

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Morfologi Tanaman



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

(Sumber : Munawaroh, 2010)

Jeruk adalah salah satu tanaman yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena mengandung vitamin C dan digunakan sebagai bumbu masakan. Ada senyawa bioaktif seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan steroid dalam daun jeruk (Hebert A. Yotopranoto, 2014)

Kingdom : Plantea
Sub Kingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida

Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Family	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus hystrix</i> D.C (Miftahendarwati 2014)

Jeruk purut memiliki daun majemuk menyirip yang melahirkan satu daun dan tangkai daun sebagian melebar menyerupai selebaran. Lembaran selebaran berbentuk lonjong hingga lonjong, pangkal membulat atau tumpul, tumpul sampai ujung meruncing, tepi bercincin, panjang 8-15 cm, Lebar 2 – 6 cm, kedua permukaan halus dengan bintik-bintik kecil berwarna jelas, permukaan atas berwarna hijau tua sedikit mengkilap, permukaan bawah hijau muda atau hijau, buram, dan ketika diperas baunya harum. Bunganya berbentuk bintang dan berwarna putih kemerahan atau putih kekuningan. Bentuk buahnya lonjong, kulitnya hijau keriput, kental, dan rasanya agak asam pahit (Soepomo, 2012).

2.1.2 Kandungan Kimia

Daun jeruk purut mempunyai senyawa bioaktif seperti flavonoid, steroid, kumarin, fenolat, tanin, saponin, terpen, dan minyak atsiri. Sedangkan kulit jeruk purut mempunyai senyawa flavonoid dan steroid, serta senyawa kumarin (Setiawan, 2000).

a. Flavonoid

Flavonoid ditemukan pada tumbuhan dan dapat ditemukan pada semua tumbuhan berpembuluh. Flavonoid memiliki berat molekul rendah dan pada dasarnya adalah fenilbenzopiron (fenilkromon) dengan struktur dasarnya berupa dua cincin utama yang saling menempel, yaitu dua cincin benzena (A dan B) yang dihubungkan oleh cincin heterosiklik pyran atau pyron (dengan ikatan rangkap) yang disebut cincin "C" (Middleton, J.R. dkk, 2000)

b. Steroid

Steroid adalah senyawa kompleks yang terdiri dari 4 cincin yang bergabung bersama dan larut dalam lemak. Sterol adalah senyawa steroid yang paling umum ditemukan pada tanaman yang meliputi: kelompok steroid alkohol (Bhat, 2009)

c. Triterpenoid

Triterpenoid memiliki rangka karbon yang terdiri dari 6 unit isoprena dan secara biosintetik berasal dari hidrokarbon asiklik C₃₀, yaitu squalene. Triterpenoid adalah senyawa yang memiliki sifat titik

leleh tinggi, tidak berwarna, kristal, dan optik aktif (Harborne, 1987).

d. Saponin

Saponin adalah senyawa sterol dan glikosida triterpen dapat ditemukan di lebih dari 90 genera tanaman. Glikosida adalah senyawa kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan non-gula (aglikon). Kebanyakan saponin memiliki hingga 5 unit gula dengan Komponen utamanya adalah asam glukuronat. Pembentukan busa dari hasil ekstraksi atau konsentrasi ekstrak tumbuhan menunjukkan adanya saponin di pabrik (Harborne, 1987).

e. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang umumnya bersifat bentuk gabungan yang terdiri dari satu atau lebih atom nitrogen, seperti: bagian dari sistem siklik. Alkaloid bersifat optik aktif, tidak berwarna, dan kristal tetapi ada juga cairan pada suhu kamar (37°C) seperti nikotin (Harborne, 1987)

f. Tanin

Tanin bermanfaat sebagai astringent, antidiare, antibakteri, dan antioksidan. Tanin merupakan senyawa kompleks yang terdiri dari senyawa fenolik yang sulit untuk dipisahkan dan sulit untuk mengkristal, dan endapan protein dari larutan dan bergabung dengan protein (Malanggi, 2012).

2.1.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan kecuali dinyatakan lain merupakan bahan yang telah dikeringkan (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Berdasarkan “Materia Medika Indonesia” simplisia dibagi menjadi tiga, yaitu: simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang keluar secara spontan dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa tumbuhan lain yang dipisahkan dengan cara tertentu dari tumbuhan dan belum berupa senyawa kimia murni (Departemen Kesehatan RI, 1995).

Simplisia sebagai produk pertanian atau kumpulan tumbuhan liar (*wild crop*) memiliki kandungan kimia yang tidak dijamin konstan karena variabel benih, tempat tumbuh, iklim, kondisi (umur dan cara) panen, pasca panen, dan persiapan akhir. Variasi senyawa dalam hasil tanaman obat disebabkan oleh beberapa aspek sebagai berikut: (Departemen Kesehatan RI, 2000)

- a. Genetik (bibit)
- b. Lingkungan (tempat tumbuh, iklim)
- c. Rekayasa agronomi (fertilizer, perlakuan selama masa tumbuh)

d. Panen (waktu dan pasca panen)

Besarnya variasi senyawa tersebut meliputi baik jenis maupun kadarnya, sehingga timbul jenis (spesies) lain yang disebut kultivar. Proses pemanenan dan penyiapan simplisia merupakan proses yang dapat menentukan kualitas simplisia ditinjau dari komposisi kandungan senyawa, cemaran dan stabilitas bahan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Karakterisasi simplisia berarti simplisia yang akan digunakan sebagai bahan baku obat harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi yang diterbitkan oleh Kementerian Kesehatan. Sedangkan sebagai produk yang langsung dikonsumsi (bubuk jamu) tetap harus memenuhi persyaratan produk farmasi sesuai dengan ketentuan yang berlaku (Departemen Kesehatan RI, 2000). Karakterisasi simplisia meliputi uji makroskopis, uji mikroskopis dan identifikasi simplisia (Departemen Kesehatan RI, 1995).

2.1.4 Penyarian

a. Ekstraksi

Ekstraksi tumbuhan obat adalah pemisahan kimia atau fisika suatu bahan padat atau cair dari suatu padatan yaitu tumbuhan obat (Depkes RI, 2000). Metode ekstraksi menggunakan pelarut dibagi menjadi dua cara, yaitu: metode dingin dan metode panas. Cara dingin dibagi menjadi dua yaitu: maserasi dan perkolasi,

sedangkan metode panas dibagi menjadi lima jenis, yaitu: refluks, soxhlet, pencernaan, infus dan rebusan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

b. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar (Departemen Kesehatan RI, 2000). Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang berarti air dan melunakkan. Maserasi adalah metode ekstraksi yang paling sederhana. Dasar maserasi adalah pelarutan bahan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk selama pemurnian, ekstraksi (difusi) bahan dari sel utuh. Setelah waktu maserasi selesai, artinya telah tercapai keseimbangan antara bahan yang terekstraksi di dalam sel dan yang masuk ke dalam cairan, maka proses difusi segera berakhir (Voight, 1994)

Selama proses maserasi atau perendaman, pengocokan berulang dilakukan, upaya pengocokan ini dapat memastikan keseimbangan yang lebih cepat dari konsentrasi bahan ekstraksi dalam cairan. Sedangkan keadaan stasioner selama maserasi menyebabkan penurunan transfer bahan aktif. Secara teoritis, maserasi tidak memungkinkan ekstraksi mutlak. Semakin besar rasio simplisia terhadap cairan ekstraksi, semakin banyak hasil yang akan diperoleh (Voight, 1994).

Teknologi maserasi termasuk metode ekstraksi prinsip untuk mencapai konsentrasi pada kesetimbangan. Maserasi kinetik berarti pengadukan terus menerus (terus menerus). Maserasi berarti penambahan pelarut secara berulang setelah penyaringan maserasi pertama, dan seterusnya (Departemen Kesehatan RI, 2000).

c. Fraksinasi

Proses pemisahan selanjutnya masih menggunakan prinsip ekstraksi yang dikenal dengan ekstraksi cair-cair atau biasa disebut dengan fraksinasi. Fraksinasi adalah metode pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutannya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, biasanya air dan pelarut organik (Harborne, 1989).

Teknik pemisahan ekstraksi cair-cair ini biasanya dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Dua pelarut yang tidak dapat bercampur dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian dikocok dan didiamkan. Zat terlarut atau senyawa organik akan didistribusikan ke dalam fase masing-masing tergantung pada kelarutannya dalam fase itu dan kemudian akan terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan atas dan lapisan bawah yang dapat dipisahkan dengan membuka kunci pipa corong pemisah (Odugbemi, 2008).

Ekstrak dipartisi menggunakan pelarut yang semakin polaritasnya seperti *petroleum eter*, *n-heksan*, *kloroform*, *dietil eter*,

etil asetat dan etanol. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi umumnya tergantung pada sifat analit dimana pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama. Misalnya, analit dengan lipofilisitas tinggi akan diekstraksi dalam pelarut yang relatif nonpolar seperti *n-heksana* sedangkan analit semipolar akan larut dalam pelarut semipolar seperti etil asetat atau diklorometana (Venn, 2008).

Pemilihan pelarut dalam ekstraksi umumnya tergantung pada sifat analit dimana pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama, misalnya analit dengan lipofilisitas tinggi akan terekstraksi dalam pelarut yang relatif nonpolar seperti *n-heksan* sedangkan analit semipolar dilarutkan dalam pelarut semipolar seperti *etil asetat* atau *diklorometana* (Venn, 2008).

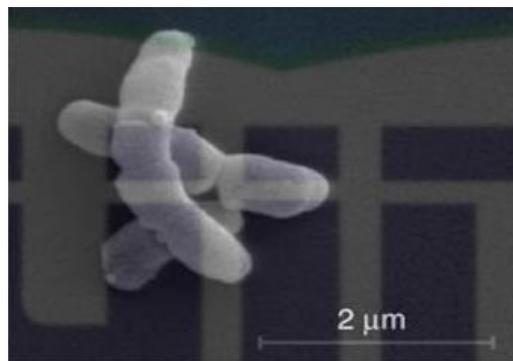
Aglikon umumnya diekstraksi dalam non-polar seperti terpenoid dan steroid sedangkan flavonoid, glikosida, saponin dan gula ester ditemukan dalam fraksi yang lebih polar dan berair. Petroleum eter dan *n-heksan* juga dapat digunakan untuk menghilangkan lipid, lilin dan senyawa lemak (Harborne 1989).

Pelarut yang dapat digunakan untuk ekstraksi ini cukup banyak, namun ternyata banyak juga pelarut yang tidak memenuhi syarat. Pertama, pelarut harus tidak dapat bercampur dengan air, memiliki titik didih yang rendah (jika digunakan untuk penguapan) dan lebih disukai memiliki densitas yang lebih rendah daripada

tanpa air (untuk membentuk lapisan atas agar lebih mudah dipisahkan). Kedua, pelarut harus aman dan tidak merusak lingkungan jika digunakan seperti *n*-heksan, metil tersier butil eter (MTBE) dan etil asetat (Venn, 2008)

2.1.5 Bakteri

Propionibacterium acnes atau *P. acnes* adalah salah satu flora normal pada kulit manusia, serta di rongga mulut, usus besar, konjungtiva dan bagian luar telinga. Bakteri ini mendominasi di area folikel *sebaceous* pada kulit dan dapat menyebabkan jerawat ketika menginfeksi kulit (Mollerup dkk, 2016)



Gambar 2.2 Bakteri *Propionibacterium acnes*
(Sumber : Bruggeman, 2010)

Kingdom : Bacteria

Phylum : *Actinobacteria*

Class : *Actinobacteridae*

Order : *Actinomycetales*

Family : *Propionibacteriaceae*

Genus : *Propionibacterium*

Spesies : *Propionibacterium acnes* (Bruggeman, 2010)

a. Morfologi Bakteri

P. acnes merupakan bakteri gram positif yang berbentuk sel batang, panjang bervariasi antara 1-1,5 μ m, nonmotil, tidak membentuk spora dan dapat tumbuh di udara dan membutuhkan oksigen mulai dari aerobik atau anaerob fakultatif menjadi anaerobik. Bakteri ini mampu memfermentasi glukosa sehingga menghasilkan sejumlah besar asam propionat dan asetat (Narulita, 2017).

b. Habitat

P. acnes merupakan flora normal yang terdapat di beberapa bagian tubuh laki-laki. Bakteri ini ada sejak bayi dalam jumlah kecil dan meningkat berkali-kali selama masa pubertas terkait dengan peningkatan produksi sebum di folikel *sebaceous*. Kulit merupakan habitat utama *P. acnes*, tetapi juga dapat ditemukan di rongga mulut, usus besar, konjungtiva dan saluran telinga luar (Mollerup, 2016)

c. Patogenesis

Patogenesis pembentukan jerawat meliputi empat faktor, yaitu: hiperproliferasi epidermis folikel yang mengakibatkan penyumbatan folikel, produksi sebum yang berlebihan, peradangan, dan aktivitas bakteri. Bakteri yang dapat *P. acnes* adalah penyebab jerawat yang paling umum, diikuti oleh *Staphylococcus epidermidis* kemudian *Staphylococcus aureus* (Pommerville, 2012)

Jerawat terjadi karena terpicunya hormon androgen saat memasuki masa pubertas, yaitu kelenjar adrenal secara aktif memproduksi *dehydroepiandrosterone sulfate*, prekursor testosteron. Pasien dengan akne vulgaris memiliki kadar androgen serum dan kadar androgen serum sebum tinggi. Hormon ini akan menyebabkan peningkatan ukuran kelenjar *sebaceous* dan merangsang produksi sebum. Epitel folikel rambut bagian atas, berubah menjadi hiperkeratosis, mengakibatkan penyumbatan pembukaan folikel rambut. Di dalam folikel rambut ada bakteri dan folikel akan membesar dan pecah (Damayanti, 2014)

Peran *P. acnes* dalam pembentukan jerawat adalah untuk memecah trigliserida, yang merupakan komponen sebum, yang diubah menjadi asam lemak bebas sehingga terjadi kolonisasi *P. acnes* yang memicu peradangan. Selain itu, antibodi terhadap

antigen dinding sel *P. acnes* meningkatkan respon inflamasi melalui aktivasi komplemen. Enzim *5-alpha reductase*, enzim yang mengubah testosteron menjadi dihidrotestosteron (DHT), memiliki aktivitas tinggi pada kulit yang rawan jerawat (Movita, 2013).

2.1.6 Uji Antibakteri

Penentuan sensitivitas bakteri patogen terhadap agen antibakteri tertentu dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode utama, yaitu metode dilusi dan metode difusi.

a. Metode Dilusi

Metode ini digunakan untuk mengukur tingkat penghambatan minimum (MIC) dan tingkat pembunuhan minimum (KBM). Metode yang digunakan adalah dengan membuat rangkaian pengenceran agen antimikroba pada media yang telah ditambahkan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada tingkat terkecil yang terlihat jernih tanpa pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM kemudian dikultur kembali pada media tanpa penambahan mikroba uji atau agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tetap bening setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008)

b. Metode Difusi Agar

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Sejumlah obat ditempatkan pada permukaan media padat yang sebelumnya, bakteri uji diinokulasikan pada permukaan kemudian diinkubasi. Diameter zona resistensi di sekitar cadangan digunakan untuk mengukur resistensi obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, seperti sifat medium, kemampuan difusi, ukuran molekul dan stabilitas obat (Brooks, 2001)

Antimikroba dibagi menjadi lima kelompok berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu:

a. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri

Pada mekanisme ini diperoleh efek bakteriostatik. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah sulfonamid, trimetoprim, asam paminosalisilat, dan sulfon. Kerja antibakteri ini adalah menghambat pembentukan asam folat, bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya dan bakteri memperoleh asam folat dengan mensintesis sendiri dari asam para amino benzoat (PABA). Sulfonamid dan sulfon bekerja bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat. Sedang trimetoprim bekerja dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase (Setiabudy dan Gan, 1995).

b. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan, sintesis peptidoglikan akan dihambat dengan adanya antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, bacitracin, vancomycin, dan cycloserine. Sikloserin akan menghambat reaksi paling awal dalam proses sintesis dinding sel, sementara yang lain akan menghambatnya pada akhir sintesis peptidoglikan, mengakibatkan dinding sel tidak sempurna dan tidak mempertahankan pertumbuhan sel normal, sehingga tekanan osmotik di dalam sel bakteri lebih tinggi daripada tekanan di luar sel, kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan lisis, yang merupakan dasar bakterisidanya (Gan, 1995).

c. Antibakteri yang mengganggu membran sel bakteri

Sitoplasma dibatasi oleh membran sitoplasma yang merupakan penghalang dengan permeabilitas selektif. Membran sitoplasma akan mempertahankan bahan tertentu di dalam sel dan mengatur aliran keluar masuk bahan lain. Jika terjadi kerusakan pada membran ini maka akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel (Pelczar dan Chan, 1988).

d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri

Kehidupan sel bakteri tergantung pada pemeliharaan molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alami mereka. Jika kondisi atau zat yang dapat menyebabkan denaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel secara permanen. Temperatur yang tinggi

dan konsentrasi beberapa bahan kimia yang terkonsentrasi dapat menyebabkan koagulasi (denaturasi) yang *ireversibel* dari komponen seluler vital ini (Pelczar dan Chan, 1988).

- e. Antibakteri yang menghambat sintesis atau menghancurkan asam nukleat sel bakteri

Protein, DNA, dan RNA memainkan peran penting dalam proses kehidupan normal sel bakteri. Jika terjadi gangguan pada pembentukan atau fungsi zat tersebut maka dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1988).

2.2 Landasan Teori

Daun jeruk purut (*Citrus Hystrix DC*) mengandung senyawa kimia yang bermanfaat antara lain flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang berfungsi sebagai antibakteri. Flavonoid sebagai antibakteri dengan menghambat fungsi membran sitoplasma. Tanaman yang mengandung alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Saponin berperan sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak permeabilitas dinding sel bakteri. Tanin memiliki fungsi untuk mengendapkan protein sehingga mempengaruhi peptidoglikan bakteri (Astriani *et al*, 2021).

Menurut penelitian yang dilakukan Kusmuwati (2012) diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut pada sediaan emulgel maka semakin rendah pH dan viskositas $F_0 > F_1 > F_2 > F_3 > F_4$, sedangkan daya dispersi semakin meningkat $F_0 < F_1 < F_2 < F_3 < F_4$, serta

meningkatkan juga aktivitasnya sebagai anti *acne* terhadap *P.acne*, konsentrasi terbesar dihasilkan oleh emulgel dengan konsentrasi 8 %. Emulgel 1 %, 2 %, 4 % dan 8 % memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif (minyak atsiri daun jeruk purut).

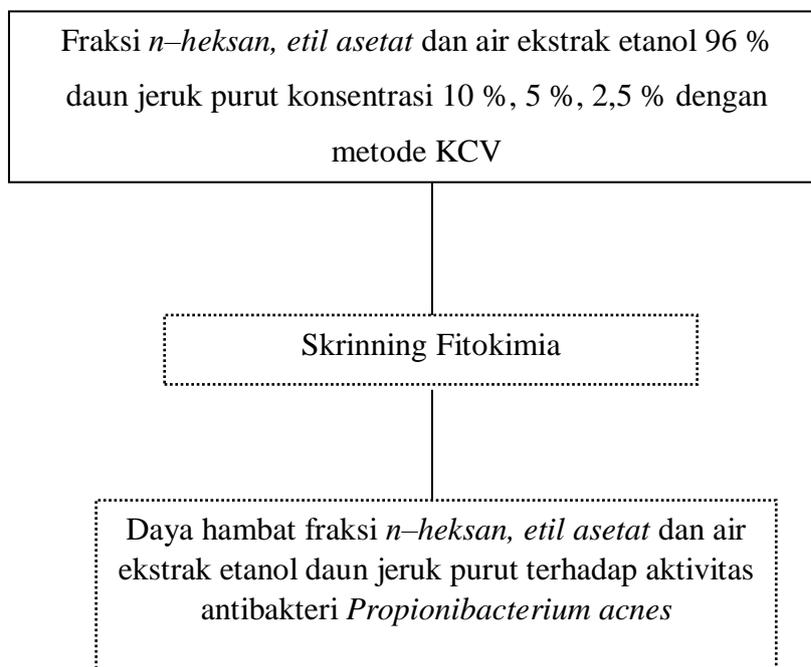
Hasil pengujian Kusmuwati (2012) diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut pada sediaan emulgel maka semakin rendah pH dan viskositas $F_0 > F_1 > F_2 > F_3 > F_4$, sedangkan daya dispersi semakin meningkat $F_0 < F_1 < F_2 < F_3 < F_4$, serta meningkatkan juga aktivitasnya sebagai anti *acne* terhadap *P.acne*, konsentrasi terbesar dihasilkan oleh emulgel dengan konsentrasi 8 %. Emulgel 1 %, 2 %, 4 % dan 8 % memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif (minyak atsiri daun jeruk purut).

Menurut penelitian Chandra (2021) aktivitas antibakteri diuji terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* menggunakan metode difusi sumur. Ekstrak kental dengan berbagai konsentrasi: 10 %, 20 % dan 30%. Ekstrak etanol daun jeruk purut dengan konsentrasi 30 % memiliki aktivitas antibakteri lemah terhadap *Staphylococcus aureus* (8,3 mm) dan sedang terhadap *Propionibacterium acnes* (12 mm).

Uji aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan metode sumuran dengan 6 konsentrasi ekstrak metanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) 25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL, 300 mg/mL dan 400 mg/mL, klindamisin 0,1 % kontrol positif dan

0,5% Na-CMC kontrol negatif. Hasil penapisan fitokimia ekstrak metanol positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa zona hambat ekstrak metanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) adalah 25 mg/mL, dan 50 mg/mL masing-masing 8,35 dan 9,4 mm (kategori sedang), konsentrasi 100 mg/mL, dan 200 mg/mL adalah 11,77, dan 19,45 mm (kategori kuat), dan konsentrasi 300 mg/mL, dan 400 mg/mL adalah 21,05, dan 22,87 mm (kategori sangat kuat) (Fitriani, 2020).

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep

Keterangan :

————— : Variabel Bebas

..... : Variabel Terikat

2.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus Hystrix DC*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*