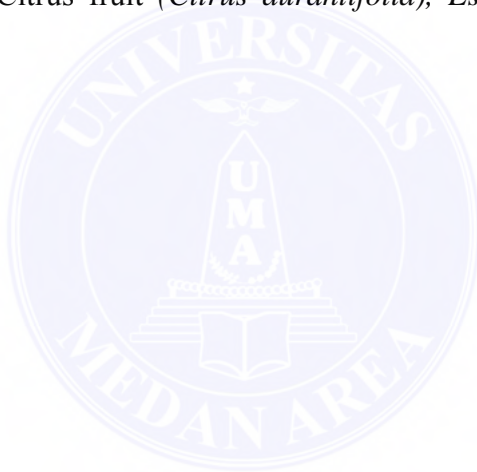
Kata kunci: Air Perasan, Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*), *Escherichia coli*, Zona Hambat



ABSTRACT

The antimicrobial activity of citrus fruit crude (*Citrus aurantifolia*) was proven in this experiment with different concentration treatments. The purpose of this study was to determine the antibacterial power of citrus fruit crude against *Escherichia coli* bacteria tested in vitro. This research uses experimental method with laboratory test for citrus fruit crude using Kirby-baurier of susceptibility test method, with data obtained by using statistical test of Analysis of Varian (Anova) with complete randomized data retrieval. The results showed that of citrus fruit crude has antibacterial power to the growth of *Escherichia coli* bacteria. At concentrations of 25%, 50%, 75%, 100% formed inhibit zone with an average diameter of 12.6 mm, 15.4 mm, 16.6 mm, 17.3 mm. So, the higher the concentration of citrus fruit crude the better of inhibitory power.

Keyword: Crude, Citrus fruit (*Citrus aurantifolia*), *Escherichia coli*, Inhibition Zone



RIWAYAT HIDUP

Aldino Ramadhianto dilahirkan pada tanggal 16 Maret 1992 di Bangun, dari ayah Bejongky dan Ibu Masliah. Penulis merupakan putra kedua dari empat bersaudara

Tahun 2010 Penulis lulus dari SMK Dharma Analitika Medan Program Keahlian Analis Kesehatan, selanjutnya tahun 2013 Penulis melanjutkan Pendidikan Diploma III di Poltekkes Kemenkes RI Medan Jurusan Analis Kesehatan dan pada tahun 2014, menjadi mahasiswa pada Fakultas Biologi Universitas Medan Area Pada Program Studi Biologi.

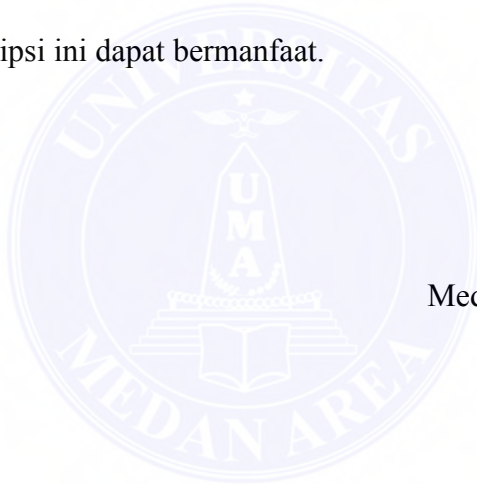


KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala karunia-Nya sehingga proposal skripsi ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian ini ialah pemanfaatan bahan herbal sebagai antibiotik dengan judul Uji Bioaktivitas *Crude* Buah jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara *In Vitro*.

Terima kasih penulis sampaikan kepada Rosliana,S.Si.,M.Si dan Jamilah Nasution,S.Pd.,M.Si selaku pembimbing serta Ahmad Shafwan.P, S.Pd.,M.Si yang telah banyak memberikan saran. Disamping itu penghargaan penulis sampaikan serta ungkapan rasa terimakasih kepada Ayah, Ibu, serta seluruh keluarga atas segala doa dan perhatiannya.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.



Medan, 15 September 2017

Penulis

Aldino Ramadhianto

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Deskripsi Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	6
2.2. Kandungan Kimiawi Jeruk Nipis	8
2.3. Deskripsi Mikroba	10
2.3.1. Mikroba <i>Escherichia coli</i>	10
2.4. Uji Efektivitas Antimikroba	12
BAB III. METODE PENELITIAN	14
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	14
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	14
3.3. Metode Penelitian	14
3.4. Prosedur Kerja	14
3.4.1. Persiapan Alat	14
3.4.2. Penyediaan Air Perasan Jeruk Nipis	15
3.4.3. Uji Bioefektivitas	16
3.5. Pengukuran Zona Hambat	17
3.6. Analisis Data	17
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1. Hasil dan Pembahasan	18
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	22
5.1. Kesimpulan	22
5.2. Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN	26

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel. 1 Komposisi Fitokimia Jeruk Nipis	6
Tabel. 2. Manfaat Jeruk Nipis	7
Tabel. 3. Hasil Pengukuran Zona Hambat <i>Crude</i> Buah Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	18
Tabel. 4 Hasil Pengukuran Zona Hambat Kontrol Positif dan Negatif Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	18



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar. 1. Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	5
Gambar. 2. Pulasan Gram <i>Escherichia coli</i>	9



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran. 1. Skema Alur Penelitian	26
Lampiran. 2. Gambar Alat Dan Bahan.....	28
Lampiran. 3. Gambar Prosedur Kerja	30



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit yang disebabkan oleh perkembangan mikroba yang bersifat patogen disebut infeksi. Infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan serius yang menyerang manusia. Berbagai macam infeksi yang terjadi pada manusia saat ini dapat disebabkan oleh beberapa bakteri yg berasal dari tubuh manusia sendiri. Infeksi tersebut dapat menyebabkan berbagai macam penyakit misalnya diare dan penyakit saluran napas bawah atau pneumonia. Penyakit ini merupakan penyakit yang sering disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* resisten terhadap beta laktam dan prevalensinya di Cina 14%, Hongkong 13%, Filipina 6,2%, Singapura 4%, Taiwan 13,8%, dan Jepang 1,4% (Supriyanto, 2010; Sudoyo, 2009; Karuniawati *et al*, 2007).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu flora normal di dalam usus besar manusia. Selain di dalam usus bakteri ini juga dapat ditemui dalam jumlah yang kecil sebagai bagian flora normal pada sistem pernapasan. Bakteri ini bisa menginfeksi tubuh jika mencapai di luar intestinal normal. Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri yang paling umum menyebabkan diare di seluruh dunia. Pengaruh penyakit diare ini dapat menyebabkan dehidrasi terutama pada anak dan lanjut usia dan pada keadaan yang lebih berat dapat menyebabkan gagal ginjal akut dan perubahan status jiwa seperti kebingungan dan pusing kepala. Data dari Kemenkes tahun 2014 menunjukkan bahwa prevalensinya terjadi diare di

Indonesia 97,45 % dengan jumlah kasus sebanyak 8.490.976 kasus. Tingginya angka kejadian infeksi serta adanya resistensi terhadap antibiotik menjadi masalah utama dalam pengobatan infeksi sehingga dibutuhkan strategi baru dalam membangun terapi alternatif terhadap pengobatan infeksi (Bansode *et al.*, 2012; Jawetz, 2013).

Banyak metode pengobatan yang dilakukan untuk mengobati penyakit infeksi yang menyerang manusia. Salah satu metode pengobatan yang sedang populer di Indonesia adalah pengobatan dengan obat – obatan tradisional. Pengobatan tradisional adalah metode pengobatan yang telah dilakukan oleh nenek moyang kita dan secara turun – temurun dan telah diwariskan kepada generasi penerusnya. Di beberapa Negara di asia dan afrika selatan banyak penduduknya bergantung kepada pengobatan tradisional. Pengobatan tradisional adalah kumpulan dari kepercayaan, pengetahuan dan pengalaman dari masyarakat adat yang dipakai untuk menjaga kesehatan, mencegah, mendiagnosa dan mengobati penyakit yang menyerang fisik dan mental. Salah satu obat tradisional yang dikenal di Indonesia adalah Antibiotik (Anastasia, 2007).

Penggunaan bahan alami sebagai obat tradisional di Indonesia juga telah dilakukan oleh nenek moyang kita sejak berabad-abad yang lalu. Kecenderungan penggunaan obat tradisional di dunia disebabkan oleh meningkatnya efek samping dari penggunaan obat kimia. Adanya komponen bioaktif pada tanaman diketahui memiliki efek antibakteri. Sehingga saat ini banyak dilakukan pengujian efek antibakteri dengan menggunakan bahan alami. Bahan alami memiliki efek samping lebih rendah dibandingkan dengan obat-obatan kimia, selain itu murah dan mudah diperoleh. Penelitian yang dilakukan dikampung pabuaran (Desa

Cibanteng), dan kampung gunung leutik (Desa Benteng) terdapat beberapa spesies tanaman yang sering digunakan sebagai obat dalam mengatasi infeksi salah satunya adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) (Menkes RI, 2013; Hikmat *et al*, 2011).

Jeruk nipis atau *Citrus aurantifolia* merupakan salah satu tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Dikarenakan jeruk nipis mengandung asam sitrat sebagai komponen utamanya, asam amino (triptofan, lisin), vitamin A, vitamin C, vitamin B1, kalsium, kalium, fosfor, besi, tembaga dan minyak atsiri. Selain itu, jeruk nipis mengandung senyawa *flavonoid*, merupakan salah satu kandungan jeruk nipis yang diduga mempunyai peran paling penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri. *Flavonoid* bermanfaat sebagai antioksidan yang kuat dalam mengurangi resiko terjadinya penyakit kronik, pencegahan beberapa penyakit kardiovaskular, proses terjadinya kanker, antiinflamasi, antibakteri, antikoagulan, dan antialergi. Mekanisme antibakteri senyawa *flavonoid* diduga dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Bansode dan Chavan, 2012; Gattuso *et al.*, 2007).

Berdasarkan penelitian Aibinu *et al* (2007) juga menunjukkan bahwa jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan hasil Konsentrasi Inhibitor Minimum adalah 256 mg/ml. Penelitian yang dilakukan oleh Onyeagba *et al* (2004) menggunakan air perasan buah jeruk nipis untuk menguji efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp*. Hasil penelitian didapatkan bahwa air perasan jeruk nipis memiliki efektivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp*. pada konsentrasi 100% dengan hasil diameter zona hambat berturut-turut, 17 mm dan

13 mm. Penelitian juga dilakukan oleh Ojiezeh *et al* (2011) menggunakan air perasan buah jeruk nipis terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp.* Hasil penelitian juga didapatkan bahwa air perasan jeruk nipis memiliki efektivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp.* pada konsentrasi 100, 50%, dan 25% dengan hasil rata-rata diameter zona hambat berturut-turut pada *Staphylococcus aureus* 25 mm, 23 mm, dan 18 mm, pada *Salmonella sp.* 12 mm, 7 mm, dan 5 mm. Penelitian yang dilakukan oleh Taiwo *et al* (2007) tentang daya aktivitas antimikroba dari isolasi bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik *Ciprofloxacin* dengan hasil diameter zona hambat yaitu 29 mm.

Dari uraian diatas, tentang adanya daya antibakteri pada buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) peneliti ingin melakukan penelitian untuk mengetahui bagaimana daya antibakteri terhadap perbedaan konsentrasi air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diuji secara in vitro.

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka rumusan masalahnya adalah apakah terdapat daya antibakteri terhadap perbedaan konsentrasi air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diuji secara in vitro.

1.3. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui dan menguji konsentrasi bioaktivitas *crude* buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang mampu menghambat salah satu bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli*.

1.4. Manfaat Hasil Penelitian

Manfaat penelitian adalah sebagai informasi ilmiah tentang pemanfaatan crude buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai sumber bahan yang memiliki bioaktivitas sebagai anti mikroba terhadap bakteri *Escherichia coli*.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Jeruk nipis berasal dari India dan Myanmar. Sekarang tersebar di daerah tropis dan subtropis. Di Indonesia, tanaman ini dapat ditemukan pada ketinggian 1-1000 m dpl. Dikenal sebagai tanaman serbaguna, manfaat jeruk nipis sebagai tanaman obat tidak diketahui oleh banyak orang karena sifat asamnya hanya diketahui sebagai campuran bumbu masakan. Aroma khasnya sering dipakai sebagai pewangi pada perlengkapan produk pembersih (Budiana, 2013; Gendrowati, 2014).

Adapun klasifikasi buah jeruk nipis menurut *Van Steenis, C.G.G.J.* (1987) adalah sebagai berikut; Kingdom: Plantae, Divisio : Spermatohyta, Sub divisi: Angiospermae, Kelas: Dicotyledonae, Ordo: Rurales, Famili: Rutacea, Genus: *Citrus*, Spesies: *Citrus aurantifolia*.

Jeruk nipis juga terdapat nama-nama lain yang terdapat pada beberapa daerah. Daerah-daerah tertentu jeruk nipis dikenal dengan istilah yang berbeda-beda antara lain: Jawa: jeruk pecel/jeruk asam; Sunda: jeruk nipis; Melayu: limau nipis; Arab: limah; Sumatera: limau; Kalimantan: lemau epi; Maluku: putat ebi; Flores: mudutelang; Madura: jeruk dhurga, Inggris: lime (Handoyo, 2014; Latief, 2014).

Morfologi dari buah jeruk nipis dengan ciri-ciri memiliki buah yang berbentuk bulat dengan diameter 3-6 cm. Rasanya asam dan sedikit pahit. Tanaman ini biasanya berbuah setelah berumur 2,5 tahun (Latief, 2014).

Dilihat dari morfologi batang dari jeruk nipis yaitu dengan ciri-ciri pohon berkayu ulet dan agak keras. Pada permukaannya terdapat duri yang panjangnya 1-4 cm, dengan ujung duri tebal, dan berwarna kehitaman. Tanaman jeruk nipis memiliki batang pendek berukuran 3-4 meter. Arah tumbuh batangnya tegak lurus dengan pertumbuhan cabang yang condong ke atas (Gendrowati, 2014; Handoyo, 2014).

Morfologi dari akar tanaman jeruk nipis berakar tunggang dengan bentuk akar bulat. Akar berwarna putih kekuningan. Kemudian morfologi dari daunnya tunggal dengan permukaan daun yang licin dan mengkilap dengan lapisan menyerupai lilin. Warna daun pada permukaan bawah umumnya hijau muda, pada permukaan atas berwarna hijau tua. Jika dirobek, daun jeruk nipis menghasilkan serat yang kasar. Daun berukuran kecil dengan lebar 3-5 cm. Ibu tulang daun menonjol dengan cabang tulang daun yang menyirip dan tipis. Bunga jeruk nipis tunggal atau terletak dalam kelompok, memiliki lima mahkota bunga. Beberapa tanaman mempunyai empat mahkota, tetapi jarang dijumpai. Bunga berdiameter 2,5 cm dan berwarna putih kekuningan dengan pinggiran ungu terang (Handoyo, 2014; Latief, 2014).

Adapun morfologi dari kulit jeruk nipis memiliki ciri-ciri berwarna hijau, kuning, atau hijau kekuningan. Semakin tua, warna kulit jeruk nipis semakin hijau. Jeruk nipis memiliki kulit buah yang tebal sehingga tidak dapat dikupas menggunakan tangan (Handoyo, 2014).

Dari deskripsi serta morfologi buah jeruk nipis yang telah dipaparkan di atas maka dapat dilihat bentuk buah jeruk nipis pada gambar 1. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).



Gambar 1. Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)
Sumber: (Voekler, 2008).

2.2. Kandungan Kimiawi Jeruk Nipis

Kandungan utama yang terdapat pada jeruk nipis adalah asam sitrat. Asam sitrat inilah yang menyebabkan rasa asam pada jeruk nipis. Selain asam sitrat, jeruk nipis juga mengandung senyawa *flavonoid*, asam amino (triptofan, lisin), vitamin A, vitamin C, vitamin B1, kalsium, kalium, fosfor, besi, tembaga dan minyak atsiri (*sitral, limonene, felandren, terpineol, kamfen*) (Annisa, 2014; Latief, 2014).

Senyawa *flavonoid* pada jeruk nipis bermanfaat sebagai antioksidan yang kuat dalam mengurangi resiko terjadinya penyakit kronik, pencegahan beberapa penyakit kardiovaskular, proses terjadinya kanker, antiinflamasi, antibakteri, antikoagulan, dan antialergi. Air perasan jeruk nipis efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus, Bacillus sp., Enterococcus faecalis* dan Gram negatif yaitu *Escherichia coli, Salmonella sp., Shigella flexneri, Klebsiella pneumonia, Pseudomonas aeruginosa* (Ali, 2010; Ojiezeh et al, 2011; Onyeagba et al, 2004).

Tabel. 1 Komposisi Fitokimia Jeruk Nipis

No.	Fitokimia	Komposisi
1.	Alkaloid	1%
2.	Phenol	0,47%
3.	Flavonoid	0,52%
4.	Tanin	0,63%
5.	Saponin	0,98%

(Sumber: Okwu et al,2007)

Adapun manfaat dari buah jeruk nipis (*citrus aurantifolia*) dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2. Manfaat Jeruk Nipis.

No.	Bagian Jeruk Nipis	Manfaat
1.	Akar	Untuk menurunkan demam. Rebusan bagian tanaman ini juga dapat mengendalikan penyakit yang berkaitan dengan empedu, disentri, diare, dan pengobatan kolik.
2.	Kulit	Minyak esensial kulit jeruk nipis bermanfaat sebagai antibakteri, antidepresan, antioksidan, antiseptik, desinfektan, penurun panas, restoratif, antivirus, dan antirematik.
3.	Daun	Daun jeruk nipis berguna sebagai antifeedant terhadap serangga, zat pengatur tumbuh dan zat toksik pada kutu beras, larvasida, antibakteri, penolak serangga (<i>repellent</i>), dan penghambat reproduksi.
4.	Buah	Buah jeruk nipis bermanfaat untuk tukak lambung, mual dan muntah dalam perjalanan, antibakteri, sembelit, pencegahan kolera, bisul, batuk, konjungtivitis, gout, hipertensi, menurunkan kolesterol, diabetes, penyakit kuning, dan anemia.

(sumber: Annisa, 2014)

2.3 Deskripsi Mikroba

Mikroba adalah makhluk hidup yang sangat kecil yang berukuran sangat kecil yang berdiameter kurang dari 0,1 mm, yang tidak dapat dilihat oleh mata biasa akan tetapi dilihat dengan mikroskop. Makhluk hidup ini disebut jasad renik atau mikroorganisme. Dalam golongan bakteri ada dibagi beberapa golongan bakteri, yaitu bakteri gram positif, bakteri gram negatif, bakteri tahan asam. Salah satu bakteri penyebab penyakit yang sering menyebabkan penyakit adalah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* adalah kuman oportunistik yang banyak dijumpai didalam usus besar sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak-anak dan traveler diarrhea, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain diluar usus (Syahrurachman *et al*, 2002).

2.3.1 Mikroba *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan Gram-negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil), mempunyai flagel, berukuran 0,4-0,7 μm , dan mempunyai simpai. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di hampir semua media perbenihan, dapat meragi laktosa, dan bersifat mikroaerofilik. Beberapa strain bila ditanam pada agar darah menunjukkan hemolisis tipe beta. Morfologi koloni *Escherichia coli* yang khas dengan aneka warna “Berkilau” pada medium diferensial seperti pada agar eosin metilen biru (EMB) dan uji bercak indol yang positif (Radji, 2010; Karsinah, 2010; Jawet, 2013).

Escherichia coli mempunyai antigen O, H, dan K. Saat ini, telah ditemukan sekitar 150 tipe antigen O, 90 tipe antigen K, dan 50 tipe antigen H. Berdasarkan sifat-sifat fisiknya, antigen K dibedakan lagi menjadi 3 tipe, yaitu L, A, dan B (Radji, 2010). *Escherichia coli* memiliki sedikitnya 2 jenis tipe fimbria, yaitu tipe manosa sensitif (pili), tipe manosa resisten (*Colonization Factor Antigen*, CFA dan II). Kedua tipe fimbria ini penting sebagai faktor kolonisasi, yaitu untuk pelekatan sel bakteri pada sel hospes. Enterotoksin yang berhasil diisolasi dari *Escherichia coli* adalah toksin LT (Termolabil), toksin ST (Termostabil) Produksi kedua jenis toksin tersebut diatur oleh plasmid. Plasmid dapat pindah dari satu sel bakteri ke sel bakteri yang lain. Bakteri *Escherichia coli* memiliki dua jenis plasmid yang menyandi pembentukan toksin LT dan ST dan plasmid yang menyandi pembentukan toksin ST saja. Toksin LT bekerja dengan merangsang enzim adenilat siklase yang terdapat di dalam sel epitel mukosa usus sehingga terjadi akumulasi cairan di dalam usus dan berakhir dengan diare. Toksin ST tidak merangsang aktivitas enzim adenilat siklase dan tidak reaktif dalam tes kulit kelinci. Toksin ST adalah asam amino berbobot molekul 1970 dalton dan mempunyai satu atau lebih ikatan disulfida yang penting untuk mengatur stabilitas suhu dan pH. Toksin ST bekerja dengan mengaktifkan enzim guanilat siklase menghasilkan guanosin monofosfat siklik menyebabkan gangguan absorpsi klorida dan natrium, serta dapat menurunkan motilitas usus halus.

Pembentukan hemolisin diatur oleh plasmid. Hemolisin merupakan protein yang bersifat toksik terhadap sel pada biakan jaringan. Peran hemolisin pada proses infeksi *Escherichia coli* belum diketahui dengan jelas. Akan tetapi, galur

Escherichia Coli hemolitik ternyata lebih patogen dari pada galur yang nonhemolitik (Radji, 2010).



Gambar 2. Pulasan Gram *Escherichia Coli*
Sumber:(Jawet, 2013)

2.4 Uji Efektivitas Antimikroba

Pengujian antimikroba ada beberapa cara yaitu dengan metode difusi dan dilusi. Dengan metode difusi terbagi atas beberapa test dengan metode *disc diffusion* menurut tes Kirby & Bauer, metode *disc diffusion* untuk menentukan efektivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Metode E-test digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Metode dilusi cair/*broth dilution test (serial dilution)*, metode ini mengukur MIC

(*minimum inhibitory concentration* atau kadar hambat minimum, KHM) dan MBC (*minimum bactericidal concentration* atau kadar bunuh minimum, KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM. Metode dilusi padat/*solid dilution test*, metode ini sama dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi.S.T, 2008).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai dengan April 2017 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Prima Indonesia.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan untuk sampel ekstrak kasar (*Crude*) buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), kultur murni biakan bakteri *Escherichia coli* dari media *Endo Agar*, antibiotik *Ciprofloxacin 500 mg* sebagai kontrol positif, aquadest, media Nutrient Broth (NB), media Nutrien Agar (NA), dan Alkohol 70%. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petridish, tabung reaksi, jarum ose, gelas ukur, mikropipet, pipet penghisap, oven, autoklaf, inkubator, labu Erlenmeyer, bunsen, lidi watten, pinset, kertas saring whattman no.41, mistar.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekperimental. Pengujian laboratorium untuk *Crude* buah jeruk nipis menggunakan metode *Kirby-baurier of Suspectibility test* secara disc difusion.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Persiapan Alat

Semua alat kering yang akan digunakan pada penelitian disterilisasi di oven pada suhu 170°C selama 2 jam dan semua media disterilisasi di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Hasdianah, 2012).

3.4.2 Penyediaan Air Perasan Jeruk Nipis

Jeruk nipis dicuci dengan air bersih terlebih dahulu, lalu dikeringkan. Jeruk nipis disterilisasi dengan alkohol 70%, kemudian dipotong menjadi dua bagian, selanjutnya jeruk nipis diperas, airnya diambil dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer lalu disaring dengan menggunakan kertas saring whattman no.41 (Ojiezeh, 2011).

Variasi konsentrasi air perasan jeruk nipis yang akan digunakan adalah 25%, 50%, 75%, 100%. Pembuatan konsentrasi yang dikutip dari penelitian Faradiba, 2014 menggunakan rumus:

$$\% = \frac{\text{Volume Zat Terlarut}}{\text{Volume Total}} \times 100\%$$

Keterangan:

Volume total = volume zat terlarut + volume zat pelarut.

a. Penyediaan Media Perbenihan *Nutrient Broth*

Sebanyak 8 gram media *Nutrient Broth* ditambahkan 1000 ml aquades ke dalam labu Erlenmeyer, dicampur dan diaduk hingga rata, dipanaskan hingga mendidih dan larut. Kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, tunggu hingga agak dingin sekitar suhu 40-45°C, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi (Safitri, 2010).

b. Penyediaan Media Perbenihan *Nutrient Agar*

Nutrient Agar sebanyak 28 gram dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan 1000 ml aquades, dicampur dan diaduk hingga rata, dipanaskan hingga mendidih dan larut. Kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian larutan yang ada di dalam labu Erlenmeyer dituang ke dalam cawan petri (Merck, 2005).

c. Penyediaan Suspensi *Escherichia coli*

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Prima Indonesia. *Escherichia coli* yang dipergunakan sudah diuji dengan uji Reaksi Biokimia. Bakteri *Escherichia coli* tersebut dibiakan kembali kedalam media Nutrien Broth dibuat dengan mengambil satu ose kuman dan dibiakkan kemedial *Endo Agar*, kemudian diambil 1 koloni yang berwarna merah kilap logam dibiakkan ke dalam media Nutrient Broth, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

3.4.3 Uji Bioaktivitas

Lidi kapas steril dicelupkan di dalam biakkan kuman dari NB, kemudian lidi kapas diusapkan di permukaan media NA, prosedur tersebut diulang dua kali lagi dengan memutar plate 60°. Kemudian kertas cakram yang berdiameter 6 mm dicelupkan pada tabung yang berisi air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, kontrol positif dengan menggunakan antibiotik *ciprofloxacin 500 mg* dan kontrol negatif dengan menggunakan aquades steril. Lalu kertas cakram yang berukuran 6 mm di letakkan pada permukaan media NA dengan bantuan pinset steril dengan sedikit penekanan agar kertas cakram melekat dengan baik, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dihitung zona hambat pada masing-masing kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Uji bioaktivitas di lakukan dengan 3 kali pengulangan.

3.5 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat *crude* buah jeruk nipis terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu dengan melihat zona hambat yang terdapat pada masing-masing disc pada setiap konsentrasi. Diameter zona hambat yang terbentuk dapat diukur dengan jangka sorong dengan cara mengukur diameter vertikal dan horizontal menurut tes *Kirby-baurier of Suspectibility*. Zona yang terhitung pada masing masing konsentrasi di dibandingkan dengan klasifikasi zona hambat berdasarkan *Greenwood*.

Tabel.3. Klasifikasi Zona Hambat Berdasarkan Greenwood.

Rata-Rata Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
11-15 mm	Lemah
≤ 10 mm	Tidak ada

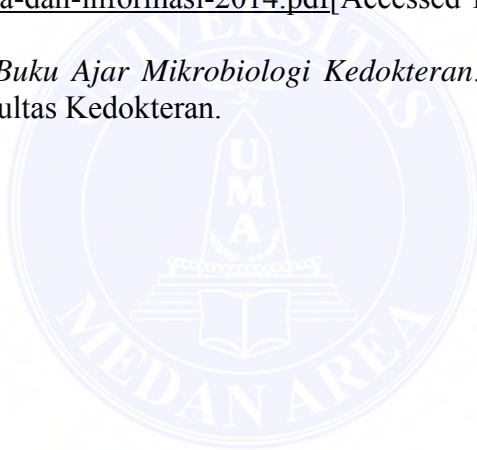
(Sumber: Faradiba S, 2014)

DAFTAR PUSTAKA

- Aibinu, I., Adenipekun, T., Adelowotan, T., Ogunsanya, T., and Odugbemi, T., 2007. *Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of citrus aurantifolia (lime fruit) as used locally*. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2816438/>. [Accessed 22 Oktober 2016]
- Ali, Z.M. 2010. Antagonism Activity of *Citrus* Fruit Juices on Some Pathogenic Bacteria. *Journal of Kerbala University* 8(3): 123-128.
- Astarini, N., Burhan, R., Zetra, Y., 2010. minyak atsiri dari kulit buah *citrus grandis*, *citrus aurantium* (L.) dan *citrus aurantifolia* (rutaceae) sebagai senyawa antibakteri dan insektisida Available from: <http://digilib.its.ac.id/public/ITS-Undergraduate-13463-Paper.pdf>. [Accessed 22 Oktober 2016]
- Bansode, D.S. & Chavan, M.D. 2012. Studies on Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of *Citrus* Fruit Juices Against Selected Enteric Pathogens. *International Research Journal of Pharmacy* 3(11): 122-126.
- Budiana, N.S. 2013. *Buah Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta: Penebar Swadaya. 90-94.
- E, I, Oikeh., Ehimwenma, S., Omoregie., Faith, E, O., Kelly, O. 2015. Phytochemical, Antimicrobial, and Antioxidant Activities Of Different Citrus Juice Concentrates. *Journal Food Science & Nutrition Published By Wiley Periodicals, Inc:* (3-6). Nigeria. [Accessed 20 February 2017]
- Faradiba, S. 2014. Efektivitas Bawang Putih (*Allium Sativum*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermis*. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Gattuso, G., Barreca, D., GSargiulli, C., Leuzzi, U., dan Caristi, C. 2007. *Flavonoid* Composition of *Citrus* Juices. *Molecules*. Vol. 12(1): 1641-1673.
- Gendrowati, F. 2014. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Padi. 51-53.
- Hasdianah, H.R. 2012. *Panduan Praktik Laboratorium Mikrobiologi*. Yogyakarta: Nuha Medika. 58.
- Hikmat, Zuhud, Siswoyo., 2011. *Revitalisasi Konservasi tumbuhan obat Keluarga (TOGA) guna Meningkatkan kesehatan dan ekonomi keluarga mandiri di Desa contoh lingkaran kampus ipb darmaga bogor*. Available from: <http://ilkom.journal.ipb.ac.id/index.php/JIPI/article/viewFile/6600/512> & [Accessed 03 November 2016]

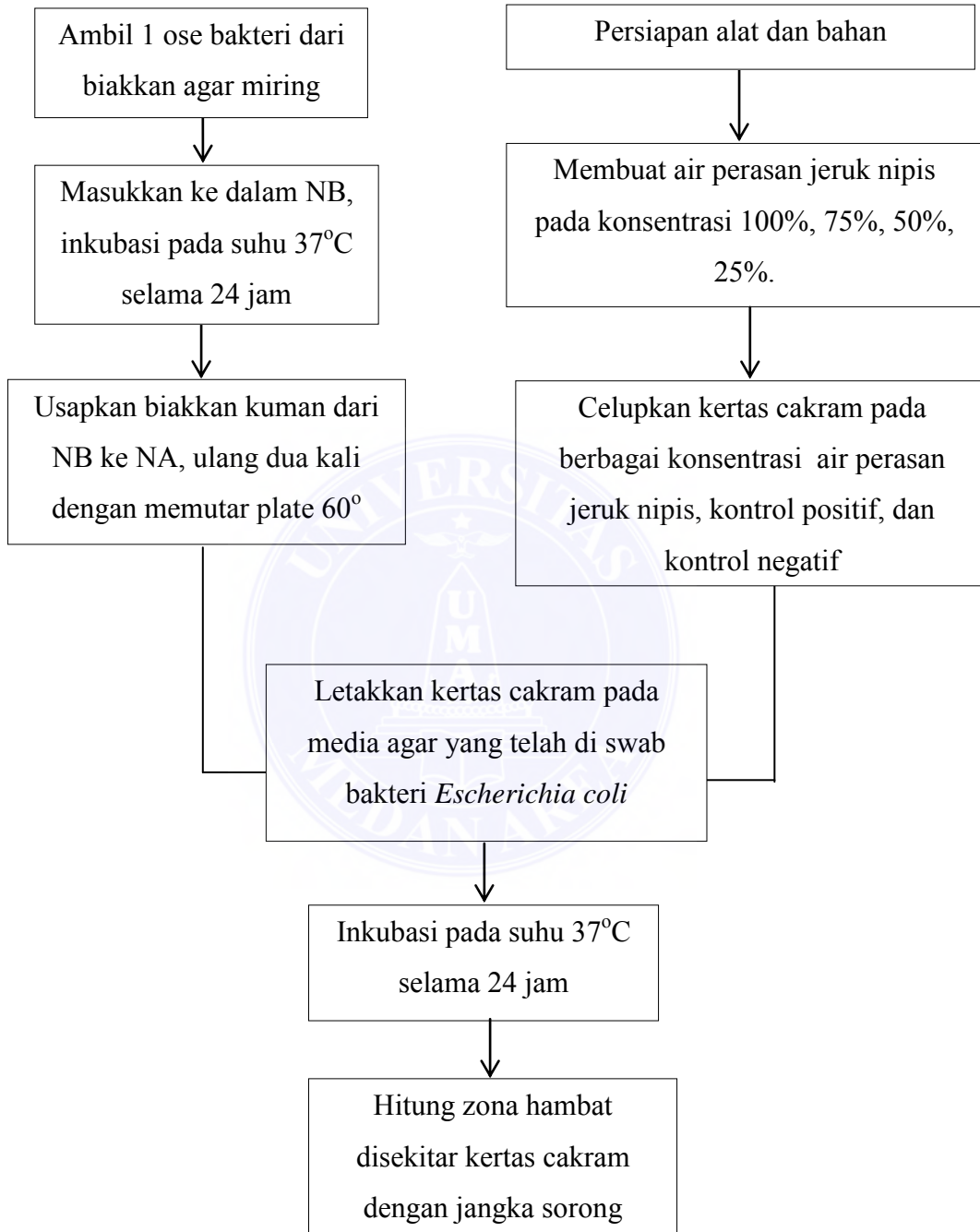
- Latief, H.A. 2014. *Obat Tradisional*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz, Melnik, Adelberg., 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, Melnik, Adelberg., 2013. *Mikrobiologi Kedokteran edisi 25*. EGC Emergency Arcan Buku Kedokteran.
- Karuniawati, Mardiasuti, Kiranasari, Ikaningsih, Kadarsih. 2007. *Emerging Resistance Pathogen: Situasi Terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia*. Available from: <http://indonesia.digitaljournals.org/index.php/idnmed/article/download/490/491>
- Merck. 2005. *Microbiology Manual*. 12th Edition. Germany: Merck KGaA. 447.
- Nurromah, F., 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: AgriFlo: Penebar Swadaya Group.
- Ojiezeh, T.I., Nwachukwu, S.E., dan Udoh, S.J. 2011. Antimicrobial Effect of *Citrus aurantifolia* Juice and *Veronica amygdalina* On Common Bacteria Isolates. *Der Pharma Chemica* 3(1): 1-7.
- Okwu, D.E, Awurum, A.N, dan Okoronkwo, J.I. 2007. Phytochemical Composition and In Vitro Antifungal Activity Screening Of Extracts From Citrus Plants Against *Fusarium Oxysporum* Of Okra Plant (*Hibiscus esculentus*). *African Crop Science Conference Proceeding* . Vol 8. 1755-1758.
- Onyeagba, R.A., Ugbogu, O.C., Okeke, C.U., Iroakasi, O. 2004. Studies On The Antimicrobial Effects of Garlic (*Allium sativum* Linn), Ginger (*Zingiber officinal* Roscoe) and Lime (*Citrus aurantifolia* Linn). *African Journal of Biotechnology* Vol.2 (10): 552-554.
- Radji, M., Biomed, M., 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Safitri, R. 2010. *Medium Analisis Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur)*. Jakarta: TIM. 80-81.
- Sahrurachman, A., *et al.* 2002. *BukuAjar Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara, Jakarta.
- Soenardi, T., Hardana, B., Budi, J.B., Vensya., *Profil Kesehatan Indonesia 2013*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI 2014. Available from: <http://www.depkes.go.id/resources/download/general/Hasil%20Risikesdas%202013.pdf>[Accessed 17 Oktober 2016]
- Supriyatno, B., Rahajoe, N.N., Setyanto, D.B., 2010. *Buku Ajar Respiriologi Anak_edisi pertama*. Badan Penerbit IDAI. Jakarta

- Hardoko, Yuliana, F., 2014. *Stability Study of Antibacterial Activity of Mixed Lime Juice and Honey of Heating Temperature on Staphylococcus aureus and Streptococcus pyogenes*. Available from: http://www.ijopaasat.in/yahoo_site_admin/assets/docs/1_IJPAST-742-V21N2.180122226.pdf [Accessed 14 Desember 2016]
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Erlangga Medical Series. 188-191.
- Taiwo, S., Oyekanmi, B., Adesiji, Y., Opaleye, and Adeyeba, O., 2007. *In vitro Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Citrus aurantifolia Linn and Tithonia diversifolia Poaceae on Clinical Bacterial Isolates*. Available from: <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/ijtm/2007/113-117.pdf> [Accessed 18 Oktober 2015]
- Vensya, R., Budijanto, D., Hardhana, B., Soenardi, T., *Data dan Informasi tahun 2014*. Jakarta Available from: <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/data-dan-informasi-2014.pdf> [Accessed 18 Oktober 2016]
- Warsa, U., 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Bina Rupa Aksara; Staf Pengajar Fakultas Kedokteran.



LAMPIRAN

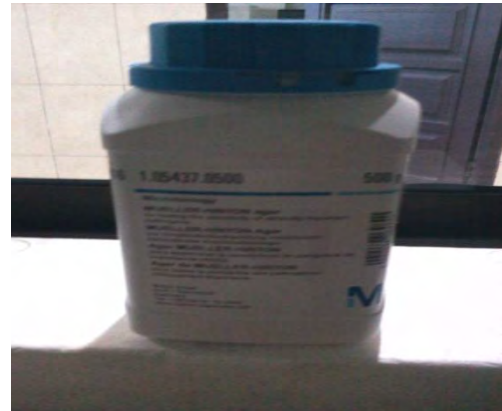
Lampiran. 1. Skema Alur Penelitian



Lampiran. 2. Gambar Alat dan Bahan Penelitian



A. Media Nutrient Broth



B. Media Nutrient Agar



C. Perlengkapan Alat yang digunakan



D. Neraca Analitik



E. Blank Disc Yang akan digunakan



F. Biakan Murni E.coli



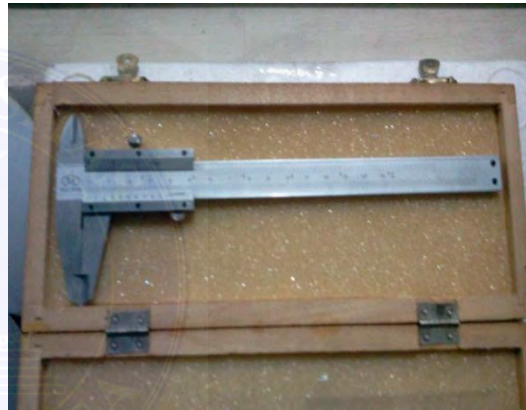
G. Autoclave



I. Inkubator



J. Laminar Air Flow



K. Jangka Sorong



L. Vortex



M. Waterbath

Lampiran. 3. Gambar Prosedur Kerja Penelitian



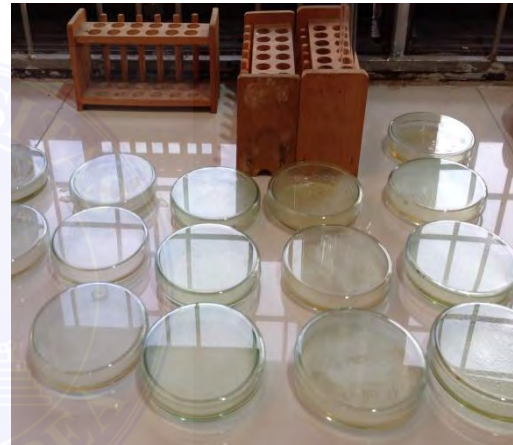
A. Sterilisasi Alat yang akan digunakan di Oven



B. Pembuatan Media Nutrient Broth



C. Media Nutrient Broth yang akan digunakan



D. Media Nutrien Agar yang akan digunakan



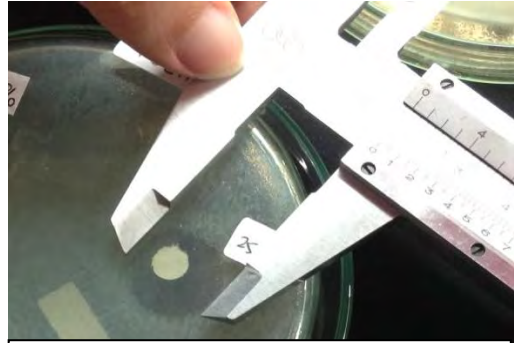
E. Inkubasi Bakteri E.coli di dalam Inkubator



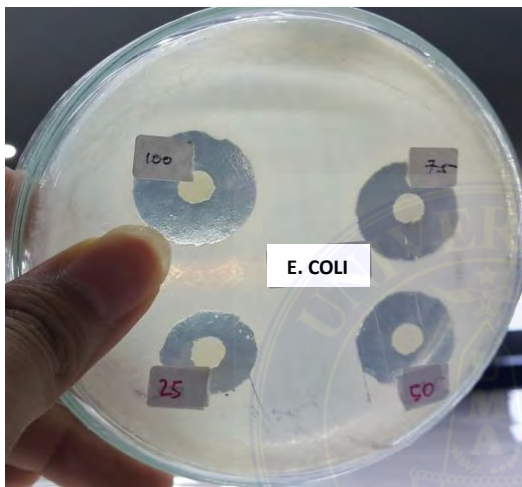
F. Perbandingan Media NB dengan Mc.Farland



G. Inkubasi pengujian kertas cakram didalam inkubator



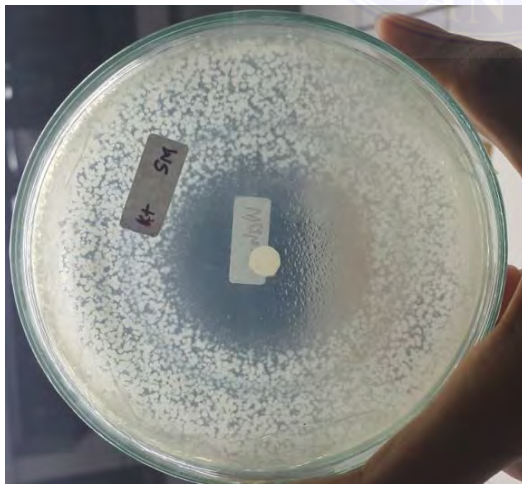
H. Pengukuran Zona hambat dengan menggunakan jangka sorong



I. Zona Hambat pada bakteri E.coli



J. Zona hambat pada kontrol negatif (aquadest steril)



K. Zona hambat pada kontrol positif (antibiotik ciprofloxacyn 500 mg)