

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Tanaman Jeruk Purut

Jeruk purut adalah salah satu anggota dari suku *rutaceae* (suku jeruk-jerukan). Tanaman ini memiliki buah yang berdaging. Umumnya asam karena kandungan asam sitrat yang memang ada di dalam seluruh anggota suku tersebut (Marwanto, 2014).

Berikut data klasifikasi genus jeruk purut yang dimaksud:



Gambar 2.1 Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.)

(Sumber: Munawaroh, 2010)

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Bangsai	: <i>Sapindales</i>
Suku	: <i>Rutaceae</i>

Marga : *Citrus*

Jenis : *Citrus hystrix* D.C.

(Sawastika, 2009)

Tanaman jeruk purut berasal dari Asia Tenggara dan sekarang banyak ditanam di beberapa negara termasuk di dalamnya Indonesia. Tanaman ini biasanya berukuran rendah atau perdu. Batangnya berwarna hijau tua sedangkan dahan dan rantingnya bersudut tajam, berwarna hijau tua, berbintik dan berduri di ketiak daunnya. Letak daun jeruk purut berpencar atau tersebar dan bertangkai agak panjang serta bersayap panjang. Buahnya berbentuk bulat sampai bundar dengan ukuran yang relatif lebih kecil dibanding jeruk lainnya (Swastika, 2009).

Di dalam tanaman jeruk purut terkandung beberapa senyawa yang memiliki banyak manfaat. Menurut Munawaroh & Astuti (2010), tanaman jeruk purut mengandung *sabinena* dan *limonene* yang dapat digunakan dalam pembuatan kosmetik dan beberapa senyawa lainnya yang mengandung khasiat antibakteri, di antaranya:

a. Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan zat mudah menguap yang diketahui terkandung di dalam jeruk purut dan memiliki khasiat antibakteri khususnya terpenoid (Harbone, 1987). Penelitian Hakim, *et al.* (2019) menyebutkan bahwa kandungan tertinggi

minyak atsiri dalam tanaman jeruk purut terdapat pada bagian daunnya. Salah satu bentuk minyak atsiri yang terkandung dalam tanaman ini adalah bentuk *limonene* (Harbone, 1987). Rantai hidrokarbon yang ada di dalamnya akan mendisintegrasikan membran terluar dari bakteri sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Bassole & Juliani, 2012).

b. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu senyawa yang tersusun dari satu atau lebih atom nitrogen bersifat basa dan membentuk cincin heterosiklik. Bagian daun tanaman jeruk purut mengandung alkaloid (Rahmi, 2013). Penelitian lainnya dari Hanina dan Sarah (2020) juga menyebutkan bahwa ekstrak etanol 96% daun jeruk purut positif mengandung alkaloid, ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan ketika dilakukan uji *dragendorff* pada skrinning fitokimianya. Alkaloid sendiri mempunyai khasiat antibakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri sehingga sel akan mengalami lisis dan akhirnya mati (Trisia, Philyria & Toemon, 2018).

c. Flavonoid

Flavonoid termasuk golongan fenilbenzopiron dengan dua cincin utama yang saling melekat sebagai struktur dasarnya. Senyawa ini dapat ditemui di tanaman jeruk purut baik di dalam daun, kulit buah, maupun kulit batangnya (Rahmi,

2013). Khasiatnya sebagai antibakteri, bekerja dengan cara menghambat sintesis asam nukleat yang mana penghambatan tersebut mengakibatkan permeabilitas membran sel bakteri meningkat. Peningkatan permeabilitas memicu terjadinya denaturasi protein dalam sel sehingga sel akan rusak dan mati (Ergia *et al.*, 2014).

d. Tanin

Secara umum, tanin ditemukan pada seluruh bagian tumbuhan genus *citrus* termasuk di dalamnya tanaman jeruk purut. Konsentrasi terbesarnya ada di dalam daun yaitu sekitar 0,53-1,44% (Anthonia, 2014). Tanin memiliki manfaat sebagai antibakteri. Senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengacaukan permeabilitas membran sitoplasma pada sel bakteri (Sakka, 2018).

e. Saponin

Saponin merupakan senyawa sterol dan glikosida triterpena yang dapat ditemukan di dalam genus tumbuhan. Kehadirannya biasa ditandai dengan munculnya busa dari hasil ekstraksi atau pemekatan ekstrak tumbuhan (Harborne, 1997). Khafidoh, *et al.* (2015) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa bagian daun dari tanaman jeruk purut yang mengandung saponin. Salah satu fungsi senyawa ini adalah sebagai agen antibakteri yang

bekerja dengan cara menghambat *DNA-polimerase* pada sel bakteri (Sakka, 2018).

f. Terpenoid

Senyawa terpenoid merupakan salah satu senyawa yang dapat ditemui di daun jeruk purut (Agouillal *et al.*, 2017). Senyawa ini berbentuk kristal dengan titik leleh tinggi, tidak berwarna, dan aktif optik (Harbone, 1997). Khasiatnya sebagai antibakteri dengan cara membentuk ikatan polimer pada porin yang ada pada membran luar dinding sel. Ikatan tersebut kuat sehingga porin menjadi rusak. Akibatnya, permeabilitas dinding sel menurun. Bakteri akan kekurangan nutrisi dan akhirnya mati (Gunawan dan Mulyani, 2004).

2.1.2. Ekstraksi dan Fraksinasi

Menurut Mukhriani (2014), ekstraksi adalah proses menyari atau memisahkan suatu bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Bahan yang dimaksud meliputi beberapa senyawa metabolit yang terkandung dalam suatu zat misalnya flavonoid, minyak atsiri, tanin, dan lain sebagainya.

Salah satu metode ekstraksi yang umum dilakukan adalah maserasi. Metode ini juga yang akan digunakan pada penelitian kali ini. Maserasi didefinisikan sebagai suatu metode ekstraksi cara dingin sederhana yang dilakukan dengan cara mencampur serbuk simplisia ke dalam cAiran pelarut yang sesuai kemudian

dimasukkan ke wadah inert kemudian ditutup rapat dalam suhu kamar (Mukhriani, 2014). Pelarut dipilih dengan mempertimbangkan kelarutan dan polaritas senyawa yang akan disari dari bahannya (Istiqomah, 2013).

Proses awal maserasi diawali dengan merendam simplisia selama beberapa hari disertai dengan pengadukan beberapa kali tiap 24 jam. Semakin lama simplisia didiamkan maka semakin lama pula kontak antara simplisia tersebut dengan pelarut. Akibatnya, senyawa yang dapat disari juga semakin banyak (Salamah & Widyasari, 2015). Setelah senyawa tersari, pelarut dipisahkan dari simplisia dengan cara diuapkan. Metode ini lumayan efektif dilakukan karena pada prosesnya tidak melibatkan panas sehingga senyawa-senyawa metabolit yang bersifat termolabil dapat terhindar dari kerusakan (Mukhriani, 2014).

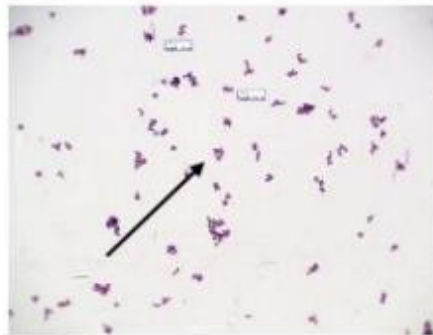
Penyarian dengan proses ekstraksi pada kenyataannya menghasilkan ekstrak yang masih mengandung terlalu banyak senyawa (Mukhriani, 2014). Oleh karena itu, untuk mendapatkan senyawa yang lebih sederhana biasanya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi itu sendiri adalah teknik pemisahan lanjutan yang dilakukan dengan cara memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Salah satu metode fraksinasi yang umum dilakukan adalah metode partisi yaitu suatu cara untuk memisahkan senyawa yang memanfaatkan corong pisah sebagai alat fraksinasinya.

Metode ini melibatkan dua atau lebih pelarut yang tidak tercampur (kepolarannya berbeda). Senyawa akan tertarik ke masing-masing pelarut berdasarkan kepolarannya pula (Hawkins & Rahn, 1997).

2.1.3. Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) adalah suatu bakteri *anaerob* yang sering ditemukan di kulit dan selaput lendir manusia. Hidupnya berkoloni seperti buah anggur dan merupakan bakteri gram positif yang hasil hidrolisisnya mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan jerawat dengan munculnya infeksi ringan dan juga abses pada kulit (Indriana, 2013).

Secara ilmiah, *S. epidermidis* diklasifikasikan sebagai berikut:



Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dari mikroskop

(Sumber: Karmila, *et al.*, 2018)

Kingdom	: Bakteria
Filum	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Staphylococcacea</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>

(Soedarto, 2015)

S. epidermidis dapat memicu terjadinya infeksi ringan pada kulit karena bakteri tersebut mempunyai peran serta dalam proses fotogenesis jerawat dengan cara menghasikan *lipase*. *Lipase* tersebut kemudian dapat memecah asam lemak bebas dari lipid dan akhirnya menyebabkan peradangan jaringan (Sari, *et al.*, 2015).

2.1.4. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengacaukan metabolismenya.

Ada 4 cara kerja bakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain: menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Dwidjoseputro, 2005).

Antibakteri dalam kemampuannya mempengaruhi aktivitas bakteri didasarkan atas beberapa faktor, yaitu:

- a. Konsentrasi zat mikroba.
- b. Keasaman atau kebasaan suatu zat.
- c. Jumlah mikroorganisme.

Selain itu, dapat juga dilakukan suatu uji aktivitas antibakteri untuk melihat kemampuan dan potensi suatu antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Uji ini dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode dilusi dan difusi.

- a. Metode Dilusi

Metode ini dilakukan dengan tujuan mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) suatu zat terhadap pertumbuhan bakteri. Prinsip dasarnya adalah dengan pengenceran agar yang berisi bakteri uji dan *Nutrient Agar* (NA) dan dibuat dalam berbagai konsentrasi kemudian diinkubasi. KHM dapat diketahui jika pada konsentrasi terendah dari zat yang sedang diuji tidak ditumbuhi bakteri (Choma & Grzelak, 2011).

b. Metode Difusi

Metode ini digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri dari zat murni untuk sampel yang bersifat polar. Tahapannya meliputi menempatkan cakram kertas saring yang berisi senyawa uji di atas permukaan agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji sebelumnya. Zat uji diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Selama itu, zat akan berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan bakteri (Chroma dan Grzelak, 2011). Hasil dinyatakan positif jika terbentuk zona hambat, ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar kertas cakram (Pelczar & Chan, 1988). Kekuatan zona hambat itu sendiri dapat dikelompokkan dalam beberapa kategori, di antaranya:

Tabel 2.1 Kategori penghambatan antimikroba

Diameter (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
≤ 5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
10 – 20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

(sumber: Ambarwati, 2007)

2.1.5. Klindamisin

Dikutip dari Dewi *et al.* (2018), klindamisin merupakan salah satu pilihan antibiotik untuk kasus infeksi akibat bakteri gram positif termasuk di dalamnya bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Antibiotik ini merupakan turunan linkomisin yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri (Katzung, 2012).

Sebagai agen antibiotik, klindamisin merusak sintesis protein dengan cara mengacaukan sistemnya. Senyawa klindamisin memotong elongasi pada rantai peptida sehingga *site* A dalam ribosom terblokir. Akibatnya, terjadi kesalahan pada saat pembacaan kode genetik sehingga rantai oligosakarida tidak dapat menempel pada glikoprotein (Lamont, *et al.*, 2011).

Menurut Deglin & Vallerand (2004), klindamisin berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri gram positif termasuk di dalamnya *Streptococcus*, *Pneumoniae*, dan *Staphylococcus*. Kamala dan Purnama (2020) dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa klindamisin memiliki sensitivitas yang tinggi ketika diujikan pada bakteri *S. epidermidis*. Efek terapeutiknya dapat bersifat bakterisidal maupun bakteriostatik, tergantung pada kerentanan bakteri serta konsentrasi klindamisin yang digunakan.

2.1.6. Dimetilsulfoksida (DMSO)

Dimetilsulfoksida (DMSO) adalah suatu senyawa organosulfur yang mampu melarutkan hampir seluruh senyawa baik yang bersifat polar maupun non polar. Mekanisme pelarutan dengan senyawa ini bekerja dengan cara diencerkan dengan Air sehingga senyawa yang diinginkan akan mengendap atau memisah menjadi fase tersendiri (Assidqi, Tjahjaningsih & Sigit, 2012).

DMSO tidak bersifat bakterisidal sehingga dapat dipastikan bahwa tidak ada aktivitas antibakteri dalam senyawa ini (Assidqi, *et al.*, 2012).

2.1.7. Media

Media didefinisikan sebagai suatu bahan yang berisi campuran nutrisi dan ditujukan untuk tempat menumbuhkan mikroorganisme baik dalam proses kultur bakteri, jamur, maupun mikroorganisme lainya (Benson, 2002). Nutrisi yang dimaksud adalah nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk tumbuh. Isinya meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe, vitamin, Air, dan energi. Media pertumbuhan dapat berupa media cair, media kental (padat), media yang diperkaya, media yang kering dan media yang sintetis (Dwidjoseputro, 2005).

Dalam penelitian kali ini, digunakan 2 macam media untuk perkembangana bakteri uji, antara lain:

a. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) adalah salah satu media yang dapat digunakan untuk mengamati sensitivitas antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri. Media ini bekerja dengan cara melihat sifat hemolisis yang dimiliki suatu senyawa (Yusmaniar, *et al.*, 2017). Menurut Atmojo (2016), MHA merupakan media terbaik untuk melakukan suatu uji

sensitivitas antibakteri terhadap bakteri *nonfastidious* yang sifatnya *anaerob* maupun *aerob* fakultatif. Media ini juga bukan merupakan media yang selektif dan diferensial sehingga hampir semua bakteri dapat tumbuh di dalamnya.

b. Media NA (*Nutrient Agar*)

Media NA adalah media yang tersusun dari campuran bahan alami (ekstrak daging) dengan senyawa kimia (*pepton*). Media ini mengandung berbagai sumber makanan seperti nitrogen, protein, serta vitamin yang terkandung sehingga bakteri dapat berkembang biak dengan baik di dalamnya (Fatmariza dan Inayati, 2017). Menurut Radji (2010), NA merupakan media yang umum dipakai di laboratorium sebagai salah satu media untuk melakukan kultur bakteri dan isolasi biakan murni termasuk di dalamnya bakteri *nanfastidious* seperti *Staphylococcus* sp.

2.2. Landasan Teori

Sejak zaman dahulu, daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) telah digunakan sebagai salah satu bahan obat tradisional sebagai pencegah bau mulut serta menyembuhkan sakit gigi akibat bakteri. Setelah diteliti, hal ini dapat terjadi karena di dalam daun jeruk purut terkandung banyak senyawa antibakteri seperti flavonoid, tanin, minyak aktisiri, dan

polifenol yang memang memiliki khasiat antiseptik juga antioksidan (Munawaroh & Astuti, 2010).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Cinthya dan Silalahi (2020), ekstrak etanol 96% daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap kultur *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri terbesar ada pada konsentrasi 20% dengan daya hambat sebesar 8,3 mm. Pada konsentrasi 5% menghasilkan daya hambat sebesar 6,7 mm, konsentrasi 10% sebesar 6,8 mm, dan konsentrasi 15% sebesar 7,3 mm.

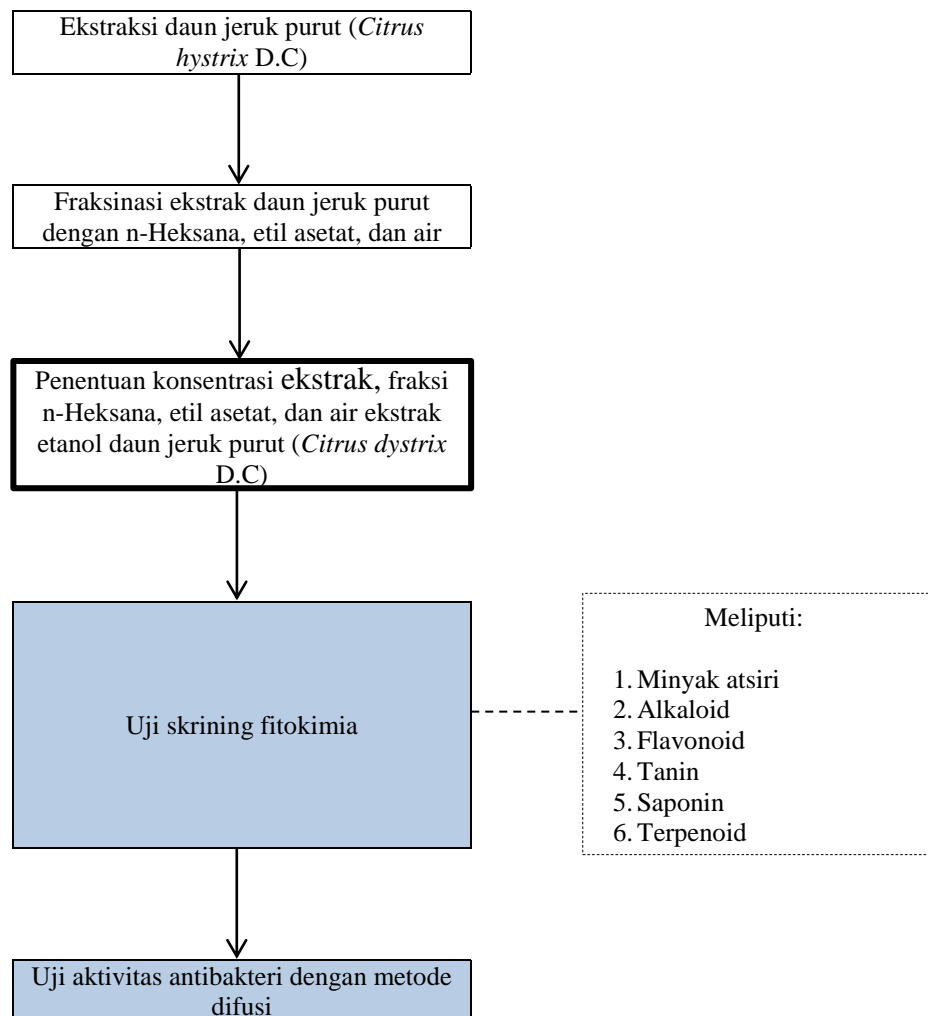
Dhavesia (2017) dalam penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak metanol daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan luas zona hambat 0,605 cm²; 1,132 cm²; dan 1,934 cm² pada konsentrasi 12,5%; 25%; dan 50% untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* juga zona hambat sebesar 0,518 cm²; 0,837 cm²; dan 1,215 cm² pada konsentrasi 12,5%; 20%; dan 50% untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Jika diambil nilai rata-rata, luas zona hambat ekstrak daun jeruk purut terhadap bakteri *S. epidermidis* sebesar 1,415 cm² sedangkan untuk *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 1,663 cm². Oleh karena itu, ekstrak metanol daun jeruk purut dinyatakan memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori kuat.

Anggraheni (2021) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut memiliki potensi antibakteri. Aktivitas yang paling besar terdapat pada konsentrasi 50% dengan daya hambat

sebesar 31,33 mm sedangkan pada konsntrasi 30% diperoleh daya hambat sebesar 22,66 mm dan 13,66 mm pada konsentrasi 10%.

Informasi-informasi yang telah dipaparkan di atas dapat digunakan untuk mendukung penelitian kali ini yaitu uji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi n-Heksana, Etil asetat, dan Air ekstrak etanol daun jeruk purut terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

2.3. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.3 Kerangka konsep

Keterangan:

- : Variabel bebas
 : Variabel terikat

2.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

H_0 : Ekstrak etanol, fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air ekstrak

etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) yang diperoleh dari metode partisi tidak memiliki aktivitas aktibakteri.

H₁ : Ekstrak etanol, fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) yang diperoleh dari metode partisi memiliki aktivitas aktibakteri.