

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan tanaman berhabitus pohon kecil dengan cabang yang lebat tetapi tidak beraturan dan tinggi berkisar antara 1,5 sampai 5 meter (Gambar 1). Perakaran tanaman kuat, cukup dalam, dan dapat tumbuh dengan baik pada segala jenis tanah. Cabang dan rantingnya berduri pendek, kaku, dan tajam (Rukmana, 2003).

Secara taksonomi, tanaman (*Citrus aurantifolia*) termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Rutales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Citrus
Spesies	: Citrus aurantifolia



2.1 Gambar Buah jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia*) (Pathan *et.al*, 2012)

Morfologi tanaman dan buah jeruk nipis yang direview dari (Rukmana 1996 dan Steenis *et al.*, 2006) adalah sebagai berikut:

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) termasuk salah jenis citrus jeruk. Tanaman jeruk nipis mempunyai akar tunggang. Jeruk nipis termasuk jenis tumbuhan perdu yang memiliki dahan dan ranting. Batang pohonnya berkayu ulet dan keras, sedangkan permukaan kulit luarnya berwarna tua dan kusam. 8 Daunnya majemuk, berbentuk elips dengan pangkal membulat, ujung tumpul, dan tepi beringgit. Panjang daunnya mencapai 2,5-9 cm dan lebarnya 2-5 cm. Tulang daunnya menyirip dengan tangkai bersayap, hijau dan lebar 5-25 mm (Rukmana, 1996).

Buah jeruk nipis diameternya berukuran 1,5 – 2,5 cm, daun mahkotanya berwarna putih kuning. Kelopak berjumlah 4 – 5, bersatu atau lepas. Mahkota berjumlah 4-5, berdaun lepas lepas. Benang sari 4-5 atau 8-10, kepala ruang sari beruang 2. Tonjolan dasar bunga beringgit atau berlekuk. Bunga beraturan, berkelamin 2, bentuk aak payung, tandan atau malai (Steenis *et al.*, 2006).

Tanaman jeruk nipis pada umur 2,5 tahun sudah mulai berbuah. Buahnya berbentuk bulat sebesar bola pingpong dengan diameter 3,5-5 cm. Kulitnya berwarna hijau atau kekuning-kuningan dengan tebal 0,2-05 cm. Daging buahnya berwarna kuning kehijauan (Rukmana, 1996 dan Steenis *et al.*, 2006).

Di bagian Kulit buah jeruk nipis juga memiliki peran penting bagi kesehatan. Kulit jeruk nipis mengandung komponen yang sangat bermanfaat. jeruk nipis mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid yaitu naringin, hesperidin, naringenin, hesperidin, rutin, nobiletin, dan tangeretin (Astawan W, 2008).

2.1.1 Efek Farmakologis Ekstrak Kulit Jeruk Nipis

Senyawa antibakteri yang selama ini digunakan adalah antibiotik, akan tetapi, penggunaan antibiotik memiliki kekurangan seperti menyebabkan timbulnya alergi, toksisitas, dan resistensi pada penggunaan jangka panjang. Antibakteri alternatif yang lebih aman dalam bentuk yang sederhana, murah, dan mudah untuk digunakan sangat diperlukan oleh masyarakat. Salah satu alternatif senyawa antibakteri yang dapat dikembangkan adalah ekstrak kulit jeruk nipis (Premalatha S, dkk 2013).

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) selama ini diketahui memiliki beberapa efek farmakologis, di antaranya antipiretik, antiinflamasi dan antibakteri. Zat aktif yang terdapat dalam kulit buah jeruk nipis yang memiliki efek antibakteri antara lain minyak atsiri, alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan *coumarin* (Suryawansi, 2011).

2.2 Senyawa Metabolit Sekunder

2.2.1 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Sebagian besar alkaloid terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan untuk tumbuhan monokotil dan pteridofita mengandung alkaloid dengan kadar yang sedikit. Selanjutnya dalam Meyer's Conversation Lexicons tahun 1896 dinyatakan bahwa alkaloid terjadi secara karakteristik di dalam tumbuh-tumbuhan, dan sering dibedakan berdasarkan kereaktifan fisiologi yang khas. Senyawa ini terdiri atas karbon, hidrogen, dan nitrogen, sebagian besar diantaranya mengandung oksigen. Sesuai dengan

namanya yang mirip dengan alkali (bersifat basa) dikarenakan adanya sepasang elektron bebas yang dimiliki oleh nitrogen sehingga dapat mendonorkan sepasang elektronnya. Kesulitan mendefinisikan alkaloid sudah berjalan bertahun-tahun. Definisi tunggal untuk alkaloid belum juga ditentukan. Trier menyatakan bahwa sebagai hasil kemajuan ilmu pengetahuan, istilah yang beragam senyawa alkaloid akhirnya harus ditinggalkan (Hesse, 1981).

Alkaloid telah dikenal selama bertahun-tahun dan telah menarik perhatian terutama karena pengaruh fisiologinya terhadap mamalia dan pemakaiannya di bidang farmasi, tetapi fungsinya dalam tumbuhan hampir sama sekali kabur. Beberapa pendapat mengenai kemungkinan perannya dalam tumbuhan sebagai berikut (Padmawinata, 1995).

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri. (Karou, *et al.*, 2005)

2.2.2 Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat di alam. Saponin ini berasa pahit, berbusa dalam air dan bersifat antimikroba. Dalam menekan pertumbuhan bakteri, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel (Widodo, 2005). Senyawa saponin merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah atau lisis (Pratiwi, 2008). Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan dapat dengan mudah masuk

kedalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri.

2.2.3 Flavonoid

Flavonoid yang terkandung dalam kulit *citrus* memiliki aktifitas biologi dengan spektrum yang luas diantaranya antibakteri, antifungal, *antidiabetic*, antikanker dan antivirus. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dan membunuh radikal bebas, mempunyai kapasitas untuk mengatur aktivitas enzimatik serta menghambat proliferasi sel (Obidi O dkk, 2013).

Pada tumbuhan, flavonoid memainkan peran penting dalam pertahanan melawan patogen-patogen seperti bakteri, jamur dan virus (Obidi O dkk, 2013).

Flavonoid memiliki toksisitas yang minimal. Flavonoid dapat dengan mudah ditemukan di buah-buahan, minuman, dan juga telah sering digunakan sebagai obat tradisional. Banyak peneliti telah menguji aktivitas antibakteri ekstrak tanaman yang banyak digunakan masyarakat sebagai obat tradisional secara *in vitro*. Ekstrak tanaman yang kaya akan flavonoid memiliki aktivitas antibakteri (Lee J dkk, 2014).

Struktur flavonoid yang teridentifikasi memiliki aktivitas antibakteri diantaranya apigenin, galangin, pinocembrin, ponciretin, sophoraflavanone G dan derivatnya, naringin dan naringenin, epigallocatechin gallate dan derivatnya, luteolin dan luteolin 7-glucoside, quercetin 3-O-methylquercetin serta kaempferol (Lee J dkk, 2014).

2.2.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa polyphenol yang memiliki berat molekul yang tinggi dan dapat mengikat protein. Mekanisme penghambatan tanin terhadap bakteri adalah dengan cara bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim-enzim esensial dan destruksi atau inaktivasi fungsi material genetik (Obidi O dkk, 2013).

Tanin merupakan senyawa oligomer kompleks dari satuan berulang dengan gugus fenolik bebas. Tanin mengandung gugus hidroksi fenolik dan gugus lain yang sesuai (seperti karboksil) untuk membentuk kompleks yang stabil dengan protein dan makromolekul lain secara efektif dalam kondisi yang sesuai. Tanin mudah larut dalam pelarut polar, seperti air, dioksan, aseton, alkohol; sedikit larut dalam pelarut etil asetat, dan tidak larut dalam pelarut non-polar seperti eter, kloroform, dan benzena, sedangkan *coumarin* diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (Akrayi dan Abdulrahman, 2013).

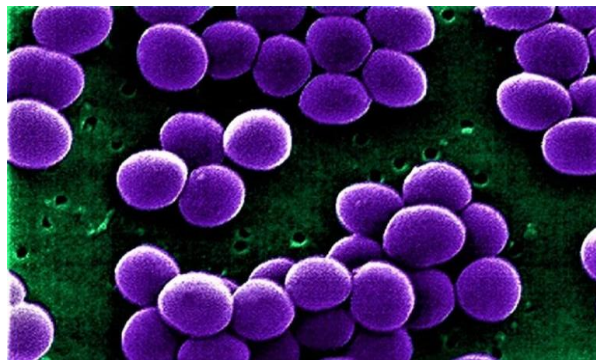
2.3 Tinjauan Tentang Bakteri *staphylococcus aureus*

Bakteri terdapat secara luas di lingkungan alam yang berhubungan dengan hewan, tumbuh-tumbuhan, udara, air dan tanah. Pada kenyataannya sangat sedikit sekali lingkungan yang bersih dari bakteri. Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal tidak terlihat oleh mata, berukuran antara 0,5 – 10 μm dan lebar 0,5 - 2,5 μm tergantung pada jenisnya. Terdapat 7 beribu jenis bakteri, tapi hanya beberapa jenis bakteri yang ditemukan, di antaranya berbentuk bulat, batang, spiral, koma atau vibrios (Buckel dkk., 1987). Bakteri juga dibedakan menjadi dua yaitu, bakteri gram positif dan gram negatif.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang memiliki bentuk kokus berdiameter antara 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, tidak berspora dan

berkelompok seperti buah anggur bila dilihat di bawah mikroskop. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen. Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat dengan diameter 1-2 mm, cembung buram, mengkilat dan konsentrasinya lunak. Koloni yang dibentuk berwarna abu-abu hingga kuning tua kecoklatan namun koloni bakteri yang masih sangat muda tidak berwarna. Batas suhu untuk pertumbuhan *staphylococcus aureus* adalah 15°C dan 40°C dan paling cepat berkembang pada suhu 37°C. Diantara semua bakteri yang tidak membentuk spora, *staphylococcus aureus* termasuk jenis kuman yang paling kuat. Bakteri ini dapat tetap hidup selama berbulan-bulan dalam media agar miring yang disimpan dilemari es maupu pada suhu kamar dan dapat bertahan dalam zat kimia yaitu alkohol 50-70% selama 1 jam . Sistematika *stphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Tazkiyatul, 2014).

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Bangsa : Eubacteriales
Suku : Micrococcaceae
Marga : Staphylococcus
Jenis : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Sahil, 2017)

Untuk meremajakan bakteri *Staphylococcus aureus* sebenarnya terdapat media selektif yang dapat digunakan yaitu media MSA (Manitol Salt Agar). Media ini sering digunakan untuk mengisolasi bakteri *Staphylococcus* patogen, khususnya *Staphylococcus aureus*. Kultur dilakukan dengan teknik goresan pada media dan diinkubasi pada inkubator selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Spesies *Staphylococcus* patogen yaitu *Staphylococcus aureus* pada media ini dapat memfermentasi manitol dan menghasilkan asam. Hal tersebut menyebabkan berubahnya warna media menjadi kuning. Selain spesies *S. aureus*, *Staphylococcus* yang tidak patogen misalnya *S. epidermidis* juga dapat tumbuh pada media ini namun tidak dapat memfermentasi manitol sehingga warna media tidak berubah. (Eky dkk, 2015)

2.4 Metode Pengujian Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan menggunakan tiga metode, yaitu metode difusi, dilusi dan bioautografi. Metode difusi dan bioautobiografi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba. Disisi lain, metode dilusi digunakan untuk kuanitatif yang akan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum(KHM) (Jawet *et al.*, 2007).

2.4.1 Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk uji aktivitas antibakteri. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yakni metode silinder, metode lubang atau sumuran dan metode cakram (Kusmayati dan Agustin, 2007)

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi. (Brooks *at al.*, 2007)

1. Cara Cakram

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulai mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. (Pelczar dan Chan, 1998)

2. Cara Parit (ditch)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidan parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan diterbentuk di sekitar parit. (Bonang, 1992)

3. Cara Sumuran (hole/cup)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang

itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang. (Bonang, 1992)

Metode ini adalah metode yang paling sering digunakan karena paling mudah dilakukan, biayanya relatif murah dan peralatannya juga mudah.

2.4.2 Metode Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba didalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. (Pratiwi, 2008)

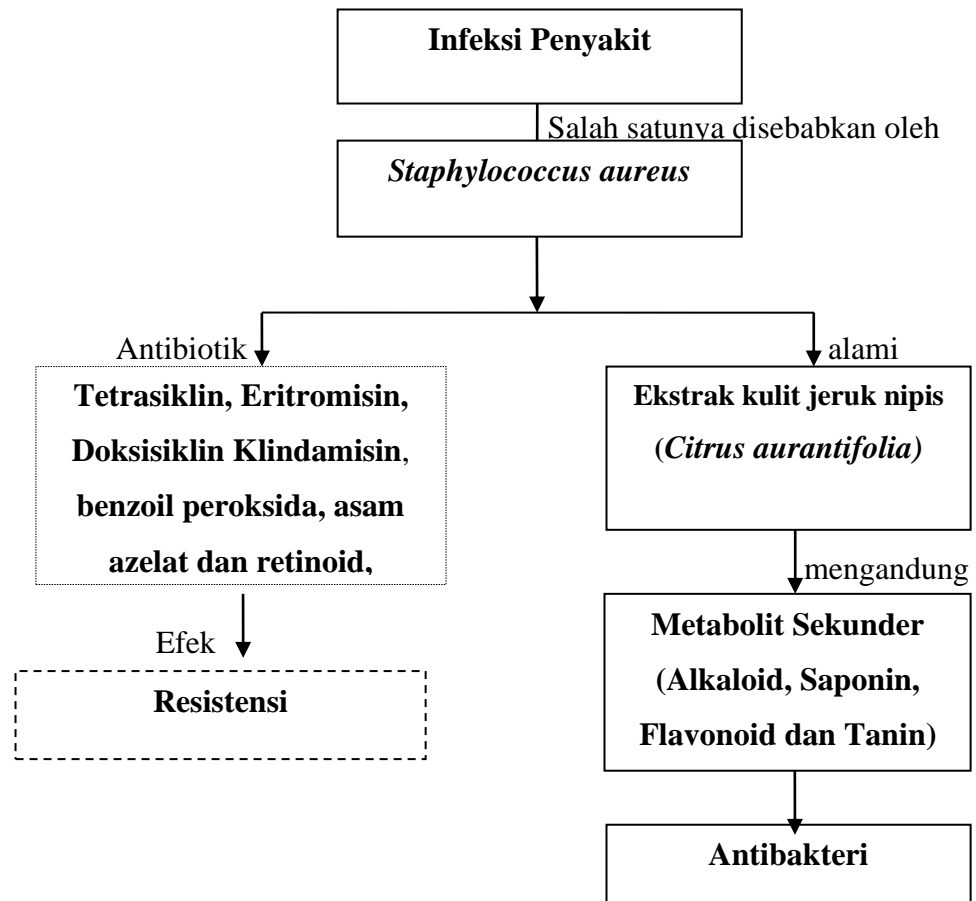
2.4.3 Metode Difusi dan Dilusi

E-test atau biasa disebut juga dengan epsilometer adalah metode tes dimana huruf "E" dalam nama E-test menunjukkan simbol epsilon (ϵ). E-test merupakan metode kuantitatif untuk uji antimikroba. Metode ini termasuk gabungan antara metode dilusi dari antibakteri dan metode difusi antibakteri kedalam media. Metode ini dilakukan dengan menggunakan strip plastic yang sudah mengandung agen antibakteri dengan konsentrasi terendah sampai konsentrasi tertinggi diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Hambatan pertumbuhan mikroorganisme bisa diamati dengan adanya area jernih di sekitar strip tersebut.

E-test dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) untuk bakteri seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus β -hemolitik*,

Neisseria gonorrhoeae, *Haemophilus sp* dan bakteri anaerob. Dapat juga digunakan untuk bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas sp* dan *Burkholderia pseudomallei*. (Prayoga, 2013)

2.5 Kerangka Teori



Keterangan :

----- : tidak dilakukan

————— : dilakukan

Gambar 2.5 kerangka Teori

2.6 Hipotesis

H₀ = Ekstrak kulit jeruk nipis tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri

Staphylococcus aureus.

H₁ = Ekstrak kulit jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri

Staphylococcus aureus.