

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) adalah salah satu spesies jeruk yang tersebar di Asia Tenggara, khususnya di Indonesia. Jeruk purut berasal dari Timur Assam, Myanmar Utara, dan Barat Yunnan (Zamzamiyah & Ashari, 2020). Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki daun berbetuk majemuk menyirip. Tangkai daun sebagian melebar menyerupai anak daun. Helaian anak daun berbentuk bulat telur dan lonjong, pangkal daun memiliki bentuk membulat hingga tumpul, ujung daun tumpul sampai meruncing, permukaan tepi daun bergelombang (beringit), panjang daun berkisar 8 -15 cm, dengan lebar daun berkisar 2 – 6 cm, kedua permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih hingga putih pudar, permukaan atas warnanya hijau tua agak mengilap, permukaan bawah hijau muda atau hijau kekuningan, buram, jika diremas baunya harum khas jeruk purut. Buah Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) berbentuk bulat telur, kulitnya hijau dengan ciri khas permukaan kulit yang berkerut, berbenjol-benjol tidak rata, rasanya asam agak pahit (Adlini & Umaroh, 2021; Wahyuni *et al.*, 2023).

Tanaman jeruk purut kaya akan molekul bioaktif seperti minyak esensial, senyawa fenolik, dan beberapa molekul lain. Minyak esensial dari jeruk purut dapat diperoleh dari ekstrak daun dan kulit jeruk purut yang biasanya digunakan sebagai bahan perasa, aromaterapi, parfum, dan obat (Latifah *et al.*, 2023; Zamzamiyah & Ashari, 2020). Tanaman jeruk purut memiliki manfaat pada setiap bagian antara lain daun berfungsi sebagai obat maag, gigitan serangga serta mengobati cacingan dan sakit kepala. Bagian buah digunakan sebagai obat hipertensi, flu, demam, diare, stimulan pencernaan dan pembersih darah. Bagian batang dapat disuling untuk membuat minyak atsiri. (Adlini & Umaroh, 2021; Ikarini *et al.*, 2021)

Minyak atsiri kulit jeruk purut telah banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari sebagai agen pemberi rasa dan aroma, serta pembuatan wewangian dan bahan tambahan obat. Dengan percepatan teknologi dan ilmu pengetahuan dimasa sekarang penggunaan minyak atsiri dari kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC)

menunjukkan aktivitasnya sebagai agen antibakteri. Beberapa penelitian praklinis telah melaporkan aktivitas minyak atsiri antara lain sebagai antimikroba, antioksidan, antiinflamasi dan antikanker dalam sejumlah sel dan hewan model.(Latifah *et al.*, 2023)

Taksonomi Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) menurut (Wahyuni *et al.*, 2023) Hasil determinasi tumbuhan yang dilakukan di Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata memberikan hasil bahwa jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Tabel 2. 1 Klasifikasi Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)

| | |
|--------------|--------------------------|
| Kingdom | <i>Plantae</i> |
| Sub kingdom | <i>Tracheobionta</i> |
| Super Divisi | <i>Spermatophyta</i> |
| Divisi | <i>Magnoliophyta</i> |
| Kelas | <i>Magnoliopsida</i> |
| Sub Kelas | <i>Rosidae</i> |
| Ordo | <i>Sapindales</i> |
| Famili | <i>Rutaceae</i> |
| Genus | <i>Citrus</i> |
| Spesies | <i>Citrus hystrix</i> Dc |

2.1.1 Kandungan Senyawa Jeruk Purut

Menurut (Aprilyanie *et al.*, 2023) skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) meliputi uji alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan triterpenoid/steroid. Hasil yang diperoleh dari skrining fitokima ditunjukkan pada table berikut :

Tabel 2. 2 Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Jeruk Purut

| Uji | Pereaksi | Hasil pengamatan ekstrak etanol | Kesimpulan |
|-----------|----------------------------------|---------------------------------|------------|
| Flavonoid | Zn + HCl 2N | Orange | + |
| | Mayer | Endapan putih | + |
| Alkaloid | Dragendorf | Kuning | - |
| | Bauchardat | Kuning | - |
| Saponin | Air panas + HCl | Berbuih | + |
| Tanin | Air panas + FeCl ₃ | Biru kehitaman | - |

Keterangan : (+) Ada gol. senyawa; (-) Tidak ada gol. senyawa

Kandungan kimia dalam kulit buah jeruk purut menurut penelitian (Warsito *et al.*, 2017) memiliki komposisi kimia lebih bervariasi dengan didominasi komponen monoterpen hidrokarbon. Komponen monoterpen hidrokarbon meliputi β -pinen, sabinene, limonene, γ -terpinen. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Latifah *et al.*, 2023) menunjukkan bahwa tiga komponen utama yang terkandung pada minyak atsiri kulit buah jeruk purut adalah β -pinene, limonene, sabinene. Sedangkan dalam penelitian lain menunjukkan bahwa kandungan utama dalam minyak atsiri kulit jeruk purut adalah flavonoid, karotenoid, limonoid dan mineral dengan kandungan flavonoid utama dalam jeruk adalah naringin, narirutin, dan hesperidin (Aprilyanie *et al.*, 2023). Perbedaan komponen kimia serta sifat fisikokimia minyak atsiri yang terdapat dalam minyak atsiri kulit buah jeruk dapat terjadi karena beberapa sebab yakni dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, metode ekstraksi, dan musim panen.

Aktivitas antibakteri yang kuat dari ekstrak kulit buah jeruk purut disebabkan adanya senyawa monoterpen hidrokarbon yang terkandung didalamnya. Senyawa β -pinene telah terbukti mempunyai

efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA (Ariyani *et al.*, 2018). Selain itu aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit buah jeruk purut diduga karena adanya kandungan senyawa golongan fenolik dan flavonoid yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase. Kandungan saponin dalam jeruk purut diduga berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba melalui menghambat sintesa asam nukleat dalam sel (Suhartatik *et al.*, 2022)

2.2 *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus adalah bakteri golongan gram positif dan tidak membentuk spora. Bakteri ini berbentuk batang panjang serta bersifat anaerob fakultatif dan katalase negatif. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat melekat pada permukaan email baik secara langsung ataupun dengan saliva. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi laju *Lactobacillus acidophilus* pada saliva adalah asupan karbohidrat (Solehah *et al.*, 2022). Klasifikasi *L. acidophilus* adalah sebagai berikut:

Tabel 2. 3 Klasifikasi *Lactobacillus acidophilus*

| | |
|---------|----------------------------------|
| Kingdom | <i>Bacteria</i> |
| Divisi | <i>Firmicutes</i> |
| Kelas | <i>Bacilli</i> |
| Ordo | <i>Lactobacillales</i> |
| Famili | <i>Lactobacillaceae</i> |
| Genus | <i>Lactobacillus</i> |
| Spesies | <i>Lactobacillus acidophilus</i> |

Lactobacillus acidophilus merupakan bakteri asam laktat yang umumnya digunakan dalam pengawetan minuman probiotik karena kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antibakteri. *Lactobacillus acidophilus* juga

menghasilkan senyawa antibakteri yang sering dikenal dengan sebutan bakteriosin, senyawa ini memiliki peran penting dalam menghambat tumbuhnya bakteri pembusuk (Solehah *et al.*, 2022). warna koloni putih susu dan sedikit krem, bentuk koloni bulat. Sel berbentuk batang dan biasanya tetap. Biasanya berbentuk batang panjang, tetapi hampir bulat, biasanya bentuk rantai yang pendek, gram positif, tidak motil, oksidase positif, katalase negatif, metil red positif, optimal pada suhu 30- 37°C dan tumbuh baik pada NaCl 3-7%. *Lactobacillus achidophilus* termasuk kedalam golongan obligat homofermentatif berarti bahwa bakteri mampu memproduksi asam laktat sekaligus asam asetat dari metabolisme karbohidrat melalui jalur *Embden – Meyerhoff* (heksosa difosfat, HDP) (Coelho *et al.*, 2022).

Lactobacillus berperan dalam proses perkembangan dan kelanjutan dari karies gigi. *Lactobacillus achidophilus* sering menjadi agen penyebab terjadinya lesi karies sekunder yang mempercepat proses demineralisasi (Halim *et al.*, 2023). Mikroorganisme tersebut menghasilkan asam organik yaitu asam laktat hasil dari fermentasi karbohidrat yang menempel pada lapisan gigi, sehingga menyebabkan kerusakan pada gigi. *Lactobacillus acidophilus* adalah bakteri penyebab karies yang paling dominan diantara spesies *Lactobacillus* lainnya (Nurhalisa *et al.*, 2020). *Lactobacillus achidophilus* juga dilaporkan terdapat pada kasus endokarditis dimana dari dua kultur darah yang diambil dari jalur vena yang berbeda dari pasien yang mengalami endokarditis bacterial menunjukkan adanya pertumbuhan *Lactobacillus achidophilus* (Encarnacion *et al.*, 2016). Berdasarkan pengujian kerentanan bakteri menunjukkan bahwa organisme *Lactobacillus achidophilus* sensitif terhadap klindamisin, eritromisin, dan penisilin akan tetapi resisten terhadap antibiotik vankomisin (Ozer *et al.*, 2020).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen menggunakan suatu pelarut yang sesuai dengan target rendemen yang diinginkan. (Syamsul *et al.*, 2020) Pengertian lain menyebutkan bahwa ekstraksi merupakan proses

penarikan komponen kimia sehingga terpisah dari bahan alam dengan menggunakan pelarut cair sebagai agen pemisah. Proses ekstraksi senyawa suatu bahan alam harus dilakukan dengan metode yang sesuai karena akan mempengaruhi jumlah ekstrak, kandungan senyawa dalam ekstrak dan mutu dari ekstrak.(Fauziah *et al.*, 2022) Ada beberapa metode ekstraksi terdiri dari proses ekstraksi panas meliputi : soxletasi, digesti, reflux, dekokta, dan infusa sedangkan pada ekstraksi dingin meliputi : perkolasi dan maserasi (Aprilyanie *et al.*, 2023). Ekstrasi perkolasi tidak dipilih karena memiliki kekurangan yakni membutuhkan cairan penyari lebih banyak dan beresiko terkena cemaran mikroba karena menggunakan penyari air dan dilakukan secara terbuka dan membutuhkan waktu yang lama (Deanggi *et al.*, 2022).

Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur tertentu. Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Wijaya *et al.*, 2022). Metode maserasi merupakan metode yang memiliki keunggulan dimana terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak karena proses dilakukan pada suhu ruang sehingga diharapkan bahan aktif yang terkandung pada ekstrak tidak rusak karena pengaruh suhu tinggi (Huda *et al.*, 2019).

Etanol 96% pelarut universal, bersifat polar, selektif, tidak toksik, mempunyai kemampuan menyari yang baik dan dapat menyari senyawa yang bersifat polar, semi polar maupun nonpolar. Hal lain yang memperkuat pemilihan etanol sebagai pelarut yakni etanol 96% mampu berpenetrasi sampai ke dinding sel sampel dibandingkan dengan etanol yang konsentrasinya lebih rendah dan mudah diuapkan sehingga mudah diperoleh ekstrak etanol yang pekat (Qonitah *et al.*, 2022). Pelarut dengan konsentrasi rendah mengandung lebih banyak air sehingga berpotensi menimbulkan kontaminasi bakteri dan memerlukan waktu yang panjang pada proses penguapan (Yunita & Khodijah, 2020).

Penelitian lain menyebutkan bahwa maserasi yang dilakukan terhadap simplisia kulit buah jeruk purut dengan menggunakan pelarut etanol 96% pada suhu 25°C selama 24 jam menghasilkan nilai rendemen sebesar $17,59 \pm 1,70\%$ (Anabella Jessica *et al.*, 2022). Maserasi terhadap kulit buah jeruk purut juga dilakukan oleh (Daswi *et al.*, 2019) dimana maserasi dilakukan terhadap 100 gram simplisia kulit buah jeruk purut dan 800 ml etanol 96% menghasilkan 19,28 gram ekstrak kental.

2.4 Difusi Sumuran

Pengujian aktivitas antibakteri secara *in vitro* diukur untuk menentukan potensi agen antimikroba, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kepekaan mikroorganisme penyebab terhadap obat yang diketahui. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap hasil uji aktivitas antibakteri yaitu pH lingkungan, komponen media, stabilitas obat, ukuran inokulum, waktu inkubasi, dan aktivitas metabolik mikroorganisme. Pengujian aktivitas antibakteri secara *in vitro* terbagi dalam dua metode yaitu metode dilusi dan difusi (Asri *et al.*, 2022)

Metode Dilusi adalah metode yang menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair maupun media padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antibakteri dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Metode dilusi yang lebih sederhana dan sering dipakai saat ini adalah *microdilution plate*. (Nurhayati *et al.*, 2020)

Metode difusi adalah metode umum digunakan dalam analisis aktivitas antibakteri. Metode difusi terbagi menjadi tiga cara yakni metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder (Nurhayati *et al.*, 2020). Konsep utama pada metode difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan. Metode difusi cakram dalam uji antimikroba mempunyai tingkat kesesuaian antara 82.0%-100% tergantung dari jenis antibiotik atau antimikroba yang digunakan (Rahman *et al.*, 2022). Namun demikian metode difusi cakram memiliki kekurangan yaitu tingkat osmolaritas

larutan uji yang rendah dan konsentrasi ekstrak yang digunakan lebih sedikit sedangkan, metode sumuran menghasilkan aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan dengan metode cakram (*paper disk*) (Rahman *et al.*, 2022). Prinsip kerja pada metode ini adalah membuat lubang pada agar yang telah diinokulasi dengan bakteri, kemudian larutan diteteskan pada lubang sumuran yang telah dibuat. Metode difusi sumuran memiliki kelebihan yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena kultur bakteri dapat beraktivitas pada permukaan atas dan bawah nutrien agar (Alouw *et al.*, 2022).

Pemilihan metode difusi sumuran juga didasari karena metode ini sangat cocok untuk pertumbuhan bakteri anaerob fakultatif. Bakteri anaerob fakultatif adalah bakteri yang dapat hidup dengan baik dengan oksigen atau tanpa oksigen sehingga pertumbuhannya dapat terjadi dipermukaan agar maupun dasar agar dimana kurang efektif jika menggunakan metode difusi cakram. Berdasarkan hal tersebut diharapkan bahwa zona hambat yang terbentuk lebih jelas sehingga dapat dengan pasti mengetahui besaran zona hambat ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*.

2.4.1 Antibiotik

Antibiotik merupakan suatu zat yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri yang merugikan manusia. Suatu ekstrak tanaman dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri jika ekstrak tersebut dapat menunjukkan hasil pada pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan. Antibiotik atau antibakteri secara umum dibagi menjadi dua jenis yaitu antibiotik dengan spektrum yang sempit dan luas. Antibiotik spektrum sempit dapat memberikan efek pada salah satu golongan bakteri seperti bakteri gram negatif atau positif sedangkan antibiotik spektrum luas dapat memberikan efek pada keduanya (Basyar *et al.*, 2022).

Berdasarkan mekanisme kerjanya aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteristatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas

bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas). Agen antibiotik dan antimikroba yang digunakan pada penanganan *Lactobacillus acidophilus* salah satunya adalah klindamisin.

Klindamisin merupakan antibiotic turunan semisintetik dari lincomycin, bekerja efektif untuk mengatasi infeksi yang disebabkan bakteri anaerob yang rentan dimana biasanya terjadi pada infeksi gigi, saluran pernapasan, kulit, jaringan lunak, dan periontis. Klindamisin biasa digunakan sebagai terapi alternatif pada kasus alergi penisilin. Klindamisin merupakan antibiotik yang kuat yang dapat mengatasi hampir 75% bakteri penyebab infeksi odontogenik memiliki tingkat kemanjuran lebih dibandingkan dengan antibiotika golongan penisilin dan metronidazol (Ahmadi *et al.*, 2021).

Antibiotik klindamisin memiliki aktivitas yang tinggi terhadap berbagai bakteri fakultatif anaerob (Athallah & Sugesti, 2020). Organisme gram positif yang rentan terhadap klindamisin adalah *Actinomyces*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, dan spesies *Staphylococcus*. Klindamisin bekerja dengan menghambat sintesa protein dengan jalan mengganggu proses translokasi ribosom pada bakteri (Huda *et al.*, 2019). Penggunaan klindamisin bersama dengan *benzylpenicillin* dapat menghambat pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* (Qiu *et al.*, 2020).

2.5 Keaslian Penelitian

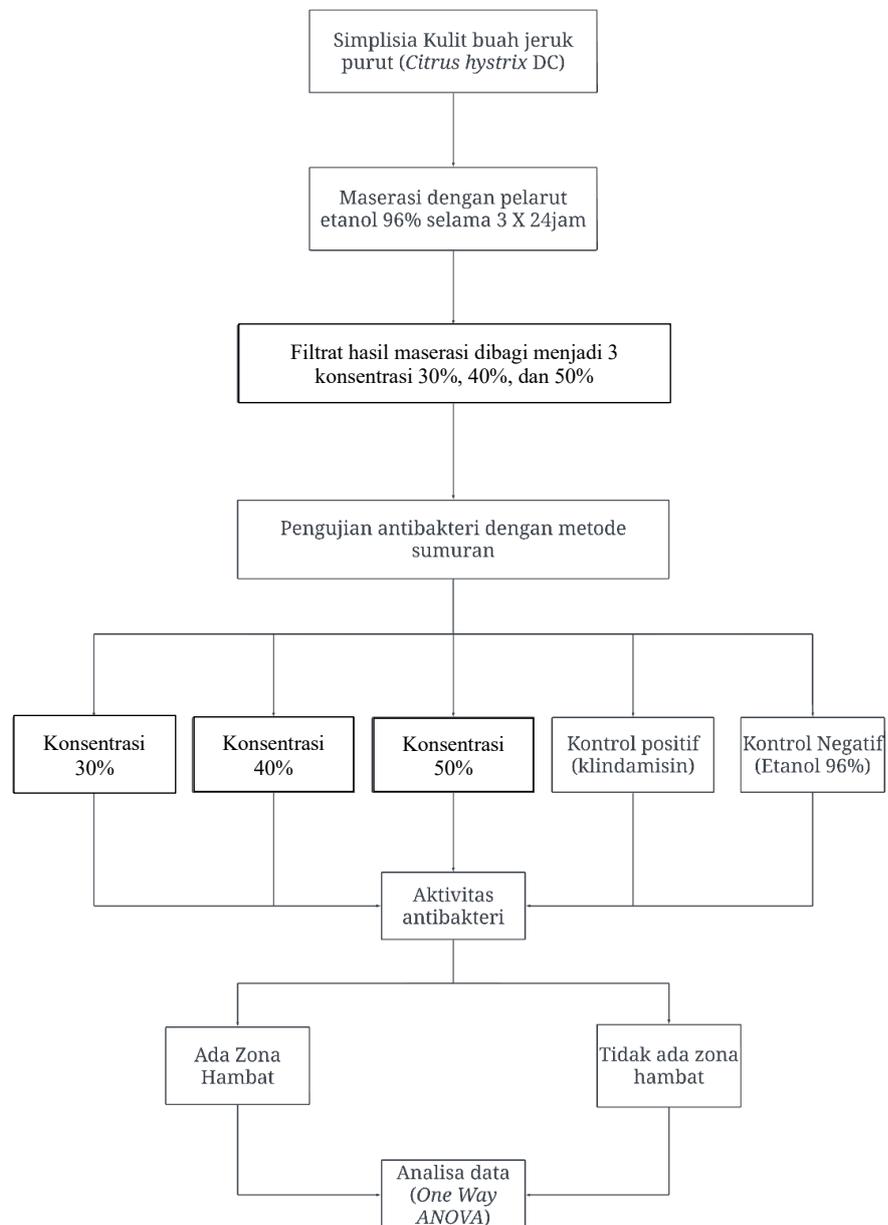
Tabel 2. 4 Keaslian penelitian

| No | Penulis | Judul Penelitian | Metode | Hasil penelitian | Perbedaan |
|----|--|--|--|--|--|
| 1 | Ni Komang Astriani, Dewi chusniasih, selvi Marcelina | Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix) Terhadap Bakteri Escherichia coli Dan Staphylococcus aureus | Eksperimental | Dalam peneilitian ini dapat disimpulkan yaitu Ekstrak daun jeruk purut (Citrus hystrix) dapat menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus.Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun jeruk purut (Citrus hystrix) diperoleh pada konsentrasi 5% | Menggunakan simplisia daun jeruk purut |
| 2 | Vhika Dhavesia | Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix D. C.) Terhadap <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Dan <i>Staphylococcus Epidermidis</i> | Rancangan acak lengkap dengan perlakuan variasi konsentrasi ekstrak metode sumuran | Konsentrasi 50 % adalah konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus epidermidis dan Pseudomonas aeruginosa. | Simplisia uji, pelarut, bakteri yang diujikan dan metode pengujian |

| | | | | | |
|---|---|--|--|---|---|
| 3 | Siti maimunah, Raihana, Yosy Cinthya Eriwaty Silalahi | Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix DC) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> | Rancangan acak lengkap (RAL) dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20%, kemudian digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri dengan perbedaan disc diffiusion. | Hasil analisis data menunjukkan bahwa daun jeruk purut mempengaruhi pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> , dimana berdasarkan penelitian nilai sig | Simplisia uji, bakteri uji, dan variasi konsentrasi |
| 4 | Yoga Alim Prinsanda, Destik Wulandari | Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Cytrus Hystrix</i>) Terhadap Bakteri <i>Salmonella Typhi</i> | Ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Diujikan pada bakteri <i>Salmonella Typhi</i> . Pengujian efek antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram | Ekstrak daun jeruk purut (<i>Cytrus hystrix</i>) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Salmonella typhi</i> . Berdasarkan hasil rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk ekstrak daun jeruk purut (<i>Cytrus hystrix</i>) memiliki kekuatan aktivitas antibakteri pada kategori sedang dan kuat. Rata rata zona | Simplisia uji dan bakteri uji |

| | | | | | |
|---|------------------------|--|---|--|--|
| | | | | | hambat sebesar 8 mm pada konsentrasi 2,5%, 9,6mm. Pada konsentrasi 5% yang memiliki aktivitas antibakteri sedang dan pada konsentrasi 10% memiliki zona hambat sebesar 11,6 mm dengan aktivitas antibakteri kuat |
| 5 | Regita Andriani Pulung | Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Jeruk Purut (<i>Cytrus hystrix</i> DC) Terhadap Staphylococcus Epidermis | Metode eksperimental, ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% dengan metode uji mikrodilusi pada 96 well plate, hasil dibaca dengan spektrofotometer guna mengetahui nilai KHM dan KBM | Kulit Buah Jeruk Purut (<i>Cytrus hystrix</i> DC) memiliki aktivitas antibakteri terhadap staphylococcus epidermis dengan nilai KHM berada pada rentang 200-400 mg/mL dan nilai KBM pada rentang 400-800 mg/mL. | Pelarut yang digunakan pada ekstraksi, bakteri uji dan metode uji bakteri |

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. 1 Kerangka Konsep Penelitian

2.7 Hipotesa

Ekstrak Kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dari pelarut etanol 96% memiliki aktivitas antibakteri dan memberikan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*