

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

**Oleh:
AYU ANGGRAINI
NIM. 200602110058**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

**Oleh:
AYU ANGGRAINI
NIM. 200602110058**

**diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
AYU ANGGRAINI
NIM. 200602110058

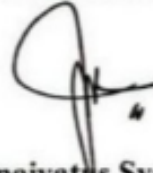
telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal: 23 Agustus 2021

Pembimbing I



Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2002

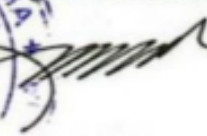
Pembimbing II



Dr. Umaivatus Svarifah, MA
NIP. 19820925 200901 2 005



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

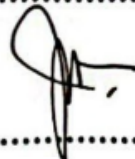

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
AYU ANGGRAINI
NIM. 200602110058

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si.)
Tanggal: 23 Agustus 2019

Ketua Penguji	:	Ir. Liliek Harianie, MP NIP. 196209011998032001	()
Anggota Penguji I	:	Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc NIP. 1990042820160801 2062	()
Anggota Penguji II	:	Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509 199903 2 002	()
Anggota Penguji III	:	Dr. Umayyatus Syarifah, MA NIP. 19820925 200901 2 005	()

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmat-Nya dan hidayah-Nya serta memberikan kemudahan, akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan. Tak lupa juga shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan untuk Baginda Nabi Muhammad SAW. junjungan seluruh umat muslim. Skripsi ini dengan bangga penulis persembahkan untuk orang-orang yang telah berkontribusi serta mendukung penulis selama ini, khususnya:

1. ***Ayahanda tercinta***, Bapak Satrai Asnab, yang menjadi sosok role mode bagi penulis dalam menghadapi segala macam ujian hidup. Beliau memang sosok yang cukup keras, namun beliau tak pernah meninggalkan anak-anaknya dan keluarga serta selalu memberikan motivasi untuk menjadi kuat. Walaupun beliau tidak pernah merasakan bangku perkuliahan, tetapi beliau selalu berjuang agar anak-anaknya mendapatkan pendidikan setinggi mungkin.
2. ***Bundadari tercinta***, Ibu Marniah, sosok ibunda yang selalu mengerti keadaan putri bungsunya, yang selalu mendukung dan mendoakan apapun demi kebahagiaan putrinya. Terima kasih karena telah menjadi ibu yang terbaik untuk penulis, semoga penulis bisa membanggakan beliau dunia dan akhirat.
3. ***Kakak cantikku***, Putri Andriani, S. Sos, terima kasih telah lahir di dunia dan menjadi kakak terbaik yang pernah penulis miliki. Terima kasih selama ini telah menjadi kebanggaan keluarga, menjadi sosok yang kuat dan menguatkan yang lain. Terima kasih selalu mengusahakan apapun yang adikmu inginkan, selalu mensupport penulis dalam penulisan skripsi ini.
4. ***Saudara tercinta***, M. Agus Mawardi dan istri, Ahmad Hambali dan Istri, dan Cindy Febrianti, terima kasih atas semua doa dan dukungan materi yang diberikan. Terima kasih karena selalu excited menunggu kepulangan penulis.
5. ***Teman-teman***, terima kasih karena sudah menjadi teman-teman yang baik. Selalu menyemangati dan bertukar cerita. Semoga kita bisa sukses dan menjadi kebanggaan keluarga.
6. ***Jeong Jinman***, laki-laki Palembang yang tak bisa penulis sebutkan namanya. Terima kasih untuk semuanya, dengan adanya kamu dalam hidupku Malang

menjadi kota terindah sekaligus patah hati terberat yang kulalui. Skripsi ini adalah bukti hasil dari terpuruknya aku tanpamu, terima kasih sudah mengenalkan banyak pengalaman indah beserta lukanya. Untukmu cinta sekaligus patah hati pertamaku dimanapun kamu berada, selalu kulangitkan doa agar kamu menemukan bahagiamu.

7. ***Diri sendiri***, Ayu Anggraini, terima kasih sudah menjadi kuat sampai akhir, melewati semua ujian dalam kepenulisan skripsi ini, selalu berusaha tanpa lelah, yang walaupun ada masa-masa terpuruk, tapi selalu ingat bahwa kau punya Allah, keluarga, serta dirimu sendiri yang tak akan meninggalkan.

MOTTO

**“Apapun yang menjadi takdirmu, akan menemukan jalannya
untuk menemukanmu”**

-Ali Bin Abi Thalib-

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayu Anggraini
NIM : 200602110058
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis
(*Citrus aurantifolia*) terhadap Bakteri *Escherichia coli*
dan *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 Juni 2024
Yang membuat pernyataan,



Ayu Anggraini

NIM. 200602110058

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)
terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*
secara *In Vitro***

Ayu Anggraini, Ulfah Utami, Umaiyatus Syarifah

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah tanaman yang umum digunakan untuk obat dan pelengkap masakan. Alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, dan saponin merupakan senyawa kimia yang memiliki sifat antimikroba. Jeruk nipis (*C. aurantifolia*) telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram Positif dan Gram Negatif dengan baik. Beberapa penelitian membuktikan bahwa jeruk nipis mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan lain sebagainya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan parameter zona hambat, konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) menggunakan metode difusi sumuran dan dilusi. Zat uji berupa air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), kontrol positif Streptomycin 0,5% (untuk bakteri spektrum luas). Zat uji kemudian diujikan pada dua bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% untuk parameter zona hambat dan KHM dan KBM. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara kuantitatif dan kualitatif. Hasil uji difusi sumuran didapatkan zona hambat sebesar 8,11-15,54 mm (kuat) terhadap *E. coli* dan 4,79-18,89 mm (kuat) terhadap *S. aureus*. Nilai KHM yang diperoleh pada *E. coli* dan *S. aureus* ialah 75% dan 50%. Nilai KBM yang diperoleh pada *E. coli* dan *S. aureus* ialah 100% dan 75%.

Kata Kunci: *antibakteri, jeruk nipis, zona hambat*

In Vitro Antibacterial Activity Test of Lime Juice (*Citrus aurantifolia*) Against Bacterial Growth *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Ayu Anggraini, Ulfah Utami, Umaiyatus Syarifah

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik
Ibrahim State Islamic University Malang

ABSTRACT

Lime (*Citrus aurantifolia*) is one of the herbal plants that is often used as a cooking ingredient and also as medicine. Lime is used as an appetite enhancer, antipyretic and antibacterial. Lime is used as a herbal medicine because it contains chemical compounds that are antimicrobial, namely alkaloids, flavonoids, tannins, phenols and saponins. Lime (*Citrus aurantifolia*) has been widely researched and proven to be successful in inhibiting the growth of Gram Positive and Gram negative bacteria well. Several studies have proven that lime contains active compounds that can inhibit bacterial growth *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* and so forth. This research is an experimental study using inhibitory zone parameters, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum kill concentration (MKC) using well diffusion and dilution methods. The test substance is lime juice (*Citrus aurantifolia*), positive control Streptomycin 0.5% (for broad spectrum bacteria). The test substance is then tested on two test bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% for inhibition zone parameters and MIC and MKC. The data obtained was then analyzed quantitatively and qualitatively. The results of the well diffusion test showed that the inhibition zone was 8.11-15.54 mm (strong) against *E. coli* and 4.79-18.89 mm (strong) against *S. aureus*. The MIC value obtained in *E. coli* and *S. aureus* is 75% and 50%. MKC value obtained on *E. coli* and *S. aureus* are 100% and 75%.

Keywords: *antibacterial, lime, inhibition zone*

اختبار نشاط بكتيريا المضاد لعصير الليمون الحامض على نمو بكتيريا الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية في المختبر

أبو أنغري، ألفة أتا، أمية الشريفة

ب شعبة دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

ملخص

الليمون نبات عشبي يكثر استخدامه مادة للطبخة والدواء. الليمون نافع لرفع الشهية للأكل وخفض الحرارة ومضادة للبكتيريا. تم استخدام الليمون للطبخ العشبي لأنه يحتوي على مركبات كيميائية مضادة للميكروبات مثل القليودات والفلافونويدات والعفص والفينول والصابونين. تمت دراسة الليمون على نطاق واسع وثبت طبيًا أنه ناجح في تثبيط نمو البكتيريا الإيجابية الجرام والسلبية الجرام بشكل جيد. لقد ثبت من دراسات عديدة أن الليمون يحتوي على المركبات النشطة القادرة على تثبيط نمو البكتيريا المعوية البرازية والإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الطافرة والمكورات العنقودية الذهبية وغير ذلك. هذا البحث عبارة عن بحث تجريبي باستخدام معلمات المنطقة المثبطة، والحد الأدنى للتركيز المثبط والحد الأدنى للتركيز القاتل باستخدام طريقة الانتشار والتخفيف في البئر. المادة المختبر بها هو عصير الليمون بدرجة السيطرة الإيجابية الستربتوميسين ٠,٥ ٪ (للبكتيريا واسع النطاق). وتم بعد ذلك اختبار المادة على العينتين من البكتيريا هما الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية باستخدام درجات التركيز ٢٥ ٪، ٥٠ ٪، ٧٥ ٪ و ١٠٠ ٪ لمعلمة منطقة التثبيط والتركيز المثبط للحد الأدنى والتركيز القاتل للحد الأدنى. وتم تحليل البيانات المحصول عليها سلفا كيميا وكيفيا. أظهرت النتائج من اختبار الانتشار البشري أن منطقة التثبيط كانت ٨،١١-١٥،٥٤ ميليمتر (وهي قوية) ضد الإشريكية القولونية و ٤،٧٩-١٨،٨٩ ميليمتر (قوية) ضد المكورات العنقودية الذهبية. كانت قيمة الحد الأدنى للتركيز المثبط في الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية هي ٧٥ ٪ و ٥٠ ٪. وقيمة الحد الأدنى للتركيز القاتل في الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية ١٠٠ ٪ و ٧٥ ٪.

الكلمة المفتاحية: مضاد الجراثيم، الليمون، منطقة التثبيط

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*”. Tidak lupa shalawat serta salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah mengenalkan agama Islam yang bisa terus diikuti oleh umat muslim hingga saat ini. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada seluruh pihak yang berkontribusi dalam terselesaikannya skripsi ini, terkhusus kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si selaku dosen pembimbing biologi sekaligus dosen wali yang telah meluangkan banyak waktu untuk membimbing, memberikan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dr. Umaiyatus Syarifah, MA, selaku dosen pembimbing agama yang telah meluangkan waktu dalam membimbing penulis terkait integrasi dan kepenulisan skripsi ini.
6. Ir. Liliek Harianie, MP dan Ibu Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji serta memberikan saran serta masukan untuk perbaikan skripsi ini.
7. Keluarga penulis, yaitu Bapak Satrai Asnab dan Ibu Marniah, saudara-saudara penulis yaitu Agus Mawardi, Ahmad Hambali, Putri Andriani, S.Sos., dan Cindy Febrianti. Terima kasih atas pengorbanan kalian semua baik materi maupun non materi dalam mendukung penulis, senantiasa mendoakan dan menyemangati penulis, hingga proses penulisan skripsi ini selesai. Terima kasih telah menjadi keluarga yang baik dan menjadi harta yang berharga bagi penulis.

8. Para Staff Laboratorium yang senantiasa mengingatkan penulis dalam proses penelitian dan kinerja dalam laboratorium.
9. Khusnul Khotimah, selaku sahabat baik penulis. Terima kasih atas semua dukungan yang diberikan, terima kasih telah sabar menghadapi penulis yang penuh drama, terima kasih telah lahir dan menjadi teman yang sangat istimewa bagi penulis.
10. Teman-teman dekat penulis, Zulfa Syauqiah, Fanila, Maulidia, dan teman-teman lain yang tidak bisa disebutkan satu persatu.
11. Ayu Anggraini pemilik NIM 200602110058 yang telah berjuang sebaik mungkin dalam menjalani semua rintangan dalam menempuh pendidikan ini. Terima kasih karena sudah selalu tetap kuat dan bertahan demi gelar S.Si ini didapatkan.

Akhir kata penulis sangat berharap adanya kritik serta saran yang membangun dan semoga dengan adanya penelitian dapat menambah kajian ilmu bagi penulis lain yang melakukan penelitian serupa.

Malang, 02 Juli 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
ملخص	xii
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Hipotesis.....	9
1.5 Manfaat Penelitian.....	9
1.6 Batasan Masalah.....	9
BAB II	11
TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Tanaman Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	11
2.2 Aktivitas Antibakteri Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	17
2.3 Mekanisme Kerja Antibakteri	20
2.4 <i>Escherichia coli</i>	21
2.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	24

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri	26
2.7 Streptomycin	28
BAB III.....	31
METODE PENELITIAN	31
3.1 Rancangan Penelitian	31
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	32
3.3 Alat dan Bahan	32
3.4 Prosedur Penelitian.....	33
3.5 Analisis Data	39
BAB IV	40
HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Aktivitas Antimikroba Air Perasan Jeruk Nipis.....	40
4.2 Aktivitas Hambat dan Bunuh Air Perasan Jeruk Nipis	52
4.3 Potensi Air Perasan Jeruk Nipis sebagai Antibakteri.....	59
4.4 Kajian Keislaman	62
BAB V.....	68
PENUTUP.....	68
5.1 Kesimpulan.....	68
5.2 Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA.....	69
LAMPIRAN.....	76

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Kriteria Zona Bening.....	27
3.1. Rancangan Perlakuan pada Diameter Zona Hambat <i>E. coli</i>	31
3.2. Rancangan Perlakuan pada Diameter Zona Hambat <i>S. aureus</i>	32
4.1. Hasil rata-rata diameter zona hambat sampel uji.....	40
4.2. Hasil uji KHM.....	53
4.3. Hasil perhitungan TPC Uji KHM dan KBM (CFU/ml).....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Buah Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	12
2.2. Bakteri <i>E. coli</i> pada Pewarnaan Gram.....	23
2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> pada Pewarnaan Gram.....	25
2.4. Struktur Molekul Streptomycin.....	29
3.1. Pengukuran Diameter Zona Bening.....	37
4.1. Diameter Zona Hambat larutan uji air perasan jeruk nipis dengan 4 variasi konsentrasi dan kontrol terhadap bakteri uji (a) <i>E. coli</i> dan (b) <i>S. aureus</i>	42
4.2. Nilai KHM air perasan jeruk nipis dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif terhadap bakteri uji (a) <i>E. coli</i> dan (b) <i>S. aureus</i>	52

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alam merupakan bukti kekuasaan dan keagungan Allah SWT. Berbagai ciptaan-Nya banyak terdapat di alam seperti flora, fauna, dan mineral untuk dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku manusia bertahan hidup. Sejak zaman dahulu saat manusia sudah memasuki masa berburu dan meramu manusia sudah mulai melakukan eksploitasi alam untuk mencari makanan (Manusama, 2015). Tumbuhan memiliki peranan penting sebagai ciptaan Allah untuk dapat membantu manusia dan makhluk hidup lainnya dalam hidup.

Tumbuhan merupakan bahan alam yang dapat menunjang kehidupan. Bahasan mengenai kebermanfaatan tumbuhan telah tertuang dalam Q.S as-Syuara (26): 7 Allah telah berfirman yaitu sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”* (Q.S. as-Syuara (26): 7)

Q.S as-Syuara (26): 7 ditafsirkan oleh Shihab (2012) yaitu Allah SWT menganjurkan manusia untuk memperhatikan alam sekitar dan mengambil pelajaran darinya. Mengarahkan manusia untuk memperhatikan bumi dengan seksama, bahwa terhampar dan tersebar luas di bumi berbagai jenis tumbuhan yang menjadi keajaiban bagi umat manusia. Tumbuhan yang baik, yang subur dan bermanfaat digambarkan dengan penggunaan kata *karim*.

Orang-orang yang kafir yang dimaksud tidak memperhatikan bahwa Allah menciptakan berbagai tumbuhan yang ada di bumi. Tumbuh-tumbuhan tersebut tumbuh dengan bermacam-macam variasi walaupun semuanya berada di tanah yang sama dan dialiri air yang sama, namun dapat menghasilkan tumbuhan yang berbeda bentuk, warna, rasa, serta manfaat. Hal tersebut tentunya menunjukkan kekuasaan dan kebijaksanaan Pencipta-Nya (Cahaya, 2011). Salah satu manfaat tumbuhan yang paling dirasakan adalah penggunaannya sebagai obat antimikroba untuk menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme (Anggraini *et al.*, 2019). Hal ini menjadi salah satu bukti atas kekuasaan dan anugerah Allah SWT yang tak terbatas.

Pengembangan tumbuhan sebagai obat telah menjadi perhatian sejak dahulu. Saat ini, masyarakat Indonesia cenderung beralih ke alam, atau "*Back to Nature*", untuk menjaga kesehatan tubuh. Efek samping yang ditimbulkan obat berbahan tumbuhan lebih sedikit daripada obat kimia sintetik yang beredar luas di pasaran, penggunaan obat herbal dari tumbuh-tumbuhan dianggap lebih aman. (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2019). Air perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) adalah salah satu bahan alami yang memiliki potensi sebagai antimikroba (Triyani *et al.*, 2021).

Tanaman herbal kaya manfaat yang bisa digunakan untuk pelengkap masakan serta sebagai obat adalah jeruk nipis (*C. aurantifolia*). Tanaman ini biasa digunakan untuk antipiretik, penambah nafsu makan, dan antibakteri (Fajriani & Mahrum, 2015). Kemampuan sebagai antibakteri bisa didapatkan dari ekstrak kulit buah, ekstrak daun, air perasannya serta ekstrak dari daunnya. Kemampuan sebagai

antifungi dapat didapatkan dari ekstrak daunnya (Oikeh *et al.*, 2015).

Jeruk nipis mengandung senyawa aktif seperti asam sitrat, saponin, tanin, alkaloid, dan fenol yang dapat menjadi antimikroba (Pathan *et al.*, 2012). Senyawa aktif tersebut juga dapat ditemui di bagian daun, batang, akar, dan kulit buah nya. Bagian-bagian tersebut mengandung mineral, minyak atsiri dan vitamin (Astarini, 2010). Tanin, senyawa polifenol yang ditemukan pada jeruk nipis bersifat antibakteri, dimana mampu untuk mengikat, mengendapkan dan menyusutkan protein (Ashok *et al.*, 2012). Tanin tidak hanya ditemukan di jeruk nipis, tetapi juga dapat ditemukan dari tanaman jambu biji yang diekstrak daunnya. Penelitian yang telah dilakukan mendapatkan hasil bahwa ekstrak daun jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, *S. aureus*, *E. Coli*, serta *Pseudomonas aureginosa* (Mailoa, 2014).

Asam sitrat adalah kandungan yang ditemukan dalam berbagai jenis jeruk dan bersifat antimikroba. Kadar asam sitrat yang terdapat dalam jeruk nipis sebesar 55,3 g/L, dengan pH jeruk nipis yaitu 2,43. Asam sitrat pada jeruk purut sebesar 46 g/L dan 48 g/L pada jeruk lemon (Izza & Rahayu, 2020). Senyawa asam sitrat pada buah jeruk memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Mekanisme kerja asam sitrat yaitu mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara memutuskan jembatan garam dengan adanya muatan iotonik sehingga merusak dinding sel bakteri dan masuk ke dalam inti sel bakteri, mengganggu proses respirasi sel bakteri, menghambat aktivitas enzim bakteri, dan menekan terjemahan dari regulasi produk gen tertentu (Ramadhinta, et al. 2016).

Jeruk nipis (*C. aurantifolia*) telah banyak diteliti dan terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram Positif dan Gram Negatif karena memiliki kemampuan antibakteri yang baik. Salah satunya dalam penelitian Parama *et al.*, (2019) yang menggunakan konsentrasi air perasan jeruk nipis sebesar 40%; 60%; dan 80% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro dengan zona hambat yang terbentuk sebesar 14,2; 19,6; 22,6 mm. Penelitian oleh Razak *et al.*, (2013) mendapatkan hasil bahwa konsentrasi air perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) sebesar 100% lebih efektif menghambat pertumbuhan *S. aureus* dibanding dengan konsentrasi 75%; 50%; dan 25%. Dimana zona hambat yang terbentuk berdiameter sebesar 10,5 mm pada konsentrasi 100%, 7,5 mm pada konsentrasi 75%, 6,17 mm pada konsentrasi 50%, dan 5,17 mm pada konsentrasi 25%.

Penelitian antimikroba oleh Ramadhinta *et al.*, (2016) mendapatkan hasil bahwa air perasan jeruk nipis mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Enterococcus faecalis* penyebab infeksi saluran akar gigi. Parameter pada penelitian ini adalah diameter zona hambat yang terbentuk. Konsentrasi yang digunakan ialah 25%; 50%; 75%; dan 100%. Hasil diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 9,2 mm; 11,2 mm; 14,2 mm; dan 17,2 mm.

Penelitian antimikroba oleh Berlian *et al.*, (2016) mendapatkan hasil bahwa air perasan jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* pada bahan pangan. Konsentrasi air perasan jeruk nipis yang diuji ialah sebesar 25%; 50%; 75%; dan 100%. Parameter penelitian ini adalah perhitungan jumlah koloni bakteri yang terbentuk. Hasil yang didapatkan ialah

pertumbuhan bakteri pada air perasan jeruk nipis konsentrasi 25% sebesar 3,2 koloni/gram, konsentrasi 50% sebesar 2,4 koloni/gram, konsentrasi 75% sebesar 4,2 koloni/gram, dan konsentrasi 100% sebesar 0,8 koloni/gram.

Bakteri *E. coli* umumnya terdapat di dalam usus manusia dan hewan. Kebanyakan *E. coli* tidak berbahaya karena merupakan bagian penting dari saluran usus manusia yang sehat. Akan tetapi, beberapa *E. coli* ada yang bersifat patogen, artinya dapat menimbulkan penyakit, misalnya diare ataupun penyakit di luar saluran usus. Jenis bakteri *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit diare biasanya ditularkan lewat air atau makanan yang terkontaminasi, atau dapat juga lewat kontak dengan hewan atau manusia (Liu *et al.*, 2020).

E. coli termasuk kelompok bakteri yang besar dan beragam. Terdapat jenis *E. coli* yang dapat menyebabkan diare, sementara yang lain menyebabkan infeksi saluran kemih, penyakit pernafasan dan pneumonia, serta penyakit lainnya. Jenis *E. coli* lainnya juga digunakan sebagai penanda kontaminasi air (Denamur *et al.*, 2021).

Staphylococcus aureus ialah bakteri Gram positif memiliki bentuk bulat yang tersusun tidak beraturan mirip buah anggur. *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit serta selaput lendir manusia, tetapi terdapat *S. aureus* yang sifatnya patogen pada tubuh manusia (Brooks *et al.*, 2013). Cara bakteri *S. aureus* menginfeksi manusia yaitu dengan menginvasi jaringan dan pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* dapat diobati dengan antibiotik. Hal ini yang menjadi dasar diperlukannya penelitian untuk menemukan zat aktif yang bersifat antibakteri. Terlebih yang dapat diperoleh dari

senyawa bioaktif dalam tumbuhan, misalnya dalam jeruk nipis. Hasil penelitian oleh Pathan (2012) dilaporkan bahwa kandungan yang ada pada jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, dan *Pseudomonas* spp.

Penelitian antimikroba yang dilakukan Agape (2019) mendapatkan hasil ekstrak dari kulit buah jeruk nipis dapat menekan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi yang digunakan ialah 10%; 25%; 50%; 75%; dan 100%. Diameter zona hambat yang terbentuk dijadikan parameter penelitian ini. Diameter zona hambatnya didapatkan sebesar 2,82 mm pada konsentrasi 25%, 4,32 mm pada konsentrasi 50%, 5,69 mm pada konsentrasi 75%, dan 6,83 mm pada konsentrasi 100%. Penelitian tersebut menggunakan metode difusi kertas cakram.

Perbedaan yang terdapat ialah penelitian ini akan menggunakan bakteri uji Gram negatif serta Gram positif yaitu *E. coli* dan *S. aureus* untuk mengetahui luasnya kemampuan antibakteri dari air perasan jeruk nipis. Difusi sumuran merupakan metode dalam penelitian ini. Dimana kelebihan metode difusi sumuran ialah peneliti dapat mengukur luas zona hambat bakteri yang terbentuk lebih mudah karena isolat tidak hanya beraktivitas di permukaan atas media agar tetapi sampai ke dasar. Sehingga banyak penelitian yang menyatakan bahwa metode sumuran lebih efektif daripada difusi cakram (Intan *et al.*, 2021).

Perbedaan lainnya ialah parameter dalam penelitian ini zona hambat yang terbentuk serta nilai KHM dan KBM. Beberapa penelitian terdahulu menggunakan bahan uji berupa daun, kulit, serta buah jeruk nipis yang diekstrak. Kekurangan dari ekstrak tanaman adalah sering kali rentan terhadap kontaminasi mikroba atau

kontaminan lainnya selama proses pengumpulan dan ekstraksi, yang dapat mempengaruhi keamanan dan keefektivitasan ekstrak tersebut. Kekurangan lainnya ialah ekstrak dari tanaman mengandung campuran senyawa kompleks, dan isolasi serta identifikasi senyawa aktif utama dapat menjadi tantangan. Hal ini juga dapat mempersulit penentuan mekanisme kerja spesifik dari ekstrak tersebut (Newman *et al.*, 2016).

Penelitian kali ini menggunakan bahan uji berupa perasan air jeruk nipis. Air perasan jeruk nipis memiliki kelebihan dimana mudah didapat dan terjangkau. Senyawa asam yang terdapat pada jeruk nipis dapat menjadi sumber koagulan. Asam sitrat yang ada dalam air perasan jeruk nipis dapat menekan mikroba (Ramadhinta *et al.*, 2016).

Latar belakang yang telah dipaparkan, mendasari dilakukannya penelitian uji aktivitas antibakteri air perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* secara *in vitro* menggunakan konsentrasi air perasan jeruk nipis 25%; 50%; 75%; dan 100%. Diharapkan penelitian yang dilakukan dapat menambah sumber informasi terkait kemampuan air perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) sebagai antibakteri berdasarkan parameter zona hambatnya, konsentrasi hambat minimum (KHM), serta konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Berapa nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
3. Berapa nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
3. Mengetahui nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Terdapat nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
3. Terdapat nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan sumbangsih dalam perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi khususnya pada bidang mikrobiologi.
2. Memberikan informasi dan menjadi landasan ilmiah dalam pemanfaatan buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai antibakteri dari *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Jeruk nipis yang digunakan diperoleh dari pasar Oro-oro Dowo Kota Malang dan dipilih yang masih segar tanpa ada tanda keriput atau warna yang kecoklatan.

2. Metode uji antibakteri menggunakan parameter zona hambat dengan metode sumuran (*Well-diffusion methode*).
3. Mikroba yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri penelitian ini adalah bakteri Gram negatif *Escherichia coli* ATCC 12795 dan bakteri Gram negatif *Staphylococcus aureus* ATCC 33591D-5 dari CV Wiyasa Mandiri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

2.1.1 Taksonomi dan Deskripsi

Tanaman jeruk nipis (*C. aurantifolia*) adalah tumbuhan perdu yang pohonnya tegak serta tingginya berkisar dari 0,5-3,5 meter. Tanaman jeruk nipis memiliki banyak dahan serta ranting. Jeruk nipis berasal dari Asia Tenggara, namun kini tersebar di berbagai daerah tropis dengan ketinggian mencapai 1000 m di atas permukaan laut. (Wibaldus *et al.*, 2016).

Tanaman jeruk nipis menurut Wibaldus *et al.*, 2012 diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus. Aurantifolia</i>

Tanaman jeruk nipis memiliki buah yang mengandung banyak air, rasa buahnya sangat asam dan aromanya yang sedap (Wibaldus *et al.*, 2016). Jeruk nipis (*C. aurantifolia*) tergolong tumbuhan perdu yang bercabang banyak. Batang pohon

jeruk nipis berkayu keras dan ulet. Saat berusia tua, batang pohon jeruk nipis berwarna coklat dan berwarna hijau dan putih ketika muda. Batang pohon jeruk nipis tumbuh lurus dan tegak ke atas dengan ujung yang membengkok ke bawah. Setelah ditanam, tanaman jeruk nipis seringkali berbunga dan berbuah setelah tahun kedua.



Gambar 2.1 Buah Jeruk Nipis (Endris, 2020)

Bentuk buahnya bulat hingga menyerupai telur (Gambar 2.1), berwarna hijau awalnya dan berubah menjadi kekuningan seiring bertambahnya usia. Dibandingkan dengan buah yang lebih besar, kulit jeruk nipis yang berukuran kecil dan sedang seringkali lebih tipis. Buah jeruk nipis memiliki biji kecil berwarna putih menyerupai telur. Testa, atau lapisan terluar biji jeruk nipis, dan tegmen, atau lapisan kulit, merupakan dua lapisan terluar (Endris, 2020).

Citrus merupakan genus yang kaya akan manfaat, Rasulullah saw. pernah membahas salah satu genus *Citrus* (limau), yaitu: Abu Musa Al-Asy'ari mengatakan bahwa Rasulullah pernah bersabda, “*Perumpamaan seorang mukmin yang membaca al-Qur'an seperti limau, baunya harum dan rasanya enak*” (HR. Muslim 2/194). Menurut Ibnu Al-Qayyim, limau memiliki manfaat yang beragam mulai dari kulit, daging, rasa asam, dan bijinya. Pada kulit limau terdapat

kandungan minyak esensial yang dapat mengharumkan udara (Thayyarah, 2013).

Masyarakat memanfaatkan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) sebagai bumbu masakan dan obat karena sarinya mempunyai sifat antibakteri (Triyani *et al.*, 2021). Air jeruk nipis juga bisa menjadi obat batuk. Kulit jeruk nipis mempunyai kegunaan karena mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri yang diekstraksi dari kulit luar jeruk nipis dapat menjadi bahan obat. Sejumlah kecil minyak ini digunakan sebagai pewangi pada industri makanan, minuman, sabun, kosmetik, dan parfum. Dapat juga digunakan sebagai antirematik, antiseptik, antiracun, astringen, antibakteri, diuretik, antipiretik, antihipertensi, antijamur, insektisida, tonik, antivirus, dan ekspektoran (Endris, 2020).

Menurut Rahardjo (2012) asam organik utama pada buah jeruk nipis adalah asam sitrat, disusul asam tartarat, asam laktat, dan asam malat. Semua asam ini mempunyai sifat antibakteri karena menurunkan tingkat pH di bawah kisaran di mana mikroorganisme dapat tumbuh dan mencegah metabolisme molekul asam yang tidak terdisosiasi. Temuan analisis menunjukkan bahwa menambahkan air jeruk nipis ke dalam pakan ayam secara signifikan ($p < 0,01$) mengurangi jumlah bakteri *E. coli* dalam sistem pencernaan unggas.

Perkembangan bakteri *E. coli* pada ayam boiler dapat sangat dipengaruhi dengan menambahkan hingga 0,6% air jeruk nipis ke dalam saluran pencernaannya. Flavonoid pada jeruk nipis mempunyai kemampuan menghambat perkembangan bakteri *E. coli* (Rahardjo, 2012). Flavon yang terikat gula menjadi dasar kelas kimia beracun/aleopati yang dikenal sebagai flavonoid. Flavonoid dikenal karena kualitasnya yang unik, antara lain baunya yang menyengat, rasa pahit, kelarutannya

dalam air dan pelarut organik, serta kerentanannya terhadap suhu tinggi. Banyak tumbuhan mengandung kelas fenol yang disebut flavonoid (Ikhsan, 2014).

2.1.2 Kandungan dan Manfaat Jeruk Nipis (*C. aurantifolia*)

Ibnu Al-Qayyim mencantumkan manfaat jeruk nipis untuk kesehatan ada pada biji, rasa asam, daging, dan kulitnya. Ia juga mengatakan bahwa kulit jeruk nipis yang merupakan bagian dari genus jeruk yang dapat menjadi parfum udara karena terdapat minyak atsiri di dalamnya yang digunakan sebagai ekspektoran (Thayyarah, 2013). Penelitian lain yang dilakukan Sari (2012) menemukan bahwa ekstrak aromaterapi dari kulit jeruk nipis (*C. aurantifolia*) dapat membuat jumlah bakteri udara di ruang ICU RS Islam Sultan Agung Semarang jauh berkurang.

Banyak senyawa aktif yang bermanfaat terkandung dalam jeruk nipis, misalnya: asam sitrat, asam amino (*triptofan, lisin*), asam sitrun, kalsium, glikosida, besi, minyak atsiri (*sitral, limonen, felandren, lemon kamfer, kadinen, gerani-lasetat, linalil-lasetat, aktilaldehid, nonilaldehid*), belerang, lemak, damar, fosfor, vitamin B1 dan C. Pada jeruk nipis juga terkandung senyawa saponin dan flavonoid yaitu *naringin, hesperidin (hesperetin 7-rutinosida), eriocitrin, tangeretin, eriocitroside* (Musdalifah, 2016). Berbagai jenis tumbuhan Allah SWT. ciptakan beserta manfaat yang berbeda-beda, termasuk jeruk nipis. Firman Allah dalam Q.S at-Thaha (20): 53 yaitu:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَ لَكُم فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ ثَبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya: “(Tuhan) yang telah Menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan Menjadikan jalan-jalan diatasnya bagimu, dan yang Menurunkan air (hujan) dari langit. Kemudian Kami Tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan” (Q.S. at-Thaha (20): 53).

Q.S at-Thaha (20): 53 dijelaskan dalam Tafsir Al-Misbah (Shihab, 2012) mengandung pengertian Allah tumbuhkan tumbuhan yang bermacam-macam dan menurunkan hujan untuk menghidupinya, sehingga manusia dan hewan dapat mengambil manfaat dari tumbuh-tumbuhan untuk keberlangsungan hidupnya. Kalimat “*menjadikan bumi sebagai hamparan*” menyatakan bahwa penciptaan berbagai tumbuhan dengan warna, bentuk, rasa, yang beraneka dan kegunaannya menunjukkan keagungan Allah yang begitu besar dengan penciptaannya yang menakjubkan.

Q.S at-Thaha (20): 53 juga ditafsirkan bahwa air hujan Allah SWT. turunkan, untuk menghidupkan bumi dari kegersangannya. Dengan air tersebut, Allah tumbuhkan jenis tumbuhan dengan perbedaan yang beragam, dengan bentuk yang bermacam-macam dan karakter yang berbeda-beda. Ayat tersebut sebagai bukti bahwa tumbuhan di bumi memiliki keanekaragaman yang banyak dengan karakteristik yang berbeda-beda (As-Sa’di, 2012).

Jeruk nipis merupakan salah satu tumbuhan yang dapat diambil manfaatnya. Jeruk nipis sebagai salah satu tumbuhan dengan kegunaannya yang beragam baik sebagai makanan hingga obat-obatan dan telah terbukti berkhasiat dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit, sehingga manusia dapat memanfaatkannya bagi kesehatan. Jeruk nipis telah banyak diteliti terkait kegunaannya sebagai obat.

Jeruk nipis memiliki beragam manfaat bagi kesehatan manusia. Salah satu manfaat utamanya adalah tingginya kandungan vitamin C, yang berperan penting dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh, membantu melawan infeksi, dan mempercepat penyembuhan luka. Selain itu, jeruk nipis juga mengandung antioksidan yang dapat melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas, membantu mencegah penyakit degeneratif dan penuaan dini. Kandungan asam sitrat dalam jeruk nipis juga dapat membantu menjaga kesehatan pencernaan dengan merangsang produksi enzim pencernaan. Selain itu, jeruk nipis diketahui memiliki sifat antimikroba yang dapat melawan bakteri dan jamur. Air jeruk nipis juga dapat membantu mengontrol berat badan dan meningkatkan metabolisme (Endris, 2020).

Buah jeruk nipis memiliki banyak manfaat bagi tubuh manusia. Dalam 100gram jeruk nipis terdapat 51 kalori, yang terdiri dari protein 0.9 gram, karbohidrat 11.5gram, lemak 0.2 gram, mineral 0.5 gram, asam askorbat 49 miligram, fosfor 23 miligram, kalsium 33 miligram, dan besi 0.4 miligram. Asam-asaman yang ditemukan dalam jeruk nipis antara lain asam sitrat, asam amino (triptofan, lisin), asam sitrun, dan minyak atsiri (sital, aktilaldehid, limonene, felandren, geram-asetat, lemon kamfer, kadinen, linali-lasetat, nildehid) (Agoes, 2010).

Garcia *et al.* (2012) menyatakan bahwa minyak atsiri kulit jeruk nipis dari Iran mengandung limonene dengan 53.53%, α -terpineol 9.41%, dan γ -terpinene 6.26%. Sedangkan pada kulit jeruk nipis dari Florida selatan mengandung limonene

32.6%, α -terpineol 12.5%, dan β -pinene 6.3%. Dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri pada kulit jeruk nipis kaya akan kandungan limonene dan α -terpineol.

2.2 Aktivitas Antibakteri Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Air perasan jeruk nipis memiliki beberapa senyawa aktif yang bersifat sebagai antibakteri, diantaranya ialah asam sitrat, flavonoid, saponin, dan tannin (Edris, 2020). Flavonoid memiliki kemampuan untuk berikatan dengan protein ekstraseluler untuk menghasilkan bahan kimia kompleks yang larut dan kemudian bergabung dengan dinding sel bakteri untuk memecahkan dinding dan melepaskan zat intraseluler. Melalui proses ikatan hidrogen, flavonoid juga dapat mencegah sintesis DNA dan RNA dengan membangun basa asam nukleat. Dengan menghalangi kemampuan membran sitoplasma untuk menghasilkan energi dan mengurangi pergerakan bakteri, zat ini juga dapat mengganggu protein ekstraseluler (Hindun *et al.*, 2017).

Jeruk nipis dengan pH 2,43, memiliki kandungan asam sitrat sebesar 55,3 g/L. Untuk menurunkan pH intraseluler, asam sitrat bekerja dengan cara melewati membran sel. Aktivitas enzimatis, protein, DNA, dan membran eksternal semuanya dapat dirusak oleh rendahnya pH dalam sel. Selain itu, nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) ditekan oleh pH intraseluler rendah. PH lingkungan dapat diubah oleh asam sitrat, dan juga dapat menyebabkan ion logam di dinding sel terjadi pengkelatan, sehingga mengubah permeabilitas dinding tersebut. Hal ini menghambat penyerapan nutrisi, yang menyebabkan kematian mikroba melalui semua proses yang disebutkan di atas (Arian *et al.*, 2019).

Bakteri dapat dihambat dan dibunuh dengan kandungan yang ada dalam

kulit jeruk nipis. Kulit jeruk nipis mengandung bahan aktif yang memiliki sifat antimikroba, antara lain flavonoid, minyak atsiri, saponin, alkaloid, dan tanin. Karena molekul hidrokarbon monoterpen dalam minyak atsiri dapat meningkatkan permeabilitas dan fluiditas membran, yang menyebabkan membran bakteri melebar dan menghambat respirasi dan transportasi ion, minyak ini memiliki karakteristik antibakteri (Miksusanti, 2008).

Ada tiga mekanisme berbeda yang menyebabkan aksi antibakteri dari flavonoid: menghambat sintesis nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi. Dengan mengumpulkan basa asam nukleat selama sintesis DNA dan RNA, dalam hal ini, cincin A dan B, yang penting untuk proses interkalasi atau ikatan hidrogen. Flavonoid mencegah produksi asam nukleat. Dengan mengurangi fluiditas membran di daerah hidrofilik dan hidrofobik, flavonoid merusak kemampuan membran sitoplasma untuk berfungsi dan mengurangi fluiditas lapisan dalam dan luar. Dengan mencegah fungsi sitokrom C reduktase dan menurunkan konsumsi oksigen bakteri, flavonoid menghambat metabolisme energi (Carolia dan Noventi, 2016).

Saponin bekerja menempel pada protein dan enzim tertentu pada sel bakteri dan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel, saponin bekerja sebagai antibiotik (Madduluri *et al.*, 2013). Dengan karakteristik yang mirip dengan deterjen, saponin dapat melemahkan tegangan permukaan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kerusakan pada permeabilitas membran dan akhirnya kematian bakteri. Alkaloid merupakan zat antibakteri yang bekerja melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan cara mengganggu sintesis asam nukleat pada

bakteri dan membran selnya (Abdullah *et al.*, 2013).

Senyawa alkaloid memecah membran sel bakteri dengan menyebabkan kerusakan pada bagian penyusun peptidoglikan, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk dengan baik dan menyebabkan kematian sel (Abdullah *et al.*, 2013). Kelompok basa zat alkaloid termasuk nitrogen, yang dapat bereaksi merusak DNA bakteri. Sel bakteri mengalami lisis akibat modifikasi struktur dan susunan asam amino ini (Bintari *et al.*, 2015).

Tannin melalui mekanisme denaturasi pada protein sel bakteri, menghambat fungsi membran sel sehingga mengganggu proses transpor antar sel, serta mengganggu pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat (Anggraini *et al.*, 2019). Salah satu protein membran bakteri dapat diikat oleh senyawa kimia polifenol yang disebut tanin. Hal ini dapat merusak persiapan reseptor permukaan sel bakteri, sehingga mengganggu fungsi metabolisme sel. Tanin juga dapat menghentikan sintesis protein, yang diperlukan untuk membangun dinding sel, dengan menggabungkannya dengan prolin untuk menghasilkan kompleks kimia yang tidak dapat diubah (Abdullah *et al.*, 2013). Tanin juga dapat merusak polipeptida dinding sel sehingga mengganggu integritas sintesis dinding sel. Hal tersebut menyebabkan bakteri lisis karena tekanan osmotik dan fisik bakteri (Setiawan *et al.*, 2017).

2.3 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri bekerja dengan mekanisme berikut.

1) Penghambatan metabolisme sel/antimetabolit

Sintesis purin dan pirimidin (prekursor DNA dan RNA) memerlukan koenzim asam folat untuk proses tumbuh dan replikasi sel. (PABA) Asam p-amino benzoate adalah metabolit primer bagi mikroorganisme kebanyakan. Sulfonamide merupakan salah satu antimikroba yang akan berkompetisi dengan PABA agar dapat membentuk asam folat, ketika persaingan dimenangkan oleh antimikroba maka asam folat nonfungsional akan terbentuk, hal tersebut dapat mengganggu kehidupan mikroorganisme (Dermawan, 2015).

2) Penghambatan sintesis dinding sel

Antibakteri kelompok ini mampu menghambat sintesis mukopeptida dan biosintesis peptidoglikan, menyebabkan dinding sel menjadi lemah. Tekanan turgor yang ada dari dalam mampu memecahkan dinding sel dan bakteri akan mati. Penisilin, vankomisin, sefalosporin, dan antifungi golongan azol adalah antimikroba yang termasuk (Dermawan, 2015).

3) Penghambatan fungsi permeabilitas membrane sel

Permeabilitas membrane sel yang terganggu akibat antimikroba akan menyebabkan senyawa intraseluler mikroorganisme keluar, hal tersebut menyebabkan kerusakan serta kematian sel. Nistatin, amphotericin B, dan polimiksin merupakan kelompok antimikroba golongan ini (Dermawan, 2015).

4) Penghambatan protein yang *reversible*

Fungsi ribosom bakteri dipengaruhi oleh antimikroba menyebabkan terhambatnya sintesis protein. Antimikroba akan menghambat reaksi transfer antara donor dengan aseptor, antimikroba juga dapat menghambat translokasi t-RNA peptidil dari situs aseptor ke situs donor (Dermawan, 2015).

5) Pengubahan sintesis protein

Antimikroba yang terikat dengan sub-unit ribosom 30S akan mengakibatkan kematian sel dan sintesis protein berubah. Aminoglikosida adalah salah satu antimikroba golongan ini (Dermawan, 2015).

6) Penghambatan asam nukleat

Metabolisme asam nukleat dipengaruhi oleh antimikroba dimana DNA *m*-RNA mikroorganisme akan diikat. Contohnya, *DNA-dependent RNA polymerase* akan diikat dan dihambat oleh rifampisin. Selain itu, penghambatan sintesis asam nukleat dapat terjadi dengan menghambat enzimnya, seperti sulfonamide, trimethoprim, kuinolon, rifampin, dan pirimetamin (Sunaryo, 2014).

2.4 *Escherichia coli*

2.4.1 Deskripsi dan Morfologi

Escherichia coli merupakan salah satu spesies bakteri yang termasuk ke dalam genus *Escherichia* dan famili *Enterobacteriaceae*. *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif (-) yang tidak tahan asam, tidak membentuk spora, serta berbentuk batang (Gambar 2.2). Ukuran bakteri ini berkisar antara 1.0-1.5 μm x 2.0-6.0 μm , sebagian motil dengan flagella sebagian lainnya tidak. Sejumlah *strain E. coli* mempunyai kapsula. *E. Coli* merupakan bakteri fakultatif anaerobic, yang dapat

tumbuh dengan atau tanpa oksigen, dan dapat bertahan pada media minim nutrisi. Fili-fili pada permukaan tubuh *E. coli* menentukan sifat menempel dan pembentukan koloni (adhesi). *E. coli* juga dapat menghasilkan indol, tidak memfermentasi sitrat, dan hasil uji urease negatif (Mahfudz *et al.*, 2021).

Bakteri *E. coli* banyak ditemukan sebagai flora normal saluran pencernaan manusia atau hewan. *E. coli* secara fisiologi dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang sulit. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada air tawar, air laut, atau di tanah. Kemampuan *E. coli* untuk beradaptasi pada berbagai kondisi berbeda membuatnya menimbulkan sejumlah penyakit. Terdapat sejumlah jenis kondisi lingkungan yang merugikan *E. coli* dalam beradaptasi, misalnya seperti pada saluran pencernaan manusia, lingkungan asam (pH rendah), tekanan osmotik, serta perubahan suhu (Rahayu *et al.*, 2018).

E. coli toleran terhadap kondisi kering yang dibuktikan dengan kemampuannya untuk dapat bertahan hidup selama pendinginan dan pembekuan. Tergantung dari suhunya, waktu generasinya berkisar 30 sampai 87 menit. Waktu generasi adalah waktu yang dibutuhkan sel *E. coli* untuk membelah diri menjadi dua. Pertumbuhan optimalnya pada suhu 37°C dengan minimal pH 4.5 dan waktu generasi tersingkat adalah selama 30 menit (Rahayu *et al.*, 2018).

Dinding sel bakteri Gram negatif tersusun atas lipopolisakarida. Dinding sel bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dengan banyak ikatan silang peptida. Lapisan luar peptidoglikan terdiri dari lapisan fosfolipid, lipoprotein, dan polimer yang unik untuk dinding sel gram negatif yang disebut lipopolisakarida. Dinding sel *E. coli* dibandingkan gram positif relatif lebih

kompleks dan berlapis tiga yakni lipoprotein, lipopolisakarida, peptidoglikan (Hamidah *et al.*, 2019).

Escherichia coli ATCC 12795 adalah strain enteropatogenik *E. coli* (EPEC) yang sering digunakan dalam penelitian. Strain ini termasuk dalam kelompok *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit diare, terutama pada bayi dan anak-anak. EPEC adalah salah satu dari beberapa kelompok patogenik *E. coli* yang dapat menyebabkan diare, dan strain ATCC 12795 memiliki peran penting dalam studi patogenesis dan pengembangan intervensi untuk mencegah infeksi (ATCC, 2024).



Gambar 2.2. Bakteri *E. coli* pada Pewarnaan Gram (Islam *et al.*, 2016)

2.4.2 Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi dari *E. coli* menurut Hammadi dan Al-Mousawi (2021) yaitu sebagai berikut.

Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Eschericia coli*

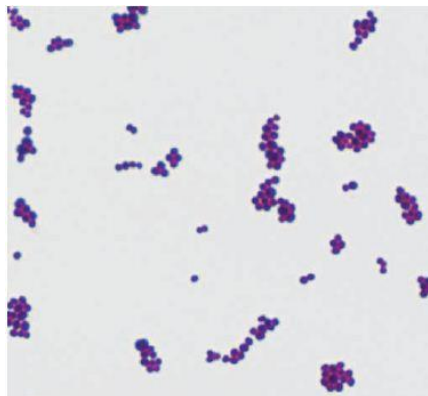
2.5 *Staphylococcus aureus*

2.5.1 Deskripsi dan Morfologi

Staphylococcus berasal dari kata Yunani *staphyle* dan *kokkos*, yang berarti sekelompok buah anggur berbentuk bulat atau kokus. Kata "emas" dalam bahasa Latin memunculkan nama "*aureus*", yang menunjukkan bahwa bakteri ini tumbuh subur dalam koloni besar berwarna kuning. Tubuh manusia banyak yang mengandung koloni *S. aureus*, terutama pada selaput hidung dan kulit (Putra, 2012). *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif dan tidak dapat bergerak. Berbagai penyakit, termasuk impetigo, selulitis, pneumonia, sindrom kulit korioamnionitis, melepuh, mastitis, dan sepsis pada bayi baru lahir, dapat disebabkan oleh infeksi *S. aureus* (Pathan, 2012).

Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif dengan diameter sekitar 1 μm dan berbentuk seperti kokus. Di bawah mikroskop, bakteri ini berbentuk mirip dengan buah anggur (Gambar 2.3). Spora tidak dibentuk oleh *S. aureus*, juga tidak menyebar secara aktif. Koloni bakteri yang sangat besar dan transparan memiliki diameter 6–8 mm. Strain koloni bakteri biasanya menghasilkan warna oranye atau kuning gading. Koloni *S. aureus* pada *Blood Agar plate* berdiameter 3–4 mm, berwarna kuning keabu-abuan, dan terdapat zona bening di sekelilingnya yang menandakan hemolisis (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus ATCC 33591D-5 adalah strain bakteri *Staphylococcus aureus* yang dikenal sebagai salah satu strain *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Strain ini memiliki resistensi terhadap antibiotik methicillin, yang menjadikannya penting dalam penelitian resistensi antibiotik, terutama terkait infeksi yang sulit diobati dengan antibiotik standar. Strain ini sering digunakan dalam pengujian obat baru, studi resistensi, dan pengembangan produk desinfektan dan sanitasi untuk mengatasi infeksi MRSA yang resisten terhadap antibiotik standar (ATCC, 2024).



Gambar 2.3 Pewarnaan Gram pada *S. aureus*

(Brooks *et al.*, 2013)

S. aureus tergolong bakteri anaerob fakultatif serta mampu tumbuh pada lingkungan udara yang mengandung hydrogen saja. Bakteri ini dapat bertahan dalam suhu panas hingga suhu 50°C selama 30 menit. Suhu optimum bakteri *S. aureus* untuk tumbuh ialah 35°C, dengan 15°C dan 40°C merupakan batas suhunya tumbuh (Pradani, 2012). Katalase dan asam laktat dapat dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* namun bakteri ini tidak dapat menghasilkan gas (Brooks *et al.*, 2013).

2.5.2 Klasifikasi *S. aureus*

Klasifikasi *S. aureus* menurut Soedarto (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

2.6.1 Metode Difusi Sumuran

Teknik difusi banyak digunakan untuk mengukur sensitivitas mikroba uji terhadap antimikroba (Fitriana *et al.*, 2019). Difusi sumuran adalah metode sumuran yang paling umum digunakan. Sumuran dibuat dengan melubangi media agar yang telah ditanami bakteri uji. Antibiotik dimasukkan ke dalam sumuran lalu diinkubasi. Setelah itu, diameter zona bening yang terbentuk diukur, yang menunjukkan bahwa tindakan antibakteri yang terkandung dalam ekstrak menghentikan perkembangan bakteri (Dewa *et al.*, 2020). Hasil diameter zona hambat dikategorikan dalam beberapa kelompok kekuatan (Tabel 2.1) sebagai berikut (Nurhayati *et al.*, 2020., Novaryatiin *et al.*, 2018., Dewa *et al.*, 2020):

Tabel 2.1 Kriteria Zona Bening

No	Diameter Zona Bening	Kategori
1.	>20 mm	sangat kuat
2.	10-20 mm	kuat
3.	5-10 mm	sedang
4.	< 5 mm	lemah

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap diameter zona hambat termasuk kepadatan suspensi mikroba, ketebalan media agar, dan pH media. Kepadatan suspensi mikroba uji pada permukaan media memengaruhi diameter zona hambat, karena jika kepadatan suspensi mikroba tinggi, zona hambat yang terbentuk lebih kecil. Ketebalan media agar berpengaruh karena zona hambatan akan lebih kecil jika media yang digunakan lebih tebal. Faktor lain yang mempengaruhi diameter zona hambat yaitu kecepatan difusi antimikroba, viskositas media biakan, serta interaksi antibiotik dengan media (Sari *et al.*, 2022).

2.6.2. Metode Dilusi

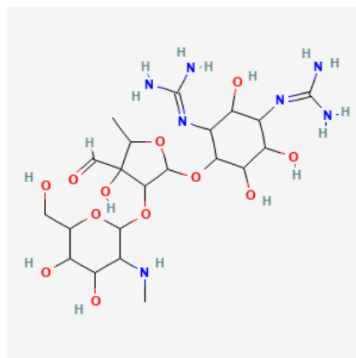
Konsentrasi antimikroba yang diperlukan untuk menghentikan perkembangan bakteri dapat dihitung dengan menggunakan teknik dilusi. Dilusi perbenihan cair dan dilusi agar adalah dua metode pengerjaan metode dilusi. Dalam metode pertama, bahan antimikroba dicampur dengan bakteri dalam tabung yang dikenal sebagai dilusi perbenihan cair (*macro broth dilution*). Untuk menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum), biasanya diperlukan berbagai campuran bakteri dan antimikroba. Selain itu, ada tabung kontrol positif dan negatif. Tabung positif diisi bakteri dan bahan antibakteri, sedangkan tabung negatif diisi antibakteri tanpa dicampur bakteri. Selanjutnya, tabung diinkubasi selama 18–24 jam pada

suhu 37°C dan tingkat kekeruhannya dinilai. KHM dapat diidentifikasi dalam konsentrasi dengan kekeruhan yang rendah (Yanuhar, 2016).

Metode dilusi agar dilakukan dengan menanam bakteri pada perbenihan cair yang digunakan pada dilusi cair (*broth*) sebelumnya ke dalam agar, kemudian diinkubasi semalam pada suhu 37°C. KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dapat ditentukan pada konsentrasi yang menunjukkan ketidakadaan pertumbuhan bakteri pada agar. Keuntungan dari metode dilusi ini adalah membantu penentuan tingkat resistensi sehingga dapat menjadi petunjuk penggunaan antimikroba melalui hasil KHM. Kerugian dari metode dilusi adalah tidak efisien karena pengerjaannya yang rumit, memerlukan banyak alat-alat dan bahan serta memerlukan ketelitian dalam proses pengerjaan termasuk persiapan konsentrasi antimikroba yang bervariasi (Soleha, 2015).

2.7 Streptomycin

Streptomycin adalah antibiotik kelompok amiglikosida dan merupakan antibiotik berspektrum luas (*broad spectrum*), yang berarti antibiotik ini dapat digunakan untuk mengatasi infeksi akibat bakteri baik Gram positif ataupun Gram negatif. Streptomycin memiliki rumus molekul yakni $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ (Gambar 2.4) dengan massa molekul yaitu 582,27 (Hadawiah, 2023). Streptomycin saat ini masih banyak digunakan baik pada manusia maupun hewan. Pada manusia misalnya digunakan sebagai salah satu obat utama penyakit tuberkulosis (TB). Sedangkan pada hewan, streptomycin sangat efektif dalam mengobati penyakit Coryza pada unggas dan menjadi salah satu obat yang paling efektif untuk mengatasinya (Hadawiah, 2023).



Gambar 2.4 Struktur Molekul Streptomycin (NCBI, 2024)

Streptomycin bekerja dengan cara mengganggu aktivitas kerja dan fungsi dari ribosom. Ribosom memiliki dua bagian atau subunit yakni subunit besar yang mencetak protein dan subunit kecil yang membaca mRNA. Streptomycin dapat berikatan dengan subunit kecil ini sehingga mengakibatkan subunit kecil tersebut melakukan kesalahan pada saat membaca sekuens mRNA. Hal tersebut dapat mengakibatkan sintesis protein secara acak yang berujung pada kematian bakteri (Hadawiah., 2023). Banyaknya penggunaan streptomycin secara luas menyebabkan munculnya strain/galur bakteri yang resisten terhadap streptomycin. Penelitian di berbagai dunia juga banyak melaporkan adanya strain bakteri yang resisten terhadap streptomycin pada ayam, kalkun, burung buruan, dan berbagai spesies lain (Jamilatun, 2019). Salah satu penelitian juga melaporkan bahkan hingga 80% dari isolat *E. coli* yang diuji pada ayam broiler merupakan resisten terhadap streptomycin (Kustyawati & Sartika, 2023).

Streptomycin pada konsentrasi 0,5% sangat umum digunakan dalam berbagai penelitian. Kelebihan streptomycin 0,5% ialah telah terbukti menghasilkan efek bakterisidal yang kuat. Konsentrasi 0,5% sudah memberikan konfirmasi yang jelas tentang kemampuan antimikroba dari streptomycin, serta

memberikan tolok ukur untuk menilai aktivitas senyawa uji lainnya. (Chen *et al.*, 2017). Streptomisin pada konsentrasi 0,5% dianggap cukup tinggi untuk memastikan efektivitas terhadap bakteri target tanpa memberikan tekanan selektif berlebihan yang dapat meningkatkan risiko resistensi. (Ventola, 2015).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*C. aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan penelitian eksperimental. Untuk mengetahui diameter zona hambat serta KHM dan KBM yang dihasilkan oleh air perasan jeruk nipis, pengujian ini menggunakan air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Pengujian diameter zona hambat menggunakan metode difusi sumuran. Pembanding berupa kontrol positif streptomycin 0,5% dan kontrol negatif berupa media agar yang ditanam bakteri serta diberikan aquadest. Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri Gram negatif yaitu *E. coli* dan bakteri Gram positif *S. aureus*. Penelitian dilakukan sebanyak 6 perlakuan dan 3 ulangan.

Tabel 3.1 Rancangan perlakuan pada diameter zona hambat *E. coli*

K	M (<i>E. coli</i>)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
K1	K ₁ M ₁	K ₁ M ₂	K ₁ M ₃
K2	K ₂ M ₁	K ₂ M ₂	K ₂ M ₃
K3	K ₃ M ₁	K ₃ M ₂	K ₃ M ₃
K4	K ₄ M ₁	K ₄ M ₂	K ₄ M ₃
K+	K ₊ M ₁	K ₊ M ₂	K ₊ M ₃
K-	K-M ₁	K-M ₂	K-M ₃

Tabel 3.2 Rancangan perlakuan pada diameter zona hambat *S. aureus*

K	N (<i>S. aureus</i>)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
K1	K ₁ N ₁	K ₁ N ₂	K ₁ N ₃
K2	K ₂ N ₁	K ₂ N ₂	K ₂ N ₃
K3	K ₃ N ₁	K ₃ N ₂	K ₃ N ₃
K4	K ₄ N ₁	K ₄ N ₂	K ₄ N ₃
K+	K ₊ N ₁	K ₊ N ₂	K ₊ N ₃
K-	K-N ₁	K-N ₂	K-N ₃

Keterangan: K = Perlakuan

K1 = Air Perasan jeruk nipis 25%

K2 = Air Perasan jeruk nipis 50%

K3 = Air Perasan jeruk nipis 75%

K4 = Air Perasan jeruk nipis 100%

K+ = Streptomycin 0,5%

K- = aquadest dan bakteri biakan

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan sejak bulan Maret 2024 hingga Mei 2024.

Penelitian uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Penelitian ini menggunakan alat-alat yang terdiri dari erlenmeyer (Iwaki) 500 mL dan 250 mL, beaker glass (Iwaki) 5 mL, 10 mL, dan 500 mL, gelas ukur (Iwaki) 10 mL dan 250 mL, tabung reaksi, timbangan analitik (Sartorius), spatula, pengaduk kaca, mikrotube 2 mL, *magnetic stirrer*, *hot plate*

(Barnstead/Thermolyne), kertas label, *aluminium foil*, *mikropipet* (BIO-RAD), *yellow tip* (nesco), alat tulis, jarum ose, plastik wrap, inkubator (Mettler UNB 400), pinset, rak tabung, korek, bunsen, *laminar Air Flow* (LAF) ESCO AHC-4AJ, autoklaf (SS XFS-280 A), cawan petri (pyrex), kasa, kertas, kapas, sendok, *vortex* (Barnstead/Thermolyne), dan *cotton swab*.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia.*), aquadest steril, alkohol 70%, spiritus, media NA (Merck), NB (Merck), media Mueller Hinton Agar (MHA), isolat *Escherichia coli* ATCC 12795, Isolat *Staphylococcus aureus* ATCC 33591D-5, Streptomycin (Meiji).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Sampel dan Kontrol

Digunakan gelas beker ukuran 50 mL lalu dimasukkan serbuk streptomycin ke dalamnya. Kemudian volume larutan dalam gelas beker dibuat menjadi 50 mL dengan menambahkan aquadest steril, lalu diaduk hingga larutan homogen. Konsentrasi larutan streptomycin sebesar 0,01 g/mL. Buah jeruk nipis yang sudah didapatkan diperas airnya, dipisahkan ke dalam 4 wadah steril kemudian tambahkan aquadest di masing-masing wadah agar menjadi konsentrasi yang diinginkan yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100% masing-masing sebanyak 10 mL. Untuk membuat konsentrasi 25%-75% perlu dilakukan pengenceran sebagai berikut.

1. 75% $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$
 $V_1 \times 100 = 10 \times 75$
 $V_1 = 7,5 \text{ mL air perasan jeruk nipis} + 2,5 \text{ mL aquades}$
2. 50% $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$
 $V_1 \times 100 = 10 \times 50$
 $V_1 = 5 \text{ mL air perasan jeruk nipis} + 5 \text{ mL aquades}$
3. 25% $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$
 $V_1 \times 100 = 10 \times 25$
 $V_1 = 2,5 \text{ mL air perasan jeruk nipis} + 7,5 \text{ mL aquades}$

3.4.2 Pembuatan Media

Penelitian ini digunakan nutrien agar (NA) dan Mueller Hinton agar (MHA) sebagai media pertumbuhan bakteri. Media NA dibuat dengan dilarutkan 2 g serbuk media NA ke dalam gelas beker 100 mililiter yang berisi akuades, sedangkan media MHA dibuat dengan dilarutkan 19 g serbuk media MHA ke dalam gelas beker 500 mililiter yang berisi akuades (Hadawiah, 2023). Media yang telah dibuat kemudian dipanaskan di atas hot plate hingga mendidih. Setelah itu dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.3 Peremajaan Bakteri

Peremajaan isolat bakteri dilakukan menggunakan media agar miring yaitu media NA. Mikroba uji dibiakkan dengan cara diambil 1 ose isolat murni lalu diinokulasikan pada agar miring steril dengan cara digoreskan pada masing-masing media. Untuk melakukan inokulasi, jarum ose difiksasi di atas api, kemudian ditempelkan pada isolat murni mikroba dan digores secara zig-zag. Tabung reaksi kemudian ditutup dengan plastik *wrap*, sehingga dapat meminimalisasi kontaminasi dari luar. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Hadawiah., 2023).

3.4.4 Pembuatan Larutan Mcfarland

Menurut Hadawiah (2023), proses pembuatan larutan McFarland 0,5 biasanya digunakan untuk membandingkan tingkat kekeruhan bakteri dalam media cair dengan kepadatan antara 1×10^7 sel/ml sampai dengan 1×10^8 sel/ml. Larutan McFarland dibuat dengan mencampurkan 0,05 mililiter barium klorida (BaCl_2) 1% dengan 9,95 mililiter asam sulfat (H_2SO_4) 1% (Putri *et al.*, 2022).

3.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri yang telah diremajakan pada media NA diambil satu ose lalu disuspensikan ke dalam tabung berisi lima mililiter media agar dan diinkubasi selama dua puluh empat jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri diencerkan dengan natrium klorida 0,9% steril dan dikocok sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 McFarland I (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 McFarland I mempunyai populasi 1×10^7 CFU/ml – 1×10^8 CFU/ml) (Rizki *et al.*,

2022).

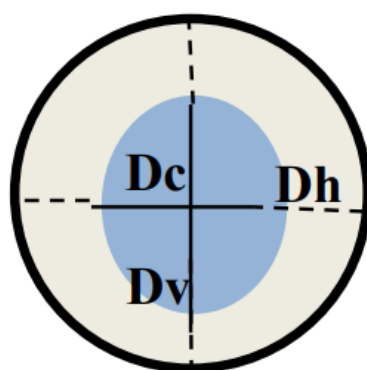
Suspensi bakteri uji dibandingkan dengan larutan Mcfarland 0,5 karena untuk mendapatkan jumlah bakteri yang berkisar 1×10^7 CFU/ml – 1×10^8 CFU/ml. Konsentrasi 1×10^7 CFU/ml – 1×10^8 CFU/ml mencerminkan populasi bakteri yang sehat dan aktif secara metabolik, yang penting untuk mengevaluasi efektivitas agen antimikroba. Konsentrasi yang terlalu rendah mungkin tidak mewakili tantangan infeksi yang sebenarnya, sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kesulitan dalam interpretasi hasil karena efek persaingan antar bakteri atau efek saturasi. (Balouiri *et al.*, 2016).

3.4.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dilakukan dengan metode difusi sumuran. Media cair MHA dituangkan sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga padat. Suspensi bakteri *E. coli* dan *S. aureus* kemudian diapus merata dengan kapas lidi steril. Kemudian, dibuat sumuran (diameter 6 mm) pada media MHA yang sudah dicampur dengan bakteri uji yaitu *E. coli* dan *S. aureus* (Putriani *et al.*, 2024). Lalu, setiap cawan dibuat 4 sumuran kemudian pada setiap sumuran dimasukkan air perasan jeruk nipis dengan menggunakan mikropipet konsentrasi yang berbeda, masing-masing sebanyak 50 µl. Kemudian, diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, diamati dan diukur diameter zona terang (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong (Putriani *et al.*, 2024).

Observasi dilakukan selama 24 jam masa inkubasi. Pengukuran diameter

zona hambat menggunakan jangka sorong. Diameter vertical (DV) dan horizontal (DH) zona hambat di sekitar sumur diukur. Zona bening menunjukkan kepekaan bakteri terhadap zat antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji. Ukuran ini dilakukan dalam satuan milimeter (mm) (Hadawiyah, 2023). Rumus perhitungan zona bening ialah (Gambar 3.1) (Pormes *et al.*, 2016).



$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Gambar 3.1 Pengukuran diameter zona bening (Pormes *et al.*, 2016)

Keterangan:

DV (diameter vertical)

DH (diameter horizontal)

DC (diameter sumur 6 mm)

3.4.7 Uji KHM dan KBM

Penghitungan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM), dilakukan dengan cara 4 ml media NB (*nutrient broth*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2 ml larutan uji dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dan ditambahkan 1 ml bakteri uji. Untuk membuat kontrol positif, 4 ml media

NB ditambahkan ke 2 ml biakan bakteri uji, sedangkan untuk membuat kontrol negatif, 4 ml media NB ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, semua larutan uji, kontrol positif dan negative diinkubasi selama satu hari, atau dua puluh empat jam. Setelah itu, larutan diamati untuk mengetahui kekeruhannya. Kekeruhan larutan uji adalah parameter yang digunakan (Rollando *et al.*, 2019).

Uji nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan mengambil 1 ml larutan uji KHM dan dituangkan pada media NA (nutrient agar) yang sudah disiapkan di dalam cawan petri. Larutan uji KHM harus bening dan tidak menunjukkan tanda-tanda pertumbuhan bakteri. Setelah itu, diinkubasi selama satu hari, atau 24 jam. Parameter yang digunakan adalah pertumbuhan bakteri pada media agar, yang ditunjukkan dengan adanya area atau titik-bintik berwarna putih pada media agar (Rollando *et al.*, 2019).

Perhitungan jumlah koloni pada media agar dilakukan menggunakan *colony counter*. Jumlah koloni yang diperoleh dikalikan dengan faktor pengenceran dan dibagi volume pemipetan untuk mendapatkan nilai *colony-forming units* per mililiter (CFU/ml) (Jin *et al.*, 2023). Perhitungan yang digunakan yaitu sebagai berikut.

$$CFU = \sum \text{koloni per cawan} \times \frac{\text{faktor pengenceran}}{\text{volume}}$$

Jika jumlah koloni tiap sampel lebih dari 300 CFU/ml dikategorikan sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) atau *too numerous to count* (TNTC). Nilai KBM yaitu konsentrasi terkecil yang menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan koloni pada goresan cawan (Hadawiyah, 2023).

3.5 Analisis Data

Analisa Variasi Satu Jalur (ANOVA) digunakan untuk memeriksa data diameter zona hambat setelah 24 jam inkubasi. Program SPSS versi 25 digunakan untuk menganalisis data statistik. Uji Duncan dengan taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ digunakan setelah hasil menunjukkan perbedaan nyata (Hadawiah, 2023). Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel.

Pertama-tama dilakukan uji normalitas One Sample Kolmogorov Smirnov kemudian dilakukan uji homogenitas Levine. Uji parametrik satu arah ANOVA dilakukan untuk mengukur signifikansi perbedaan antar sampel uji dengan nilai p-value. Data dianggap normal dan homogen jika nilai p-value $>0,05$. Hasil yang menunjukkan signifikan diuji dengan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

KHM dilihat dari konsentrasi terendah air perasan jeruk nipis dalam tabung reaksi dengan hasil biakan yang mulai jernih. Nilai KHM dipertegas dengan menginokulasikan hasil KHM pada media agar kemudian diamati konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Konsentrasi terendah air perasan jeruk nipis pada cawan petri dengan tidak adanya pertumbuhan koloni adalah KBM dari air perasan jeruk nipis terhadap mikroba uji. Total koloni dihitung menggunakan *colony counter*. Data kemudian dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif serta disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Aktivitas Antimikroba Air Perasan Jeruk Nipis

Aktivitas antimikroba air perasan jeruk nipis menggunakan metode difusi sumuran menunjukkan rata-rata diameter zona hambat berdasarkan kategori kekuatannya (Dewa *et al.*, 2020) yang ditunjukkan oleh tabel 4.1 sebagai berikut.

Tabel 4.1 Hasil rata-rata diameter zona hambat sampel uji

Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm) $\pm$ SD			
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	Rata-rata	Kategori	Rata-rata	Kategori
Air Perasan Jeruk Nipis 25%	8,11 $\pm$ 1,87 ^b	Sedang	4,79 $\pm$ 2,37 ^b	Lemah
Air Perasan Jeruk Nipis 50%	10,55 $\pm$ 0,88 ^b	Kuat	11,76 $\pm$ 0,99 ^c	Kuat
Air Perasan Jeruk Nipis 75%	13,73 $\pm$ 2,07 ^c	Kuat	15,78 $\pm$ 1,02 ^d	Kuat
Air Perasan Jeruk Nipis 100%	15,54 $\pm$ 2,25 ^c	Kuat	18,89 $\pm$ 2,62 ^e	Kuat
K+ (Streptomycin 0,5%)	27,94 $\pm$ 1,08 ^d	Sangat kuat	25,58 $\pm$ 0,41 ^f	Sangat kuat
K- (0%)	0 ^a	Tidak ada	0 ^a	Tidak ada

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan taraf kepercayaan 95% (Uji Duncan)

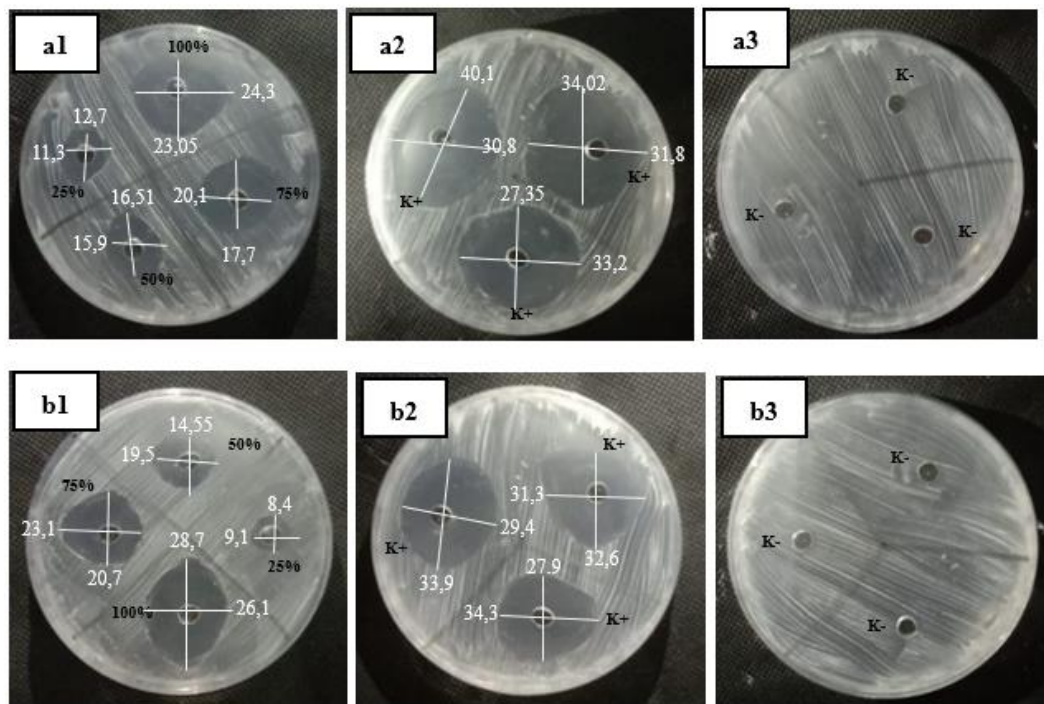
Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* yang merupakan Gram negatif dan *S. aureus* yang merupakan Gram

positif. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sekitaran daerah sumuran yang telah ditetesi oleh air perasan jeruk nipis. Aktivitas antibakteri juga terlihat pada kontrol positif streptomycin, sedangkan pada kontrol negatif tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Pengkategorian zona hambat dilakukan seperti dalam penelitian Ifora *et al.* (2023) dengan mengelompokkannya ke dalam beberapa kategori, yakni lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (>20 mm) (Tabel 4.1).

Larutan uji air perasan jeruk nipis perlakuan konsentrasi 25% (Tabel 4.1) menunjukkan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 8,11 mm (sedang) terhadap *E. coli* dan 4,79 mm (lemah) terhadap *S. aureus*. Perlakuan konsentrasi 50% menunjukkan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 10,55 mm (kuat) terhadap *E. coli* dan 11,76 mm (kuat) terhadap *S. aureus*. Perlakuan konsentrasi 75% menunjukkan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 13,73 mm (kuat) terhadap *E. coli* dan 15,78 mm (kuat) terhadap *S. aureus*. Perlakuan konsentrasi 100% (Tabel 4.1) menunjukkan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 15,54 mm (kuat) terhadap *E. coli* dan 18,89 mm (kuat) terhadap *S. aureus* (Ifora *et al.*, 2023).

Kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan larutan uji air perasan jeruk nipis yakni streptomycin (0,5%) sebagai antibakteri pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan aktivitas daya hambat sebesar 27,94 mm (sangat kuat) terhadap *E. coli* dan 25,58 mm (sangat kuat) terhadap *S. aureus* (Tabel 4.1) (Ifora *et al.*, 2023). Kontrol negatif menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri yang terlihat dari tidak terbentuknya zona bening

di sekitar daerah sumuran. Zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Diameter Zona Hambat larutan uji air perasan jeruk nipis dengan 4 variasi konsentrasi dan kontrol terhadap bakteri uji (a) *E. coli* dan (b) *S. aureus*. 1) air perasan jeruk nipis, 2) kontrol+, 3) kontrol-

Hasil pengukuran diameter zona hambat selanjutnya dianalisis secara statistika dengan SPSS v25. Pengujian diawali dengan melakukan uji normalitas Kolmogorof-Smirnov dan homogenitas levene. Nilai residual rerata diameter zona hambat pada tiap perlakuan dengan tiga ulangan pada masing-masing mikroba uji menunjukkan nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($>0,05$), hal tersebut menandakan data terdistribusi secara normal (lampiran 2.2). Rerata diameter zona hambat pada uji homogenitas levene juga menunjukkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05

(>0,05) pada semua mikroba uji, sehingga didapatkan bahwa variansi antar tiap perlakuan homogen (lampiran 2.2). Pengujian kemudian dilanjutkan menggunakan analisis One Way ANOVA.

Uji ANOVA merupakan pengujian statistik yang digunakan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan diameter zona hambat pada semua perlakuan sampel uji. Uji ANOVA bertujuan untuk mengidentifikasi adakah perbedaan yang significant dari konsentrasi perlakuan. Sehingga, peneliti dapat menentukan konsentrasi mana yang paling efektif untuk digunakan. Dalam hal ini harus terpenuhi beberapa syarat yaitu perlakuan atau fenomena lebih dari dua, varian datanya homogen serta data terdistribusi normal (Nuryadi *et al.*, 2017).

Hasil analisis statistik menunjukkan diameter zona hambat tiap-tiap perlakuan pada semua mikroba uji lebih besar daripada F tabel (>F tabel) dan nilai signifikansi di bawah 0,05 (<0,05) (lampiran 2.2), sehingga H1 diterima dan H0 ditolak. Artinya, terdapat perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing sampel uji. Perbedaan-perbedaan di antara pasangan perlakuan dapat diketahui dengan cara melakukan uji lanjutan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) (Hadwiyah, 2023).

Hasil uji lanjut DMRT (Tabel 4.1) terhadap *E. coli* menunjukkan bahwa diameter zona hambat tertinggi ditunjukkan oleh kelompok K+ yaitu kontrol positif streptomycin 0,5%. Berbeda nyata dengan semua perlakuan konsentrasi air perasan jeruk nipis dan kontrol negatif (K-). Perlakuan pemberian air perasan jeruk nipis konsentrasi 100% menunjukkan diameter zona hambat tertinggi, tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 75%, tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi 25%, 50%

dan terhadap kontrol negatif maupun positif.

Hasil uji lanjut DMRT (Tabel 4.1) terhadap *S. aureus* menunjukkan bahwa diameter zona hambat tertinggi ditunjukkan oleh kelompok K⁺ yaitu kontrol positif streptomycin 0,5%. Berbeda nyata dengan semua perlakuan konsentrasi air perasan jeruk nipis dan kontrol negatif (K⁻). Perlakuan pemberian air perasan jeruk nipis konsentrasi 100% menunjukkan diameter zona hambat tertinggi, berbeda nyata dengan konsentrasi 75%, 50%, 25% serta berbeda nyata dengan kontrol negatif maupun positif.

Hasil penelitian ini menunjukkan peningkatan konsentrasi yang berbanding lurus dengan peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk (Tabel 4.1). Hal ini disebabkan oleh konsentrasi air perasan jeruk nipis yang semakin tinggi maka kandungan senyawa aktifnya juga semakin besar. Pernyataan ini didukung oleh Chamidah *et al.* (2017) bahwa semakin tinggi konsentrasi zat uji dalam larutan antimikroba, semakin banyak senyawa antibakteri yang dilepaskan. Hal ini memudahkan senyawa antibakteri untuk berpenetrasi dan berinteraksi dengan sel mikroba.

Air perasan jeruk nipis mengandung senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Selain itu, air perasan jeruk nipis mengandung mineral serta senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang bersifat bakteriostatik atau bakterisidal yang dapat menghentikan perkembangan bakteri (Ramadhinta, *et al.* 2016). Jeruk nipis, jeruk lemon dan jeruk purut memiliki kandungan fenolik yang tinggi dibandingkan jeruk-jeruk yang lain, serta dalam banyak literatur mengatakan bahwa kandungan asam sitrat yang ada di buah jeruk berpotensi untuk digunakan sebagai antibakteri

(Ghafar *et al.*, 2010).

Hasil uji kandungan senyawa metabolit sekunder pada buah jeruk nipis menunjukkan bahwa jeruk nipis memiliki kandungan senyawa aktif yang bersifat antibakteri dan antijamur, diantaranya yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Izza & Rahayu, 2020). Flavonoid dalam penghambatan pertumbuhan bakteri yaitu dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, yang kemudian larut dan membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, sehingga merusak dinding sel bakteri dan mengeluarkan senyawa intraseluler. Selain itu, flavonoid dapat menumpuk asam basa nukleat selama proses pengikatan hidrogen, sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Senyawa ini juga dapat mengganggu aktivitas bakteri dan protein ekstraseluler dengan mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma (Carolia & Noventi, 2016).

Cincin A dan B dari flavonoid memainkan peran penting dalam proses interkalasi atau ikatan hydrogen. Selain itu, flavonoid menumpuk asam basa nukleat selama proses pembentukan DNA dan RNA, menghambat sintesis asam nukleat. Dengan mengurangi penggunaan oksigen oleh bakteri dan menghentikan sitokrom C reduktase, flavonoid menghambat fungsi membran sitoplasma dengan merusak fluiditas pada bagian hidrofilik dan hidrofobik membran, yang menyebabkan penurunan volume cairan baik di lapisan luar maupun dalam (Carolia dan Noventi, 2016).

Alkaloid dalam penghambatan pertumbuhan bakteri yaitu menghalangi pembentukan dinding sel dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan, sehingga dapat menyebabkan kematian sel. Gugus basa senyawa

alkaloid mengandung nitrogen yang pada dapat melakukan reaksi yang merusak DNA bakteri. Akibatnya, struktur dan susunan asam amino berubah, yang menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Sifat antijamur alkaloid yaitu dengan menghambat proliferasi pembentukan protein, serta respirasi pada sel yang dapat mengakibatkan kematian jamur (Bintari *et al.*, 2015; Abdullah *et al.*, 2013).

Antibakteri yang dapat merusak permeabilitas dinding sel sehingga menyebabkan sel mengalami kematian adalah saponin. Dalam tindakannya sebagai antibakteri, saponin mengikat protein dan enzim tertentu pada sel bakteri, menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Maddurluri *et al.*, 2013). Sifat-sifatnya yang mirip dengan detergen juga memungkinkan saponin untuk menurunkan tegangan permukaan dinding sel, yang memungkinkannya membunuh bakteri dan merusak permeabilitas membran. Alkaloid adalah senyawa antibakteri yang memiliki kemampuan untuk melawan bakteri gram positif dan gram negatif dengan menghentikan membran sel bakteri dan menghentikan sintesa asam nukleat. (Abdullah *et al.*, 2013).

Tanin melalui mekanisme denaturasi pada protein sel bakteri, menghambat fungsi membran sel sehingga mengganggu proses transpor antar sel, serta mengganggu pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat (Anggraini *et al.*, 2019). Tanin, senyawa kimia dari golongan polifenol, memiliki kemampuan untuk mengikat salah satu protein yang ada di membran bakteri. Hal ini dapat menyebabkan sediaan reseptor pada permukaan sel bakteri rusak, yang menghentikan metabolisme sel. Tanin juga dapat menghambat sintesis protein yang diperlukan untuk pembentukan dinding sel dengan membentuk kompleks dengan

prolin yang tidak dapat dipulihkan (Abdullah *et al.*, 2013). Selain itu, tanin dapat menyerang polipeptida dinding sel, menyebabkan pembentukan dinding sel tidak utuh. Karena tekanan osmotik dan fisik bakteri, hal ini menyebabkan bakteri menjadi lisis (Setiawan *et al.*, 2017).

Selain metabolit sekunder yang telah dipaparkan di atas, jeruk nipis juga mengandung asam sitrat yang memiliki kemampuan aktivitas antibakteri (Arian *et al.*, 2019). Asam sitrat merupakan golongan asam organik lemah dengan rumus kimia $C_6H_8O_7$. Asam sitrat umumnya ditemukan di tumbuhan genus *Citrus* (jeruk-jerukan). Senyawa ini memiliki rasa yang asam. Senyawa ini juga dapat digunakan sebagai bahan pengawet alami, zat pembersih yang ramah, serta antioksidan (Apleblat, 2014).

Jeruk nipis memiliki kadar asam sitrat sebesar 45,8 g/L (Izza & Rahayu, 2020). Kandungan asam sitrat dalam buah jeruk bertindak sebagai antibakteri dengan memutuskan jembatan garam dengan muatan iotonik untuk mendenaturasi protein sel bakteri. Asam sitrat akan merusak dinding sel bakteri dan masuk ke dalam inti sel bakteri, menghentikan respirasi sel bakteri, menghentikan enzim bakteri, dan menghentikan regulasi produk gen tertentu (Ramadhinta, *et al.* 2016).

Asam sitrat bekerja, di mana molekul senyawa ini berpindah melalui membran sel, menyebabkan pH intraseluler menjadi rendah. pH yang rendah dapat mengganggu aktivitas enzimatik, protein, DNA, dan membran ekstraseluler. Selain itu, *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH) disupresi oleh pH intraseluler yang rendah. Asam sitrat memiliki kemampuan untuk mengubah pH lingkungan serta mengakibatkan pengkelatan ion logam pada dinding sel. Pengkelatan ion logam ini

memiliki kemampuan untuk mengubah permeabilitas dinding sel. Hal ini menyebabkan penghambatan absorpsi nutrisi, yang pada gilirannya menyebabkan kematian mikroorganisme. Selain itu, pH asam dapat menyebabkan pH internal sel bakteri menurun, yang dapat mengganggu aktivitas sel bakteri dan menghentikan pertumbuhan bakteri (Arian *et al.*, 2019).

Kontrol positif streptomycin dengan zona hambat paling besar di antara semua sampel uji menunjukkan bahwa streptomycin cocok dijadikan sebagai tolok ukur efektivitas antimikroba dalam penelitian ini. Dijelaskan oleh Mansouri *et al.* (2021) bahwa streptomycin merupakan antibiotik yang sering digunakan dalam mengobati infeksi oleh bakteri, memiliki spektrum luas yang bersifat bakterisidal terhadap bakteri gram negatif maupun gram positif dan merupakan salah satu obat golongan aminoglikosida pertama yang ditemukan.

Streptomisin menjadi antibiotik aminoglikosida yang paling dikenal dan menjadi dasar pemahaman tentang mekanisme seluruh kelompok aminoglikosida (Allison & Lambert., 2015). Diameter daya hambat yang dijadikan standar dalam ukuran mm dikatakan resisten apabila ukuran yang terbentuk <14 mm, intermediet 15-18 mm, dan dikatakan sensitif apabila >19 mm (Bhaskara *et al.*, 2012). Penelitian ini menunjukkan hasil dari rata-rata diameter zona hambat kontrol positif yaitu streptomycin yang diperoleh sebesar 27,9 mm pada *E. coli* dan 25,6 mm pada *S. aureus* adalah sensitif.

Penelitian ini, menggunakan aquadest steril sebagai kontrol negatif. Kontrol negatif menunjukkan bahwa aquadest steril tidak dapat menciptakan zona hambat yang mencegah pertumbuhan bakteri. Selain itu pemeriksaan zona hambat

menunjukkan bahwa aquadest steril tidak menciptakan zona hambat (0 mm). Hal ini menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk pada setiap konsentrasi air perasan jeruk nipis disebabkan oleh aktivitas senyawa aktif pada air perasan jeruk nipis, bukan pelarut. Studi yang dilakukan oleh Bodhi *et al.* (2016) dalam uji daya hambat perasan daun lidah mertua (*Sansevierae trifasciata* folium) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa aquadest steril tidak bersifat bakterisida dan tidak memiliki zat aktif, sehingga tidak dapat menghentikan pertumbuhan bakteri.

Perlakuan pemberian air perasan jeruk nipis konsentrasi 100% menunjukkan hasil diameter zona hambat yang paling besar yaitu 15,5 mm kategori kuat) pada *E. coli* dan 18,9 mm (kategori kuat) pada *S. aureus*. Jika dibandingkan dengan rata-rata diameter zona hambat konsentrasi lainnya, diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh konsentrasi 100% memiliki diameter rata-rata terbesar. Hal ini dapat disebabkan oleh konsentrasi senyawa perasan jeruk nipis yang lebih tinggi, yang berarti konsentrasi senyawa perasan jeruk nipis yang lebih tinggi memiliki daya hambat yang lebih besar, yang memungkinkan perasan jeruk nipis untuk menembus bagian terdalam dari dinding bakteri uji. Perbedaan kepekaan bakteri terhadap konsentrasi yang digunakan juga dapat menyebabkan zona hambat yang berbeda (Mirnawati *et al.*, 2021).

Menurut Huda, (2017) Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang berlapis-lapis dan sangat kompleks yang terdiri dari tiga polimer. Lapisan terluarnya terdiri dari lipoprotein, lapisan tengahnya terdiri dari lipopolisakarida, dan lapisan terdalamnya terdiri dari peptidoglikan. Membran luarnya, yang terdiri

dari fosfolipid, sangat kuat untuk mencegah masuknya atau keluarnya zat asing ke dalam sel, yang dapat menyebabkan efek toksikologis. Adanya zona hambat bening di sekitar media menunjukkan bahwa perasan jeruk nipis berfungsi untuk menghentikan pertumbuhan bakteri. Ini dapat menjelaskan ukuran zona hambat *S. aureus* dibandingkan lebih dari *E. coli*.

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat air perasan jeruk nipis dengan pembanding berupa streptomycin menggunakan variasi konsentrasi air perasan jeruk nipis yakni 25%, 50%, 75% dan 100% menunjukkan bahwa masih terdapat perbedaan yang nyata antara kontrol positif. Walaupun demikian, secara keseluruhan air perasan jeruk nipis sudah tergolong kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus*.

Penelitian terdahulu oleh Izza & Rahayu (2020) menunjukkan aktivitas antibakteri air perasan jeruk nipis pada konsentrasi 100% terhadap *Streptococcus pyogenes* menghasilkan diameter zona hambat 13,1 mm. Sedangkan konsentrasi air perasan jeruk nipis 100% pada penelitian ini menghasilkan diameter zona hambat 18,9 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk dikarenakan jenis mikroba uji yang berbeda namun demikian zona hambat yang terbentuk sama-sama masuk ke kategori kuat.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Thomas *et al* (2022) menunjukkan aktivitas antibakteri air perasan jeruk nipis pada konsentrasi 100% terhadap bakteri *S. aureus* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 13,62 mm. Konsentrasi air perasan jeruk nipis 100% pada penelitian ini menghasilkan zona diameter hambat sebesar 18,9 mm terhadap bakteri uji yang sama. Perbedaan diameter zona hambat

yang terbentuk dapat disebabkan oleh perbedaan metode yang dilakukan. Pada penelitian ini digunakan metode difusi sumuran dimana isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan atas media agar tetapi juga sampai ke bawah sehingga luas zona hambat yang terbentuk lebih mudah untuk diukur (Intan *et al.*, 2021).

Penelitian terdahulu yang dilakukan Sari *et al* (2021) menunjukkan aktivitas antibakteri perasan kulit jeruk nipis pada konsentrasi 100% terhadap bakteri *E. coli* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 26,7 mm kategori sangat kuat. Sedangkan air perasan jeruk nipis konsentrasi 100% pada penelitian ini terhadap bakteri uji yang sama menghasilkan diameter zona hambat sebesar 15,5 mm kategori kuat. Penelitian Sari *et al* (2021) menghasilkan zona hambat yang lebih besar karena sampel uji yang digunakan ialah perasan kulit jeruk nipis. Minyak atsiri, fenolat, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin adalah bahan aktif kulit jeruk nipis yang memiliki sifat antibakteri (Cetin, 2011). Minyak atsiri yang terkandung dalam kulit jeruk nipis memiliki kemampuan untuk meningkatkan permeabilitas dan fluiditas membran. Minyak atsiri ini merusak membran yang mengikat protein transport, menghambat respirasi, dan mengubah cara ion diangkut dalam bakteri (Trombetta *et al*, 2005).

Perbedaan diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya yaitu konsentrasi zat antibakteri yang digunakan dalam pengujian, kepadatan suspensi inokulum, durasi dan suhu inkubasi, ketebalan media agar, dan komposisi media agar (Eloff., 2019). Faktor lain ditambahkan oleh Horvarth *et al.* (2016) meliputi ukuran lubang sumuran, jenis dan pH medium, dan strain mikroba yang diuji. Konsentrasi yang semakin besar, maka zat aktif dalam larutan juga

semakin banyak, sehingga menghasilkan daya hambat yang semakin besar. Daya hambat akan menurun seiring dengan menurunnya konsentrasi larutan (Suryadi *et al.*, 2022).

Suhu dan lama inkubasi yang optimal diperlukan untuk kecepatan pertumbuhan sel. Suhu mempengaruhi aktivitas enzim dalam mempercepat suatu reaksi. Semakin tinggi suhu semakin aktif aktivitas suatu enzim. Aktivitas enzim meningkat seiring lajunya untuk mencapai optimal. Peningkatan suhu melebihi suhu optimum menyebabkan lemahnya ikatan di dalam enzim (Trianes *et al.*, 2022). Diameter sumuran dan daya serap mempengaruhi besaran diameter zona hambat karena lubang sumuran berfungsi untuk menyerap larutan uji yang digunakan dan ditempatkan pada media pertumbuhan bakteri (Fitriana *et al.*, 2019).

Media agar yang tebal menjadi salah satu faktor yang memengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan mikroba. Ketebalan media agar yang efektif adalah sekitar empat milimeter (4 mm). Difusi larutan uji akan berjalan lebih cepat jika kurang dari itu, tetapi jika lebih dari itu, difusi akan menjadi lebih lambat. (Izza & Rahayu, 2020). Jenis mikroba juga menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi perbedaan diameter zona hambat, karena struktur dan kompleksitas sel mikroba serta mekanisme interaksi terhadap zat aktif yang berbeda (Lingga *et al.*, 2015).

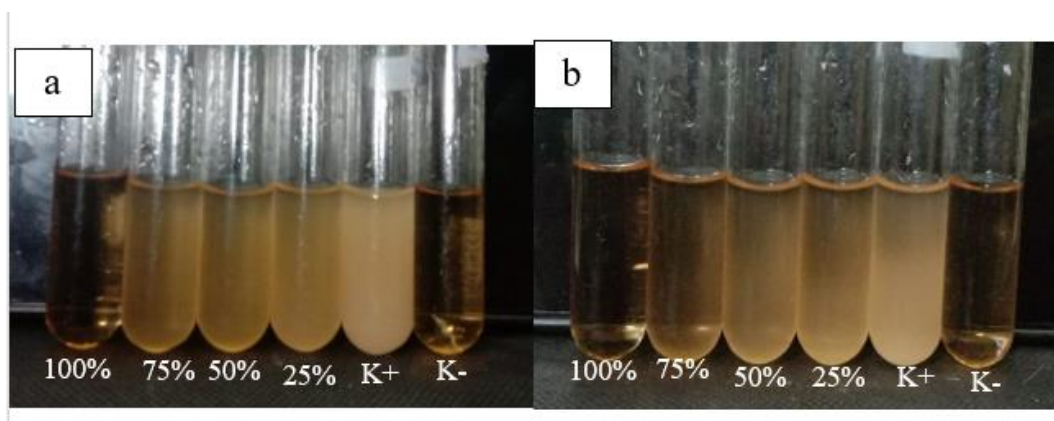
4.2 Aktivitas Hambat dan Bunuh Air Perasan Jeruk Nipis

Hasil uji zona hambat air perasan jeruk pada keempat variasi konsentrasi menunjukkan terdapat aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, dan *S. aureus* artinya sampel uji air perasan jeruk nipis memiliki potensi sebagai antibakteri. Karena hasil

Konsentrasi Air Jeruk Nipis						
Mikroba Uji	100%	75%	50%	25%	K+	K-
<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	+	+	-
Keterangan: - : Jernih		K+ : Kontrol pertumbuhan bakteri				
+ : Keruh		K- : Kontrol kontaminasi media (NB)				
: Positif KHM						

Hasil pengamatan pada tabel 4.2 menunjukkan perbedaan tingkat kekeruhan pada masing-masing perlakuan dibandingkan dengan kontrol positif (*growth control*) dan kontrol negatif (*Sterility control*). Pengamatan secara visual nilai KHM tiap konsentrasi menunjukkan hasil yang mulai jernih pada variasi konsentrasi air perasan jeruk 75% dan 100% pada *E. coli*, sehingga konsentrasi mulai jernih terakhir yaitu 75% ditentukan sebagai nilai KHM. Pengamatan pada *S. aureus* menunjukkan konsentrasi terkecil kejernihan larutan uji pada 50%. Kontrol positif menunjukkan positif kekeruhan pada tabung reaksi, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya kekeruhan, sehingga kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai tolak ukur tingkat kekeruhan dan kejernihan dari variasi

konsentrasi air perasan jeruk nipis. Interpretasi hasil KHM dapat dilihat pada Gambar 4.4 berikut.



Gambar 4.2 Nilai KHM air perasan jeruk nipis dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif terhadap bakteri uji (a) *E. coli* dan (b) *S. aureus*.

Kekeruhan pada tabung reaksi diartikan sebagai terdapat pertumbuhan mikroba, sehingga tabung reaksi yang semula jernih akan menjadi keruh setelah dilakukan inkubasi. Dijelaskan Effendi *et al.* (2014) bahwa pertumbuhan bakteri dapat dilihat kekeruhan pada media. Pertumbuhan bakteri yang semakin banyak, ditunjukkan dengan media tersebut semakin keruh. Oleh karena itu, media yang jernih mengindikasikan pertumbuhan bakteri yang terhambat atau sedikit dan tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada media, sehingga konsentrasi terkecil yang menunjukkan media menjadi jernih ditentukan sebagai nilai KHM. Hal ini sesuai dengan pernyataan Firdaus *et al.* (2021) dan Fitriana *et al.* (2019) bahwa nilai KHM ditentukan dari pengamatan kekeruhan dan kejernihan dari masing-masing perlakuan dan dibandingkan dengan larutan kontrol media. Konsentrasi terendah yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri ditandai dengan medium uji yang jernih.

Penentuan nilai KHM dalam penelitian ini kemudian dikonfirmasi dengan melakukan penanaman pada media agar dengan teknik *total plate count* (TPC), hal ini dilakukan karena pengamatan kekeruhan pada beberapa media cukup sulit dilakukan akibat larutan air perasan jeruk nipis yang berwarna putih kekuningan pada dua konsentrasi awal. Dijelaskan oleh Hadawiyah. (2023), dalam pengamatannya nilai KHM tidak dapat diamati dikarenakan larutan uji yang terlalu pekat, sehingga diperlukan dilusi padat dengan menggunakan media agar untuk menentukan nilai KHM dan KBM. Kemampuan mata manusia dalam melihat kekeruhan yang bersifat subjektif, menyebabkan dapat terjadi kesalahan dalam menilai warna larutan yang coklat dan hampir sama. Walaupun pengukuran secara visual sudah cukup untuk menentukan nilai KHM, tetapi lebih baik dilanjutkan dengan uji KBM (Warokka *et al.*, 2016).

Pengujian TPC dalam penentuan KHM dan KBM dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba menggunakan teknik cawan sebar (*spread plate*). Penentuan nilai KHM dengan metode TPC yaitu konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba, ditandai dengan mikroba masih dapat tumbuh pada hasil goresan di cawan. Sedangkan KBM ditentukan dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan koloni dalam media agar setelah diinkubasi. Konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan koloni merupakan nilai KBM (Firdaus *et al.*, 2021; Fitriana *et al.*, 2019). Hasil perhitungan TPC dalam penelitian ini ditampilkan pada tabel 4.3 sebagai berikut.

Representasi hasil TPC dapat dilihat pada lampiran 3.3.

Tabel 4.3 Hasil perhitungan TPC Uji KHM dan KBM (CFU/ml)

Mikroba Uji	Konsentrasi Air Jeruk Nipis				K+	K-
	100%	75%	50%	25%		
<i>E. coli</i>	0	4×10^2	$1,4 \times 10^5$	TBUD	TBUD	0
<i>S. aureus</i>	0	0	$1,7 \times 10^5$	TBUD	TBUD	0
Keterangan:	TBUD : Terlalu Banyak Untuk Dihitung					

Berdasarkan hasil perhitungan TPC (*Total Plate Count*) diperoleh nilai KHM dan KBM dari semua sampel uji. Nilai KHM air perasan jeruk nipis *E. coli* berada pada konsentrasi 75% dengan total koloni 4×10^2 CFU/ml (Tabel 4.3). Nilai TPC ini sesuai dengan pengamatan visual yang menunjukkan tidak adanya kekeruhan pada tabung reaksi *E. coli* pada konsentrasi air perasan jeruk nipis tersebut. Sedangkan, nilai KBM berada pada konsentrasi 100%, merupakan konsentrasi terkecil dengan tidak adanya pertumbuhan koloni pada media agar.

Hasil perhitungan TPC terhadap *S. aureus* menunjukkan nilai KHM berada pada konsentrasi 50% dengan total koloni $1,7 \times 10^5$ CFU/ml (Tabel 4.3). Nilai TPC ini sesuai dengan pengamatan visual yang menunjukkan konsentrasi 50% merupakan konsentrasi paling kecil yang terlihat jernih. Konsentrasi sebelumnya 25% menunjukkan kekeruhan pada tabung reaksi dan dibuktikan dengan penanaman pada media agar menunjukkan nilai TPC terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) karena pertumbuhan koloni yang terlalu banyak. Nilai KBM berada pada konsentrasi 75% karena merupakan konsentrasi paling rendah yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni pada agar.

Kontrol positif sebagai kontrol pertumbuhan bakteri (suspensi mikroba) pada semua kelompok mikroba menunjukkan nilai TPC yang tidak bisa untuk dihitung (TBUD) karena pertumbuhan koloni yang terlalu banyak. Hasil ini sesuai dengan pengamatan secara visual yang menunjukkan kekeruhan pada tabung reaksi. Kontrol negatif sebagai kontrol kontaminasi media pada semua kelompok mikroba menunjukkan nilai TPC 0 atau tidak terdapat pertumbuhan koloni pada agar. Hasil ini sesuai dengan pengamatan secara visual yang menunjukkan kejernihan pada tabung reaksi. Oleh karena itu, diketahui bahwa kontrol positif maupun kontrol negatif layak untuk dijadikan sebagai pembanding dalam menilai KHM-KBM pada air perasan jeruk nipis dalam penelitian ini.

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Najiya *et al* (2022) terkait aktivitas antibakteri ekstrak akar jeruk nipis terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* berdasarkan parameter uji KHM dan KBM menunjukkan hasil KHM pada bakteri *S. aureus* berada di konsentrasi 50% dimana ditunjukkan tidak adanya kekeruhan dalam tabung reaksi. Pada penelitian ini tidak terdapat hasil nilai KHM pada bakteri *E. coli* karena semua tabung reaksi menunjukkan kekeruhan di setiap konsentrasinya. Penelitian ini juga tidak terdapat hasil KBM karena semua media agar ditumbuhi oleh bakteri.

Penelitian Najiya *et al* (2022) menjelaskan bahwa karena struktur dinding sel bakteri Gram positif dan negatif berbeda, didapati hasil tidak adanya nilai KBM. Dinding sel bakteri Gram positif, seperti *Staphylococcus aureus*, memiliki struktur yang lebih sederhana daripada dinding sel bakteri Gram negatif, seperti *Escherichia coli*, yang lebih kompleks. Akibatnya, zat antibakteri lebih sulit untuk berpenetrasi

ke dalam dinding sel bakteri Gram negatif ini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak akar jeruk nipis memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, yang membuatnya digolongkan sebagai bakteriostatik (Najiya *et al.*, 2022).

Penelitian terdahulu yang dilakukan Anidyo (2020) terkait aktivitas antibakteri air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* didapatkan hasil KHM pada konsentrasi 50% ditandai dengan jernihnya tabung reaksi. Sedangkan penelitian tersebut mendapatkan hasil KBM pada konsentrasi 75% ditandai tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media agar. Hasil KHM serta KBM yang didapatkan penelitian Anidyo (2020) berbeda dengan penelitian ini salah satunya ialah karena perbedaan bakteri uji yang memiliki mekanisme pertahanan diri yang berbeda juga.

Hasil penelitian didapatkan bahwa nilai KHM dan KBM air perasan jeruk nipis terhadap *S. aureus* (50% dan 75%) lebih kecil daripada nilai KHM dan KBM *E. coli* (75% dan 100%). Hal tersebut dikarenakan struktur kedua bakteri uji yang berbeda. Berlian *et al* (2016) mengatakan bahwa senyawa aktif flavonoid memiliki sifat polar, yang menyebabkan senyawa tersebut mampu menembus dinding sel *S. aureus* dengan mudah. *S. aureus* memiliki dinding sel yang berlapis tunggal dan peptidoglikan (protein dan gula) sebagai penyusunnya. Dinding sel *S. aureus* juga tersusun atas lipid dengan kadar rendah (1-4 %), yang menyebabkan senyawa aktif dalam air perasan jeruk nipis dapat menembus dinding sel bakteri ini lebih mudah. *E. coli* memiliki dinding sel yang lebih sulit ditembus senyawa yang sifatnya polar karena dinding sel bakteri ini berlapis tiga yang tersusun atas peptidoglikan dan lipid dengan kadar yang tinggi (11-22 %).

“Selain perbedaan setiap senyawa yang terkandung didalam air jeruk nipis dapat pula pertumbuhan bakteri tersebut dipengaruhi oleh perbedaan jumlah mikroba yang ditumbuhkan pada media” (Berlian *et al.*, 2016). Dalam penelitian ini peneliti menggunakan suspensi bakteri sebanyak 1 ml untuk satu cawan petri. Akan tetapi dalam 1 ml suspensi jumlah sel bakteri belum tentu sama.

Takaran inokulum bakteri adalah salah satu komponen yang sangat mempengaruhi aktivitas antimikroba; semakin besar inokulum bakteri, semakin rendah kesensitifan organisme. Populasi bakteri yang lebih kecil akan menghambat pertumbuhan bakteri lebih lambat dan kurang sempurna daripada populasi bakteri yang besar. Selain itu, ada kemungkinan lebih besar bahwa mutan yang resisten akan muncul. Densitas inokulum harus disesuaikan sedemikian rupa sehingga pertumbuhan koloni terlihat bersatu daripada sebagai suatu filum yang bersinambungan, karena daerah hambat pada inokulum semakin kecil (Berlian *et al.*, 2016).

4.3 Potensi Air Perasan Jeruk Nipis sebagai Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang secara khusus menargetkan bakteri dan bertujuan untuk menangani dan mencegah infeksi oleh bakteri, pada konsentrasi rendah dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Antimikroba yang digunakan harus memiliki sifat toksik selektif, yang berarti harus berbahaya bagi bakteri tetapi tidak berbahaya bagi hospes atau inang (Fitriana *et al.*, 2019; Patel *et al.*, 2023). Lebih lanjut ditambahkan oleh Singh *et al.*, (2017) bahwa Antibiotik yang baik (ideal) memiliki kriteria yaitu merupakan antibiotik berspektrum luas (*broad spectrum*), tidak mengganggu bakteri yang baik bagi tubuh

(flora dalam tubuh), potensi resisten yang rendah, serta tidak menimbulkan efek toksis pada pengguna (tanpa efek samping).

Hasil pengujian dengan parameter diameter zona hambat dan KHM-KBM menunjukkan bahwa air perasan jeruk nipis memiliki potensi sebagai antibakteri broad spectrum dengan efektivitas yang lebih tinggi terhadap bakteri Gram positif kemudian bakteri Gram negatif. Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh penghambatan yang terlihat dan daya bunuh air perasan jeruk nipis tersebut terhadap *E. coli* pada konsentrasi 75% dan 100%. Serta konsentrasi 50% dan 75% pada *S. aureus*. Data hasil uji KHM dan KBM ini serupa dengan hasil pengujian diameter zona hambat, yang mana dari 4 variasi konsentrasi diperoleh diameter zona hambat 15,54-8,11 mm (kuat) terhadap *E. coli* dan 18,89-4,79 mm (kuat) terhadap *S. aureus*.

Berdasarkan hasil aktivitas antibakteri tersebut, terlihat bahwa pengujian diameter zona hambat dan KHM dalam penelitian ini menunjukkan hasil yang berkesinambungan. Diameter zona hambat yang semakin besar, maka nilai KHM senyawa tersebut semakin kecil, sebaliknya semakin resisten mikroorganisme maka semakin tinggi KHM dan semakin kecil zona hambatnya (Sundari., 2022). Dalam penelitian aktivitas antibakteri, KHM dan KBM digunakan untuk menentukan konsentrasi optimal dari suatu bahan yang dapat digunakan sebagai agen antibakteri. Sedangkan zona hambat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari suatu bahan secara kualitatif (Balouri *et al.*, 2016).

Penentuan konsentrasi yang tepat diperlukan dalam penggunaan air perasan jeruk nipis sebagai antibakteri. Konsentrasi yang terlalu besar maupun terlalu kecil

akan menyebabkan air perasan jeruk nipis menjadi tidak efektif. Oleh karena itu, pengujian zona hambat, KHM dan KBM dalam penelitian ini dilakukan guna mendapatkan konsentrasi yang sesuai sehingga zat uji air perasan jeruk nipis dapat bekerja dalam menghambat dan membunuh mikroba secara optimal.

Aktivitas antibakteri dalam penelitian ini lebih kecil dibandingkan dengan aktivitas antibakteri komersial. Akan tetapi, kemampuan rata-rata antibakteri air perasan jeruk nipis pada konsentrasi 25%-100% sudah tergolong kuat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, sehingga dapat dicoba sebagai antibakteri dengan beberapa optimasi hingga diperoleh kemampuan yang serupa dengan antibiotik komersial. Konsentrasi antibakteri yang dibutuhkan semakin rendah dalam menghambat bakteri maka antibakteri tersebut semakin baik efektivitasnya (Hadawiyah, 2023).

Berbicara mengenai air perasan jeruk nipis, meskipun air perasan jeruk nipis memiliki banyak kelebihan, tetapi penggunaan air jeruk nipis pada penelitian ini masih terdapat kekurangan. Kekurangan penelitian ini ialah banyak senyawa aktif yang terkandung dan persentase kadar masing-masing senyawa dalam air perasan jeruk nipis masih belum diketahui secara pasti. Kekurangan lainnya ialah belum dapat ditentukan secara pasti apakah air perasan jeruk nipis bersifat bakteriosidal karena penghambatan pertumbuhan bakteri tidak bisa memastikan bahwa bakteri benar-benar mati (Agape, 2019).

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan secara *in vivo* untuk dapat menentukan aplikasi klinis dari air perasan jeruk nipis. Dengan penelitian tersebut dapat diketahui farmakokinetik, farmakodinamik, efek toksik, efek samping, dan

lama penyimpanan efektif yang efektif dari air perasan jeruk nipis. Diharapkan bahwa penelitian lebih lanjut akan menawarkan alternatif untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

4.4 Kajian Keislaman

Allah SWT telah menciptakan alam semesta beserta isinya dengan aturan-aturan yang telah ditetapkan, sehingga manusia hendaknya dapat memahami alam sebagaimana mestinya, sesuai dengan *sunatullah*. Allah SWT sebagai Tuhan pencipta alam yang telah menyediakan tumbuhan-tumbuhan yang salah satu peruntukannya yaitu sebagai obat, seperti penggunaan air perasan jeruk nipis dalam penelitian ini yang telah terbukti memiliki khasiat sebagai antibakteri.

Islam tidak hanya menganjurkan untuk berikhtiar dalam berobat ketika sakit, tetapi disisi lain alam juga telah menyediakan solusi atas sakit itu sendiri. Alam menyediakan tumbuh-tumbuhan yang dapat dijumpai di sekitar dengan mudah dengan ketersediaannya yang berlimpah, sehingga dapat dimanfaatkan secara berkelanjutan. Berusaha mencari solusi dalam permasalahan terkait kesehatan melalui penelitian ini selaras dengan perintah Allah untuk merubah keadaan dengan usaha dari diri sendiri, dalam Q.S Ar-Ra'd (13): 11 Allah berfirman:

إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّى يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ ۚ

Artinya: “.... Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri....” (Q.S Ar-Ra'd (13): 11).

Ditafsirkan dalam Al-Misbah oleh Quraish Shihab bahwa sesungguhnya Allahlah yang memelihara kalian. Allah tidak akan mengubah nasib suatu bangsa dari kesusahan menjadi kegembiraan atau dari kekuatan menjadi kelemahan sebelum mereka mengubah diri mereka sendiri sesuai dengan apa yang akan mereka alami. Sebagai manusia yang beriman dan berakal, sudah semestinya bagi manusia untuk berusaha mencari jalan keluar yang terbaik. Pencarian terhadap kandidat antibakteri menggunakan beberapa parameter pengujian merupakan suatu usaha dalam mendukung kesehatan umat manusia. Kesakitan yang diberikan hendaknya diatasi dengan mencari obat dari sakit tersebut karena meskipun Allah adalah Maha Penyembuh, tetapi tidak akan ada kesembuhan kecuali terdapat usaha manusia untuk mencari penyembuh itu sendiri atas seizin Allah (Shihab, 2012).

Air perasan jeruk nipis berdasarkan penelitian ini berpotensi untuk digunakan sebagai antimikroba. Penggunaan antimikroba sebagai obat diharapkan dapat menekan kasus infeksi akibat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, sehingga dapat meningkatkan kesehatan masyarakat. Bahasan terkait masalah kesehatan dan perintah untuk menjaga kesehatan merupakan kajian yang mendasar dalam nilai-nilai ajaran Islam. Kesehatan yang baik akan menunjang peribadatan yang baik pula. Seperti yang dikutip dalam tulisan Hadawiyah (2023) bahwa jika kesehatan seseorang terganggu, hal itu akan menyebabkan aktivitas yang diperlukan untuk memenuhi kewajiban sebagai umat-Nya, baik *hablumnillah* maupun *hablumminnas* ikut terganggu. Penyakit dapat mempengaruhi seluruh tubuh seseorang, termasuk otaknya. Oleh karena itu, kesehatan lahir batin sangat penting untuk menjalankan aktivitas keseharian.

Usaha untuk mencari kandidat antibakteri yang tepat dalam penelitian ini sesungguhnya tidak terlepas dari suatu bentuk tanggung jawab manusia sebagai khalifah, Firman Allah SWT dalam Q.S Al-Baqarah (2): 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۖ قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَن يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ

Artinya: “Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: “Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi”. Mereka berkata: “Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?” Tuhan berfirman: “Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.” (Q.S Al-Baqarah (2): 30).

Penjelasan manusia sebagai khalifah dalam tafsir Al-Misbah (Shihab, 2012) yaitu kata “*Khalifah*” hanya merupakan “pengganti” yang menggantikan atau datang sesudah siapa yang datang sebelumnya. Mereka bertanggung jawab untuk menggantikan Allah dalam menjalankan kehendak-Nya dan menerapkan aturan-aturannya untuk mengelola bumi dengan segenap potensi yang diberikan. Status manusia sebagai khalifah di bumi artinya manusia memiliki tugas dan tanggung jawab sebagai dalam penjagaan dan pelaksana. Salah satu tanggung jawab manusia sebagai pelaksana yaitu memanfaatkan dan mengoptimalkan segala potensi yang dimiliki untuk memberikan kemaslahatan di muka bumi. Salah satu bentuknya yaitu dengan melakukan kegiatan penelitian.

Penelitian uji aktivitas antibakteri ini merupakan salah satu bentuk menjalankan tugas manusia dalam memberikan kemaslahatan melalui pencarian kandidat antimikroba yang dilakukan secara *in vitro* dengan tujuan untuk mengatasi

masalah-masalah yang ditimbulkan dari antibiotik sebelumnya. Air perasan jeruk nipis melalui kegiatan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan potensinya sebagai kandidat antibakteri yang cukup baik. Meskipun masih perlu dilakukan pengoptimalan sehingga dapat menggantikan antibakteri yang telah beredar di pasaran dengan efektivitas yang lebih baik.

Penelitian ini juga merupakan pengingat kepada manusia terkait pentingnya peran alam dalam kehidupan. Allah sudah menciptakan segala yang tersedia di alam seperti tumbuh-tumbuhan dan dapat dimanfaatkan oleh manusia demi keberlangsungan. Oleh karena itu, sebagai khalifah Allah di muka bumi ini, manusia tidak hanya bertugas beribadah (*ibadatullah*) tetapi juga memakmurkan bumi (*imaratul ardh*), sehingga manusia bertanggung jawab dalam penjagaan dan pemeliharaannya.

Manusia harus menjaga dan mengelola alam secara berkelanjutan. Artinya, pemanfaatan terhadap alam harus tetap memperhatikan ketersediaannya di masa mendatang. Oleh karena itu, segala aktivitas yang menyebabkan kerusakan terhadap alam merupakan bentuk pengingkaran terhadap ciptaan Allah dan kelalaian manusia akan tanggung jawabnya sebagai khalifah. Kewajiban manusia sebagai khalifah untuk menjaga alam membuktikan bahwa ajaran islam menunjukkan perhatian yang sangat besar terhadap ekologis dan lingkungan hidup.

Pemanfaatan air perasan jeruk nipis sebagai salah satu bentuk tugas manusia sebagai khalifah untuk menyelesaikan masalah terkait antibakteri konvensional hendaknya didasari atas kaidah-kaidah yang berlaku sesuai dengan syariat Islam.

Kaidah fihiyyah yang mendasari penggunaan air perasan jeruk nipis sebagai antibakteri yaitu:

أن الأصل في الأشياء المخلوقة الإباحة حتى يقوم دليل يدل على النقل عن هذا الأصل

“Sesungguhnya hukum asal dari segala ciptaan adalah mubah, sampai tegaknya dalil yang menunjukkan berubahnya hukum asal ini.”

Berdasarkan kaidah fihiyyah serta diperkuat oleh pendapat ulama, penulis menyimpulkan bahwa tidak ada larangan pemanfaatan air perasan jeruk nipis sebagai antibakteri selama itu tidak mengandung kemudharatan. Apalagi, air perasan jeruk nipis dalam penelitian ini telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri, sehingga berpotensi digunakan sebagai alternatif antibakteri konvensional untuk menekan kasus infeksi akibat mikroba dengan resiko resistensi yang rendah. Akan tetapi, kajian terkait efek samping yang ditimbulkan harus terlebih dahulu melalui proses penelitian yang panjang sebelum dapat digunakan secara bebas.

Penelitian air perasan jeruk nipis ini mendapatkan hasil konsentrasi yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Membahas terkait pentingnya konsentrasi yang tepat dalam efektivitas air perasan jeruk nipis sebagai antibakteri Allah dalam Q.S Al-Qamar (54): 49 telah berfirman yaitu:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: *“Sungguh, Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran”* (Q.S. Al-Qamar (54): 49).

Menurut Al-Misbah (Shihab, 2002), Allah menciptakan segala sesuatu

dengan ukuran yang sesuai dengan hikmah dibaliknya. Sedangkan dalam tafsir Al-Maragi disebutkan ayat ini menunjukkan bahwa semua yang ada di dunia ini diciptakan dan diatur oleh Allah SWT sesuai dengan hikmah-Nya yang maha bijaksana dan aturan-Nya yang menyeluruh, serta sesuai dengan sunnah-Nya yang Dia berikan kepada makhluk-Nya. Ini menunjukkan bahwa ada ukuran dalam kehidupan manusia karena Allah SWT juga menggunakan matematika dalam penciptaan (Al Maragi, 1989).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji difusi sumuran menunjukkan dari 4 variasi konsentrasi (25%, 50%, 75%, dan 100%) diperoleh diameter zona hambat berkisar 8,11-15,54 mm (kuat) terhadap *E. coli* dan 4,79-18,89 mm (kuat) terhadap *S. aureus*. Konsentrasi tertinggi (100%) menunjukkan nilai zona hambat yang paling besar. Efektifitas antibakteri air perasan jeruk nipis paling baik yaitu terhadap bakteri Gram positif.
2. Nilai KHM yang diperoleh terhadap *E. coli* dan *S. aureus* berturut-turut yaitu 75% dan 50%.
3. Nilai KBM yang diperoleh terhadap *E. coli* dan *S. aureus* berturut-turut yaitu 100% dan 75%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan yaitu dilakukannya penambahan variasi konsentrasi yang lebih banyak dalam pengujian KHM dan KBM serta bandingkan dengan beberapa jeruk lain. Selain itu, perlu dilakukan pengujian kandungan senyawa aktif agar diketahui jumlah pasti kandungan senyawa aktif dalam air perasan jeruk nipis. Serta dilakukan uji in vivo agar dapat diketatahui aplikasi klinis yang dapat dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah M, Pratiwi D, Suswati I. 2013. Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) terhadap *Salmonella typhi* secara *in Vitro*, *Ejournal UMM*, 9 (2): 110-115.
- Agape, Grecella Janeta. 2019. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Agoes A., 2010. *Tanaman Obat Indonesia*, Salemba Medika, Jakarta.
- Aldi A.T. 2016. Efektivitas Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan NaOCl 5,25% Sebagai Alternatif Larutan Irigasi Saluran Akar dalam Menghambat Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Skripsi*. Diterbitkan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Allison, D. G., & Lambert, P. A. 2015. Modes of Action of Antibacterial Agents. *Molecular Medical Microbiology*.
- Al-Maragi, Ahmad Mustafa. *Tafsir Al-Maragi, terj. Bahrin Abubakar et al.* Semarang: PT. Toha Putra.
- Anggraini, W., Nisa, S. C., Ramadhani, R., & Ma'arif, B. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 5(1): 61-66.
- Anidyo, Hanif Satrio. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
- Apleblat, Alexander. 2014. *Citric acid*. Springer.
- Arian, A. *et al.* 2019. 'Chemical and Microbiological Quality of Traditional and Industrial Lime Juice Produced in Kashan, Iran', *Journal of Nutrition and Food Security*, 4(4), pp. 272–278.
- Ashok PK, Upadhyaya K. 2012. Tannins are Astringent, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. No: 8192, Uttarakhand, India <https://www.phytojournal.com>.
- As-Sa'di, Syaikh Abdurahman bin Nashir. 2012. *Taisir Al-Karim Ar-Rahman Fi Tafsir Kalam Al-Mannan*. Jakarta: Darul Haq.
- Astarini. 2010. Minyak Atsiri dari Kulit Buah *Citrus grandis*, *Citrus aurantium* (L.) dan *Citrus aurantifolia* (Rutaceae) sebagai Senyawa Antibakteri dan Insektisida. *Prosiding Kimia FMIPA*, ITS, Surabaya.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2019. *Tanaman Obat: Warisan Tradisi Nusantara untuk Kesejahteraan Rakyat*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.

- Berlian, Zainal., Awalul Fatiqin., & Eka Agustina. 2016. Penggunaan Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* pada Bahan Pangan. *Jurnal Bioilmi*, 2(1): 51-58.
- Bhardwaj, A. (2014). Reactive Species Contribute to Antibiotic-Mediated Killing. *Science Translational Medicine*, 6(238).
- Bhaskara, I. B. M., Budiasa, K., & Tono, K. (2012). Uji kepekaan *Escherichia coli* sebagai penyebab kolibasilosis pada babi muda terhadap antibiotika oksitetrasiklin, streptomisin, kanamisin, dan gentamisin. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(2), 186- 201.
- Bintari S., Maftuhah A., Mustikaningtyas D. 2015. Pengaruh Infusa Daun Beluntas (*Pluchea indica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Unnes Journal of Life Science* 4 (1): 60-65.
- Bodhi, W., Lombogia, B., & Budiarto, F. (2016). Uji daya hambat ekstrak daun lidah mertua (*Sansevieriae trifasciata folium*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus* sp. *eBiomedik*, 4(1).
- Brooks G.F., Carroll K.C., Butel J.S., Morse S.A., Mietzner T.A. 2013. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition*. The McGraw-Hill Companies: America.
- Cahaya, Widya. 2011. *Al-Quran dan Tafsirnya*. Jakarta: Ikrar Mandiriabadi.
- Carolia N., Noventi W. 2016. Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) sebagai alternatif terapi Acne vulgaris. *Jurnal Majority*, 5 (1), 140-145.
- Cetin, H. (2011). Evaluation of Antimicrobial Phenolic Compounds Against FoodBorne Phatogen, University of Kentucky.
- Chamidah, A., Hardoko, H., & Prihanto, A. A. 2017. Antibacterial Activities of β -glucan (laminaran) Against Gram-negative and Gram-positive Bacteria. *AIP Conference Proceedings*. 1844(1).
- Chen, C. Y., Nace, G. W., & Irwin, P. L. 2017. A 6x6 drop plate method for simultaneous colony counting and MPN enumeration of *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli*. *Journal of Microbiological Methods*, 55(1), 475-479.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1), 37-54.
- Dermawan D., 2015. *Farmakologi untuk Keperawatan*, Gosyen Publishing, Yogyakarta.
- Dewi, K. E. K., Habibah, N., & Mastra, N. (2020). Uji daya hambat berbagai konsentrasi perasan jeruk lemon terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 9(1), 86-93.
- Effendi, F., Roswiem, A. P., & Stefani, E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4(2).
- Eloff, J. N. 2019. Avoiding Pitfalls in Determining Antimicrobial Activity of Plant Extracts and Publishing the Results. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 19.
- Endris, Atma. 2020. *Bertanam Jeruk Nipis dalam Pot: Buku 3*. Yogyakarta: Hikam Pustaka.

- Fajriani dan Mahrum. 2015. Effectiveness of Lime (*Citrus aurantifolia*) Extract Solution in Inhibiting Bacteria *Streptococcus Mutans* Case of Early Childhood Caries. *Donnish Journal of Dentistry and Oral Hygiene*, Vol.1 (4): 016-020.
- Firdaus, M. R., Putra, A. E., & Abdiana. 2021. Potensi Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus gasseri* terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*. 1(3).
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. 2019. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *SAINTEKS*. 16(2): 101-108.
- Garcia A., Montemayor N.E.S., Trevino E.E., Gonzalez E.G., Alvarez L., Corona M.R.C., 2012. Chemical Compotition of Hexane Extract of *Citrus aurantifolia* and Anti-*Myobacterium tuberculosis* Activity of Some of Its Constituents, *Molecules*, 17, 11173-11184.
- Ghafar, Abd M. Fadlinizal; Prasad, K. Nagendra; Weng, K. Kin; dan Ismail, Amin. 2010. *Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species*. Malaysia: African Journal of Biotechnology.
- Hadawiah, Rabiah Tul. 2023. Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Perak Pegagan (*Centella asiatica* L.) Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon. 2019. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*. 1(2).
- Hammadi, A. A., & Al-Mousawi, M. R. (2021). Cloning of DNA: A Review. *Scientific Journal of Medical Research*. 5(20): 130-134.
- Harifa, F. (2023). *Uji Daya Hambat Minyak Nilam (Pogostemon cablin Benth.) Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans secara In Vitro* (Doctoral dissertation, Universitas Andalas).
- Hindun, S., Rusdiana, T., Abdasah, M., & Hindritiani, R. (2017). Potensi Limbah Kulit Jeruk Nipis (*Citrus auronfolia*) Sebagai Inhibitor Tirosinase. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 64-69.
- Huda, M. (2017). Pengaruh madu terhadap pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*). *Jurnal Analis Kesehatan*, 2(2), 250-259.
- Ifora, I., Efelzita, D., Bellatasie, R., & Uyun, H. S. K. (2023). Antifungal Potential of Purified Gambier (*Uncaria gambir* Roxb.). *Int J Pharm Sci Med*, 8(2), 40-43.
- Ikhsan, N. 2014. Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Kematian Larva Aedes sp. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
- Intan, Karlina., Aliansy Diani., & Aeni Suci Rizki Nurul. 2021. Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*). *Jurnal Kesehatan Perintis*, 8 (2): 121-127.

- Islam, M. A., Kabir, S. M. L., & Seel, K. 2016. Molecular Detection and Characterization of *Escherichia coli* Isolated from Raw Milk Sold in Different Markets of Bangladesh. *Bangladesh Society for Veterinary Medicine*. 14(2): 271-275.
- Izza, Enggar Alfiana & Lina Oktavia Rahayu. 2020. Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Purut, (*C. hystrix*), Jeruk Nipis (*C. aurantifolia*), dan Jeruk Lemon (*C. limon*) pada *S. pyogenes*. *Ejournal AFPIM*, 1-8.
- Jamilatun, M. (2019). Uji Resistensi Antibiotik *Staphylococcus aureus* Isolat Kolam Renang. *Biomedika*, 12(1), 1-8.
- Kustyawati, Maria Erna., Sartika Dewi., Utomo., & Tanto Pratondo 2023. Resistensi Antibiotik Isolat *Escherichia coli* dari Sekum Broile Organik dan Broiler Organik. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 11 (1); 41-50.
- Lingga, A. R., Pato, U., & Rossi, E. 2015. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia Speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*, 2(2).
- Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A. V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., ... & Widmalm, G. (2020). Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS microbiology reviews*, 44(6), 655-683.
- Madduluri S., Rao K.B., Sitaram B. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(4): 679-684.
- Mahfudz. L. D., Sunarti, D., Kismiaty, S., Sarjana, T. A., & Maulana, H. N. 2021. *Pencegahan Penyakit Ternak Unggas*. UNDIP Press Semarang. Semarang.
- Mailoa MN 2014. Antimicrobial Activities of Tannins Extract from Guava Leaves (*Psidium Guajava* L) on Pathogens Microbial. *International Journal of Scientific & Technology Research*. Volume 3, Issue 1, Ambon ISSN: 2277-8616.
- Mansouri, M., Khayam, N., Jamshidiraf, E., Pourseif, T., Kianian, S., Mirzaie, A., Akbarzadeh, I. & Ren, Q. 2021. Streptomycin Sulfate–Loaded Niosomes Enables Increased Antimicrobial and Anti-Biofilm Activities. *Front Bioeng Biotechnol*. 9(745099).
- Manusama, L. 2015. Allah Dan Alam. *Kenosis: Jurnal Kajian Teologi*, Volume 1 Nomor 2: 187-203.
- Miksusanti. 2008. *Kajian Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Temu Kunci dan Aplikasinya dalam Film Edibel Antibakteri*. Proposal Disertasi. Diterbitkan, Fakultas Ilmu Teknologi Pangan IPB, Bogor.
- Mirnawati., Nur Mu'min., & Ummi Zahra. 2021. Uji Antiseptik Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*. *Al-Kimia*, 135-140.
- Musdalifah. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Insektisida Hayati Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Makasar, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Najiya, Uswatun Liza., Rohama., & Ahmad Hidayat. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Akar Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri

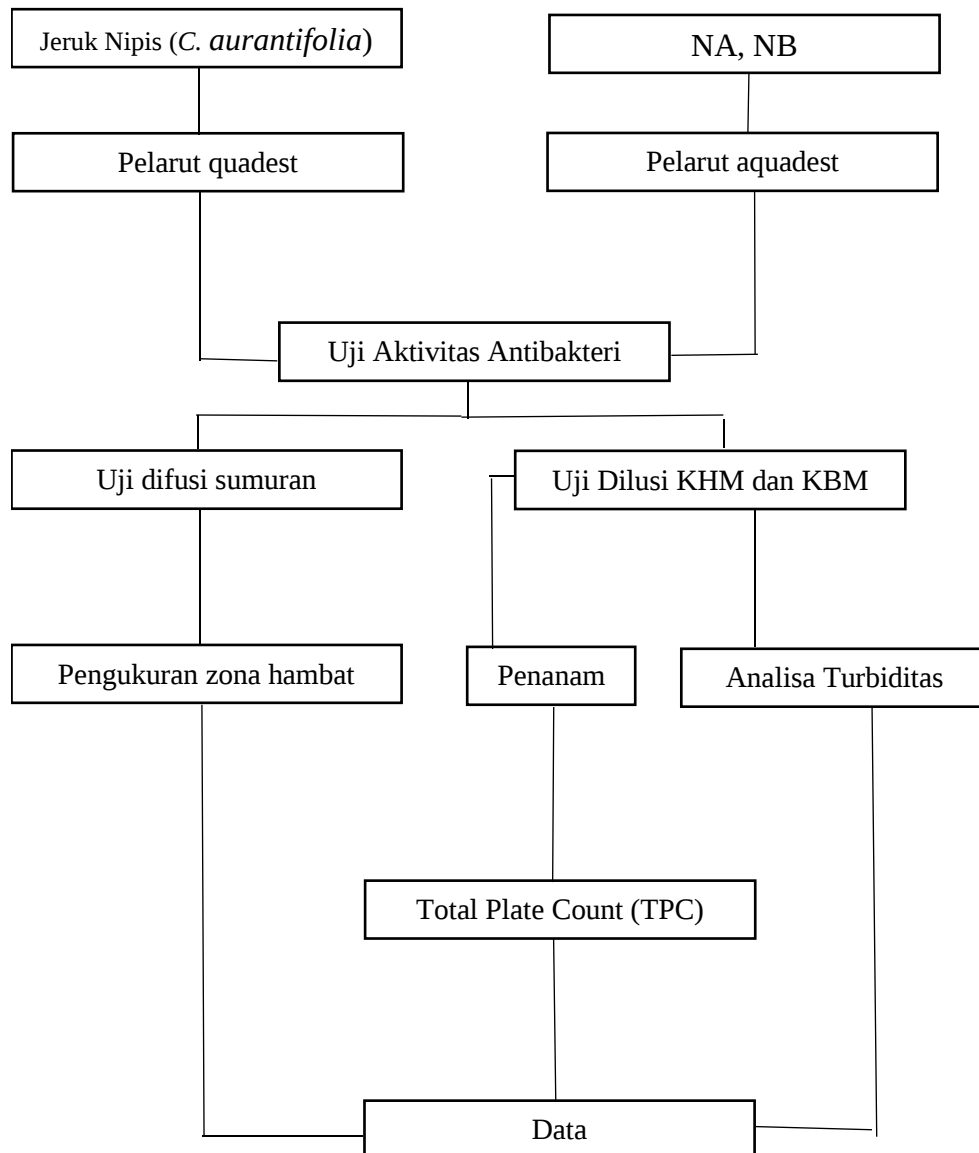
- Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Dilusi. *Jurnal Polanka*, 10(2022): 43-53.
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79(3), 629-661.
- Novaryatiin, Susi., Rezqi Handayani., & Rizqi Chairunnisa. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Umbi Hati Tanah (*Angiotepriis* Sp.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Surya Medika*, 3(2): 23-31
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- Nuryadi., Tutut Dewi Astuti., Endang Sri Utami., & M. Budiantara. 2017. *Dasar-dasar Statistik Penelitian*. Yogyakarta: Sibuku Media.
- Oikeh EI, Oriakhi K, Omoregie ES. 2015. Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. *Food Science and Nutrition*. DOI:10.1002/fsn3.268.
- Parama, P.W., Sukrama, I.D.M., Handoko, S.A. 2019. Uji efektifitas antibakteri ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* in vitro. *Bali Dental Journal* 3(1): 45-52.
- Patel P., Wermuth H.R., & Calhoun C., et al. 2023. *Antibiotics*. StatPearls.
- Pathan R.K., et al. 2012. In Vitro Antimicrobial Activity of *Citrus aurantifolia* and Its Phytochemical Screening, *Life Sciences Feed* 1 (2): 13-16, India.
- Pormes, Oktavianus., Damajanty H. C. Pangemanan., & Michael A. L. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bayam Petik (*Amaranthus hybridus* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *E-GiGi*, 4 (2).
- Pradani N.R. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia, Swinngle) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Jember.
- Pratiwi, Indah. 2024. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Buah Asam Kalimbawan (Sarcotheca Diversifolia (Miq) Hallier F) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli*. Skripsi. Fakultas Saintek Universitas Tanjung Pura, Pontianak.
- Putra D.P. 2012. *Cemaran Staphylococcus aureus pada Daging Ayam yang Dijual di Pasar-Pasar di Tangerang Selatan*. Skripsi. Diterbitkan, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Bogor.
- Putri, I. R. (2022). *Daya Hambat Ekstrak Daun Matoa (Pometia pinnata J. R & G. Forst) terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans secara In-Vitro* (Doctoral dissertation, Universitas Negeri Padang).
- Putriani, K., & Sugara, B. (2024). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia Catappa* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Innovative: Journal Of Social Science Research*, 4(1), 4178-4187.
- Puttie, Ivo Naretha. 2019. Efektivitas Pemberian Sari Jeruk Nipis Dan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dalam Menurunkan Angka Kuman di Lantai UGD RSUD Kota Madiun. *Skripsi*, Prodi Kesmas Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun.

- Rahardjo, A.H.D. 2012. Efektivitas Jeruk Nipis Dalam Menurunkan Bakteri *Salmonella* dan *Escherichia coli* pada Dada Karkas Ayam Broiler. *Jurnal Ijas* 2 (3): 91-94.
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. 2018. *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Resiko*. IPB Press.
- Ramadhinta, Talitha Maghfira., M Yanuar Ichrom Nahzi., & Lia Yulia Budiarti. 2016. Uji Efektivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Alami Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* In Vitro. *Jurnal Kedokteran Gigi*, 1(2): 124-128.
- Razak A, Djamal A, Revilla G. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2013; 2(1).
- Rizki, S. A., Latief, M., Fitrianiingsih, F., & Rahman, H. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-heksan, Etil asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *JAMBI MEDICAL JOURNAL" Jurnal Kedokteran dan Kesehatan"*, 10(3), 442-457.
- Rollando, Rollando., Yohan Susilo Adi Prasetyo., Rehmada Sitepu. 2019. Uji Antimikroba Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 23(2): 52-57.
- Sari, Devi Indah. 2021. Perasan Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) Menghambat Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Medik Veteriner*, 4(1): 63-71.
- Sari, M. 2012. Uji Efektivitas Aromaterapi Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Jumlah Bakteri Udara. *Jurnal*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.
- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. 2022. Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkokodok (*Melasthoma malabathricum*)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 7(2): 105-114.
- Setiawan E., Setyaningtyas T., Kartika D., Ningsih, D. R. 2017. Potensi Ekstrak Metanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Enterobacter aerogenes* dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Jurnal Kimia Riset*, 2(2), 108-117.
- Shihab, M. Quraish. 2005. *Tafsir Al-Misbah: pesan, kesan dan kerahasiaan Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Quraish. 2012. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Singh, S. B., Young, K., & Silver, L. L. 2017. What is an “ideal” Antibiotic? Discovery Challenges and Path Forward. *Biochemical Pharmacology*, 133.
- Soedarto, 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto.
- Soleha T.U. 2015. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik, *Juke Unila*, 5,9,119-123.
- Sunaryo, 2014. *Kimia Farmasi*, EGC, Jakarta.

- Suryadi, Y., Susilowati, D. N., & Samudra, I. M. 2022. Biosintesis Nanopartikel Perak (AgNP) Menggunakan *Bacillus firmus* E65 dan Aktivitasnya Terhadap Mikroba Pathogen. *Argointek*, 16(2).
- Thayyarah, N. 2013. *Sains dalam al-Qur'an*. Jakarta: Zaman.
- Thomas, Ayren., Djaja Rusmana., & Endang Evacuasiyany. 2022. Efek Antimikroba Oregano (*Origanum vulgare* L), JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* Swingle), KOMBINASINYA TERHADAP *Staphylococcus aureus*. *Prominentia Medical Journal*, 3(1): 28-41.
- Trianes, J., Bastian, & Hartati, D. 2022. Differences in Diameter of the Growth Inhibition Zone of *Klebsiella Pneumonia* Bacteria After Incubation at 37°C and 25°C. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*. 4(2): 120-127.
- Triyani, M. A., Pengestuti, D., Khotijah, S. L., Susilaningrum, D. F., & Ujilestari, T. (2021). Aktivitas Antibakteri Hand Sanitizer Berbahan Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Jeruk Nipis. *NECTAR: Jurnal Pendidikan Biologi*, 2(1), 16-23.
- Trombetta, D., Castelli, f., Sarpietro, M.G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., & Bisignano, G. (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(6), 2474-2478.
- Ventola, C. L. 2015. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277-283.
- Warokka, K. E., Wuisan, J., & Juliatri. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia steenis*) Sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 4(2).
- Wibaldus, A. J., & Ardiningsih, P. (2016). Bioaktivitas minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*citrus aurantifolia*) terhadap rayap tanah (*coptotermes* sp.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(1).
- Yanuhar U. 2016. *Mikroalga Laut Nannochloropsis oculata*. Malang: UB Press.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian

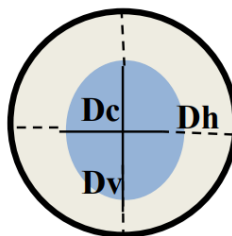
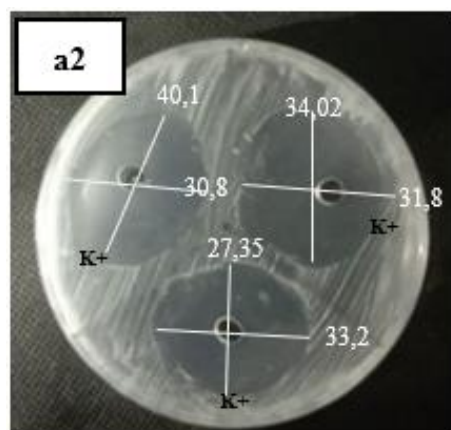


Lampiran 2. Data hasil uji Aktivitas antibakteri

L.2.1 Diameter Zona Hambat

No	Perlakuan	Spesies	Ulangan			Rata-rata	Kategori Daya
			U1	U2	U3		
1	Air Perasan Jeruk Nipis 25%	<i>E. coli</i>	9,55	6	8,8	8,11667	Sedang
		<i>S. aureus</i>	3,8	7,5	3,075	4,79167	Lemah
2	Air Perasan Jeruk Nipis 50%	<i>E. coli</i>	9,88	10,235	11,045	10,5583	Kuat
		<i>S. aureus</i>	11,35	12,9	11,045	11,765	Kuat
3	Air Perasan Jeruk Nipis 75%	<i>E. coli</i>	16,1	12,9	12,21	13,7367	Kuat
		<i>S. aureus</i>	15,9	16,75	14,7	15,7833	Kuat
4	Air Perasan Jeruk Nipis	<i>E. coli</i>	17,9	15,33	13,415	15,5483	Kuat
		<i>S. aureus</i>	17,7	21,9	17,08	18,8933	Kuat
5	K+ (Streptomycin)	<i>E. coli</i>	29,45	26,895	27,94	27,94	Sangat Kuat
		<i>S. aureus</i>	25,97	25,65	25,5883	25,5883	Sangat Kuat
6	K- (aquadest)	<i>E. coli</i>	0	0	0	0	Lemah
		<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	Lemah

Contoh perhitungan diameter zona hambat



$$\text{Rumus diameter zona hambat} = \frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Keterangan: DV (diameter vertical)

DH (diameter horizontal)

DC (diameter sumur 6 mm)

$$1. \frac{(40,1 - 6) + (30,8 - 6)}{2} = 29,45 \text{ mm}$$

L.2.2 Analisis Diameter Zona Hambat

1. Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

			Unstandardized Residual Ecoli	Unstandardized Residual Saureus
N			18	18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean		.0000000	.0000000
	Std. Deviation		8.76848236	8.83537045
Most Extreme Differences	Absolute		.148	.127
	Positive		.141	.114
	Negative		-.148	-.127
Test Statistic			.148	.127
Asymp. Sig. (2-tailed)			.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

2. Uji Homogenitas Levene

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DIAMETER ECOLI	Based on Mean	2.453	5	12	.094
	Based on Median	.734	5	12	.612
	Based on Median and with adjusted df	.734	5	7.187	.620
	Based on trimmed mean	2.289	5	12	.111
DIAMETER SAUREUS	Based on Mean	5.747	5	12	.066
	Based on Median	.736	5	12	.611

	Based on Median and with adjusted df	.736	5	4.885	.628
	Based on trimmed mean	4.969	5	12	.051

3. Uji ANOVA

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
DIAMETER ECOLI	Between Groups	1285.095	5	257.019	104.047	.000
	Within Groups	29.643	12	2.470		
	Total	1314.737	17			
DIAMETER SAUREUS	Between Groups	1315.845	5	263.169	107.182	.000
	Within Groups	29.464	12	2.455		
	Total	1345.309	17			

4. Uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*)

DIAMETER ECOLI					
Duncan ^a					
PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol negatif	3	.0000			
25%	3		8.1167		
50%	3		10.5583		
75%	3			13.7367	
100%	3			15.5483	
Streptomycin	3				27.9417
Sig.		1.000	.081	.183	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

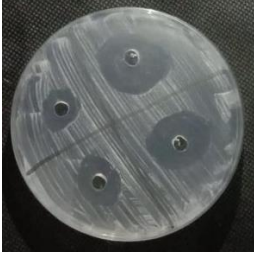
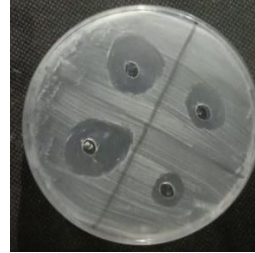
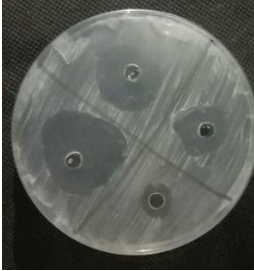
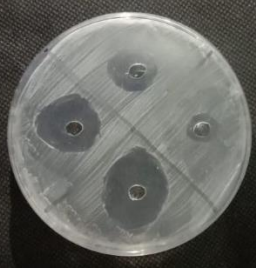
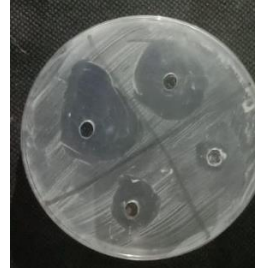
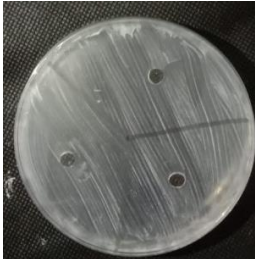
DIAMETER SAUREUSDuncan^a

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Kontrol negatif	3	.0000					
25%	3		4.7917				
50%	3			11.7650			
75%	3				15.7833		
100%	3					18.8933	
Streptomycin	3						25.5883
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

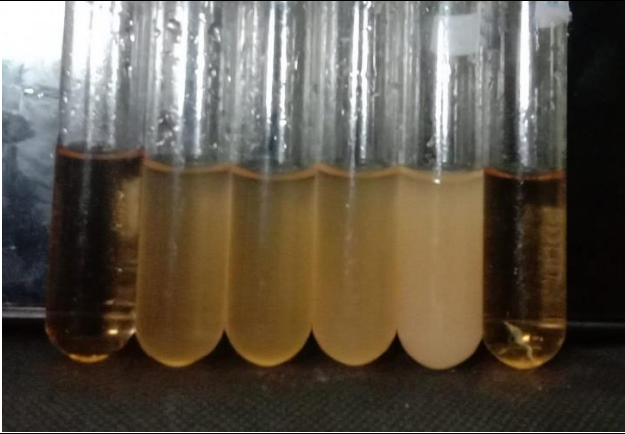
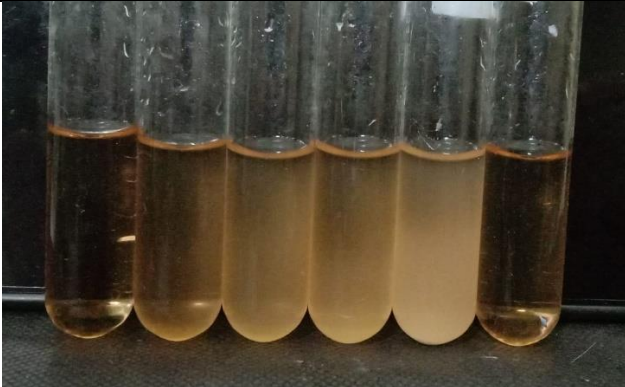
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

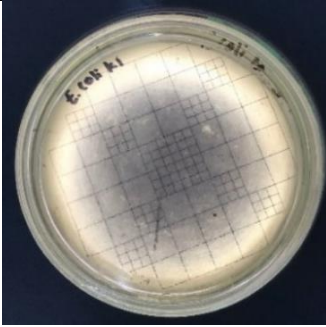
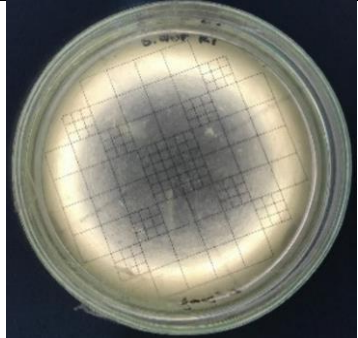
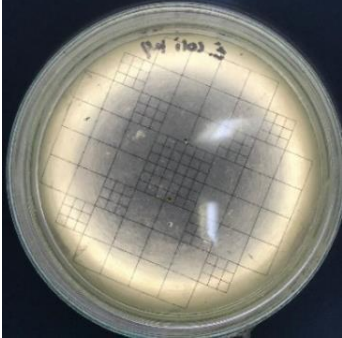
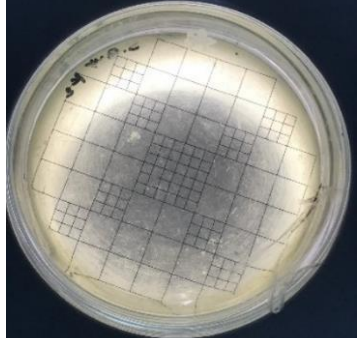
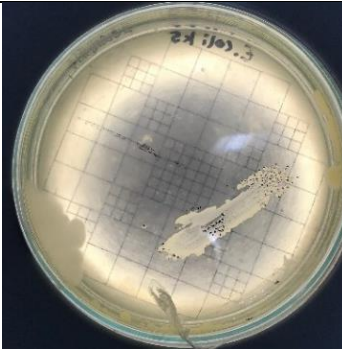
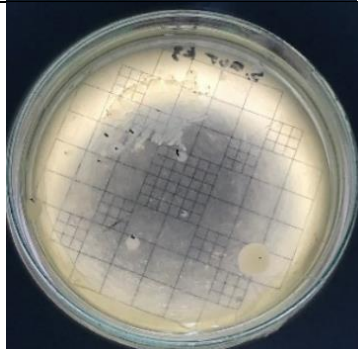
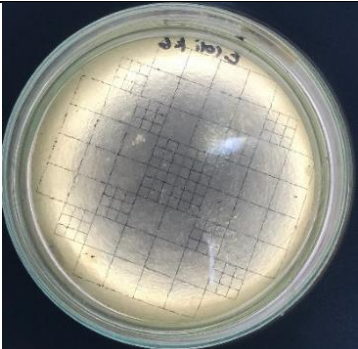
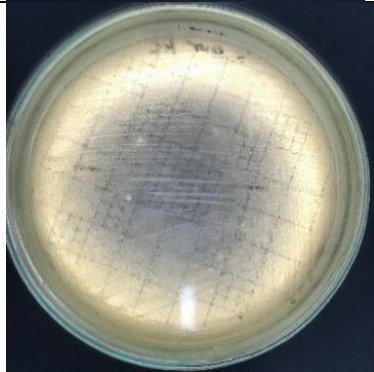
Lampiran 3. Gambar Pengamatan
L.3.1 Hasil Difusi Sumuran

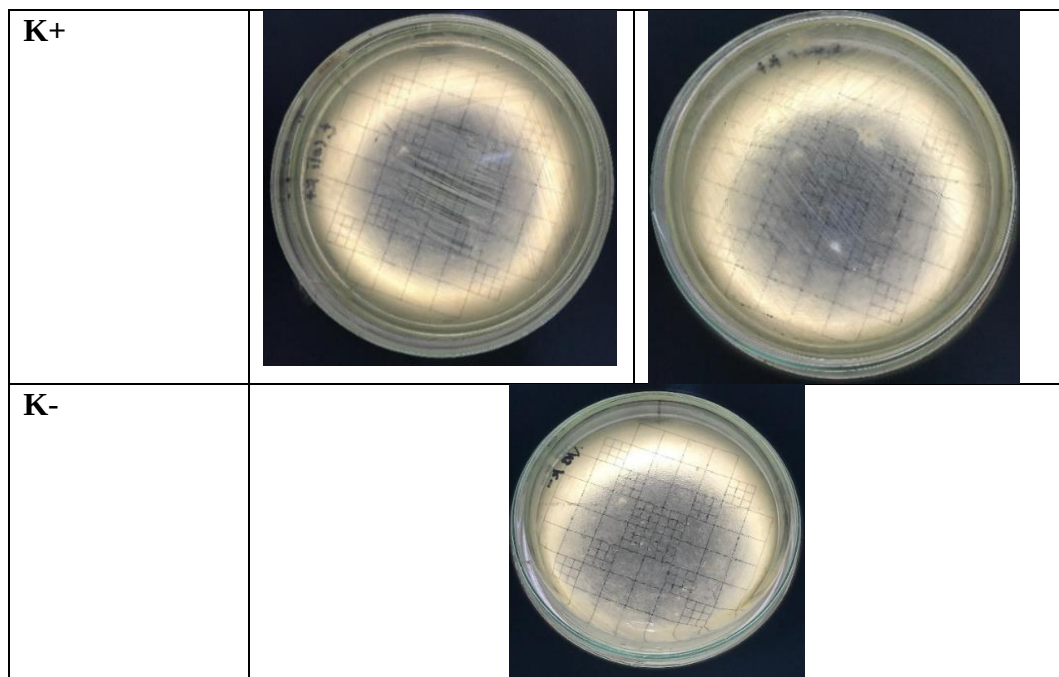
Sampel Uji	Mikroba Uji	Ulangan		
		1	2	3
Perasan Jeruk Nipis	<i>E. coli</i>			
	<i>S. aureus</i>			
Kontrol	<i>E. coli</i>			
	<i>S. aureus</i>			

L.3.2 Hasil KHM

No.	Mikroba Uji	Hasil KHM
1.	<i>E. coli</i>	
2.	<i>S. aureus</i>	

L.3.3 Hasil KBM

Sampel Uji	Gambar Pengamatan	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Nipis 100%		
Nipis 75%		
Nipis 50%		
Nipis 25%		



Contoh Perhitungan TPC

$$CFU = \sum \text{koloni per cawan} \times \frac{\text{faktor pengenceran}}{\text{volume}}$$

Bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi 75% (10^{-2}) terdapat 4 koloni $\rightarrow (4 \times 100) / 1 = 4 \times 10^2$ CFU/ml

Konsentrasi 50% (10^{-3}) terdapat 140 $\rightarrow (140 \times 1000) / 1 = 1,4 \times 10^5$ CFU/ml

Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi 50% (10^{-3}) terdapat 170 $\rightarrow (170 \times 1000) / 1 = 1,7 \times 10^5$ CFU/ml

Lampran 4. Foto Kegiatan Penelitian

Buah Jeruk Nipis



Isolat Murni Bakteri



Steptomycin



Peremajaan bakteri uji



Jangka Sorong



Swab suspensi pada agar Proses Inkubasi



Proses Peremajaan bakteri

Larutan McFarland Pembuatan Media



Penimbangan Media Uji antibakteri

Pengukuran zona hambat



JURNAL BIMBINGAN
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 200602110058
Nama : AYU ANGGRAINI
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Program Studi : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si.
Dosen Pembimbing 2 : Dr. UMAIYATUS SYARIFAH, MA.
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*
SECARA IN VITRO

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	20 Juni 2023	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Konsultasi judul penelitian beserta jurnal acuan	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
2	01 Februari 2024	Dr. UMAIYATUS SYARIFAH, MA	Menyerahkan naskah proposal untuk direvisi	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
3	02 Februari 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Bimbingan Naskah proposal dan revisi judul serta parameter penelitian	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
4	02 Februari 2024	Dr. UMAIYATUS SYARIFAH, MA	Revisi naskah proposal bab 1, 2, dan 3	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
5	05 Februari 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Revisi Naskah Proposal Bab 1, 2, dan 3	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
6	12 Februari 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Koreksi naskah final proposal dan acc naskah	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
7	12 Februari 2024	Dr. UMAIYATUS SYARIFAH, MA	Koreksi dan revisi naskah final skripsi dan acc	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
8	04 Maret 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Seminar Proposal	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
9	12 Juli 2024	Dr. UMAIYATUS SYARIFAH, MA	Bimbingan bab 4-5	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
10	15 Juli 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Bimbingan skripsi bab 4-5	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
11	22 Juli 2024	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Revisi Bab 4-5 dan ACC naskah	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
12	26 Juli 2024	Dr. UMAIYATUS SYARIFAH, MA	Revisi Bab 4-5 dan ACC naskah	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi



Telah disetujui
untuk mengajukan ujian Skripsi

Malang, 26 Juli 2024

Dosen Pembimbing I

Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2007

Dosen Pembimbing II

Dr. Umaiyatus Syarifah, MA
NIP. 19820925 200901 2 005



Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evla Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Ayu Anggraini

NIM : 200602110058

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)
terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*
secara *In Vitro*

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	19%	



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi


Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002