

Aktivitas Antibakteri Partisi n-Heksan Etil Asetat Metanol Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Terhadap *Staphylococcus aureus*

Antibacterial Activity of n-Hexane Ethyl Acetate Methanol Grapefruit Leaves (*Citrus maxima*) Partition Against *Staphylococcus aureus*

Riza Amalia¹, S.Slamet², Urmatul Waznah³

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, Jl. Ambokembang No.8 Kedungwuni, Kabupaten Pekalongan, Indonesia

*E-mail: rizaamalia2305@gmail.com

*No. HP: +6288238363067

ABSTRACT

Infectious diseases can be caused by bacteria. Grapefruit leaves (*Citrus maxima*) have active compounds that can be used to inhibit bacterial growth. This study aims to determine the antibacterial inhibition of n-hexane partition, ethyl acetate and ethanol of grapefruit leaves (*Citrus maxima*) against *Staphylococcus aureus* bacteria. The design of this study uses experimental methods. The antibacterial activity test results of n-hexane partition at a concentration of 10% is 8.56 mm, 20% is 9.66 mm, 40% is 11.00 mm and 60% is 11.60 mm. Antibacterial activity test results from the ethyl acetate partition at a concentration of 10% is 10.90 mm, 20% is 11.61 mm, 40% is 12.98 mm and 60% is 13.95 mm. The results of antibacterial activity test from the methanol partition at a concentration of 10% is 11.55 mm, 20% is 12.35 mm, 40% is 13.47 mm and 60% is 14.53 mm. The results of this study shows that there are significant differences of each concentration. The conclusion of this study shows that the n-hexane, ethyl acetate and methanol partition of grapefruit leaves (*Citrus maxima*) have a relatively weak inhibitory response to the growth of the *Staphylococcus aureus*.

Keywords: bali orange leaves (*Citrus maxima*), partitioning, antibacterial, inhibition.

ABSTRAK

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri. Daun jeruk bali (*Citrus maxima*) mempunyai senyawa aktif yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat antibakteri partisi n-heksan, etil asetat dan etanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Desain penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Hasil uji aktivitas antibakteri dari partisi n-heksan pada konsentrasi 10% yaitu 8,56 mm, 20% yaitu 9,66 mm, 40% yaitu 11,00 mm dan 60% yaitu 11,60 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri dari partisi etil asetat pada konsentrasi 10% yaitu 10,90 mm, 20% yaitu 11,61 mm, 40% yaitu 12,98 mm dan 60% yaitu 13,95 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri dari partisi metanol pada konsentrasi 10% yaitu 11,55 mm, 20% yaitu 12,35 mm, 40% yaitu 13,47 mm dan 60% yaitu 14,53 mm. Hasil analisis penelitian ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan dari masing-masing konsentrasi. Kesimpulan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai respon daya hambat yang relatif lemah.

Kata Kunci: daun jeruk bali (*Citrus maxima*), partisi, antibakteri, penghambatan

PENDAHULUAN

Jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan, salah satunya digunakan sebagai antibakteri adalah tumbuhan jeruk bali (*Citrus Maxima*). Umumnya tumbuhan *Citrus Maxima* dikenal sebagai jeruk bali. Kandungan senyawa kimia daun jeruk bali diantaranya seperti flavanoid, alkaloid, fenol, steroid, triterpenoid dan saponin (Azizah, Afghani

dan Harlia, 2015).

Salah satu permasalahan yang terjadi di negara tropis yaitu infeksi sebagai penyumbang nomor satu angka morbiditas dan mortalitas. Penyakit infeksi adalah suatu keadaan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, kemudian berkembang biak dan menimbulkan penyakit (Dwidjoseputro, 1994). Penyebab dari penyakit infeksi ini yaitu dapat disebabkan

oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus dan jamur atau parasit (WHO, 2014).

Salah satu bakteri yang mengakibatkan penyakit infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan salah satu jenis bakteri Gram positif yang berbentuk bulat. Bakteri ini merupakan bakteri patogen bagi manusia. (Tuntun, 2016).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk meneliti daun jeruk bali. Selanjutnya daun jeruk bali dibuat dalam partisi n-Heksan, etil asetat dan metanol untuk dilakukan uji aktivitas antibakteri pada bakteri penyebab infeksi yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*. Sehingga peneliti tertarik untuk meneliti daun jeruk bali dengan judul penelitian “Uji Aktivitas Antibakteri Partisi n-Heksan, Etil Asetat dan Metanol Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*”.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan yaitu *rotary evaporator*, mikropipet, jangka sorong, inkubator, LAF/ *Laminar air flow*, magnetic stirrer dan autoklaf.

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu bakteri uji *Staphylococcus aureus*, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), tetrasiklin, aquades steril, Aqua Pro Injeksi (API), dimetil sulfoksida (DMSO), NaCl 0,9%, partisi daun jeruk bali, NaOH 1N, serbuk magnesium, FeCl₃ 1%, HCl 2N, aquades, etanol 96%, metanol, n-Heksan, etil asetat, pereaksi Dragendrof, pereaksi Mayer dan H₂SO₄.

Metode

1. Determinasi Tanaman

Tanaman jeruk bali yang digunakan pada penelitian ini dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang, Jawa Tengah.

2. Pengolahan Simplisia

Daun jeruk bali yang telah dikumpulkan, dilakukan sortasi terlebih dahulu kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dibawah sinar matahari langsung dengan ditutupi kain hitam. Setelah kering daun disortasi kembali lalu dihaluskan dan diayak dengan ayakan nomer 40 mesh. Selanjutnya serbuk

simplisia ditimbang dan di uji kadar air.

3. Ekstraksi Daun Jeruk Bali (*Citrusmaxima*)

Ekstraksi daun jeruk bali menggunakan metode maserasi selama 5 hari dan menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan remaserasi selama 3 hari, filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator. Selanjutnya diuapkan kembali menggunakan waterbath untuk menghasilkan ekstrak yang lebih kental lalu ekstrak kental ditimbang dan di uji kadarairnya.

4. Partisi n-Heksan, Etil Asetat dan Metanol

Partisi dilakukan dengan cara ekstrakentaldaun jeruk bali (*Citrus maxima*) yang didapatkan, dilakukan partisi untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutannya pada pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Pelarut yang digunakan yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol. Partisi dilakukan dengan cara ekstrak kental dilarutkan dengan dalam corong pisah, kocok sampai tercampur kemudian didiamkan selama 24 jam. Pisahkan filtrat dan residu kemudian filtrat di uapkan di *rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dan zat terlarutnya, kemudian dihasilkan zat pekat dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 60°C menghasilkan partisi n-heksan, etil asetat dan metanol

5. Skrining Fitokimia

a. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram partisi sampel daun jeruk bali dimasukan dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 10 tetes HCl pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 gram serbuk Mg, sampel menunjukkan hasil positif jika terbentuknya warna merah coklat (Tarukbua, Edwin dan Widdhi,2018).

b. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram partisi sampel daun jeruk bali kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendroff setelah 30 menit amati perubahan yang terjadi. Sampel menunjukkan hasil positif jika terbentuk warna jingga (Bandiola, 2018).

c. Identifikasi Saponin

Sejumlah partisi sampel daun jeruk bali di masukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan air panas secukupnya, kemudian dikocok sampai terbentuk busa. Sampel menunjukkan hasil positif dengan adanya busa yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCL 2N menunjukkan adanya saponin (Purwati, Lumowo & Samsurianto, 2017).

d. Identifikasi Steroid

Partisi sampel daun jeruk bali dilarutkan ke dalam 0,5 mL kloroform dan ditambahkan dengan 0,5 mL anhidrida asetat. Kemudian tetesi campuran dengan 2 mL H₂SO₄ pekat lewat dinding tabung. Sampel menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau-biru menunjukkan adanya steroid (Setyowati dkk., 2014).

e. Identifikasi Fenol

Sebanyak 20 mg partisi daun jeruk bali ditambahkan dengan 10 tetes FeCl₃ 1%. Amati perubahan yang terjadi. Sampel menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru, dan hitam pekat positif mengandung fenol (Wijaya, 2014).

f. Identifikasi Triterpenoid

Sebanyak partisi sampel ditambahkan dengan kloroform kemudian disaring, filtrat ditambahkan dengan beberapa tetes asam sulfur, dikocok dan dibiarkan berdiri. Terbentuknya warna kuning keemasan atau warna merah coklat menunjukkan adanya senyawa triterpenoid (Bandiola, 2018).

6. Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi senyawa dilakukan dengan menggunakan fase gerak (eluen) yang sesuai dengan senyawa yang diuji. Fase gerak yang digunakan untuk uji flavonoid adalah n-butanol : asam asetat : air (7:1:2) dengan quersetin sebagai pembanding sedangkan untuk uji alkaloid n-heksan : etil asetat : etanol (9:0,6:0,4) dengan kafein sebagai pembanding dan fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF254. Kemudian hasil dideteksi pada sinar UV 254 nm dan pada sinar UV dan dihitung nilai

Rfnya.

7. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jeruk Bali (*Citrusmaxima*)

Uji aktivitas dilakukan dengan cara membuat lubang sumuran $\pm$ 8 mm untuk memasukkan partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, kontrol positif tetrasiklin dan kontrol negatif DMSO masing-masing sebanyak 100 μ l kedalam lubang sumuran kemudian dimasukkan kedalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam maka akan terbentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang diukur diameternya menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

Analisis data yang digunakan yaitu analisis secara *one-way ANOVA* Versi 16. Alternatif uji nonparametrik dari uji *one-way ANOVA* adalah uji Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis dilakukan pada pengujian dengan *one-way ANOVA* tidak memenuhi syarat seperti distribusi data tidak normal. Dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dengan α = 0,05 kemudian berdasarkan nilai $p < 0,05$. Analisis statistik ini dilakukan dengan bantuan program komputer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk untuk mengetahui identitas dan menetapkan kebenaran dari tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri pada tanaman yang disesuaikan dengan literatur. Berdasarkan hasil determinasi klasifikasi tanaman jeruk bali yang digunakan pada penelitian ini adalah berasal dari genus *Citrus* dengan spesies *Citrus maxima* (Burm.) Merr.

Pengolahan Simplisia

Berat simplisia basah yang didapatkan adalah sebesar 10 kg. Simplisia dari daun jeruk bali yang telah dicuci kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari menggunakan kain penutup berwarna hitam sampai kering. Berat simplisia setelah pengeringan adalah sebesar 3000 gram. Daun jeruk bali yang sudah dikeringkan dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kemudian dilakukan proses pengayakan menggunakan ayakan No.40 mesh. Hasil dari pengayakan didapat sebesar 2500 gram.

Ekstraksi Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Pembuatan ekstrak etanol daun jeruk bali dilakukan dengan metode maserasi dan remaserasi. Metode maserasi dipilih karena dapat dilakukan dengan mudah serta proses dan peralatan yang digunakan sederhana (Wibowo, 2013) yang sesuai dengan kandungan metabolit sekunder yang ada pada daun jeruk bali. Kandungan metabolit sekunder yang ada pada daun jeruk bali adalah flavanoid, alkaloid, fenol, steroid, triterpenoid dan saponin (Azizah, Afghani dan Harlia, 2015). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96% yang dapat menarik senyawa yang bersifat polar dan semi polar seperti senyawa flavanoid, alkaloid, fenol, steroid, triterpenoid dan saponin yang terkandung dalam daun jeruk bali. Proses maserasi dilakukan dengan merendam 2000 gram serbuk daun jeruk bali dengan pelarut etanol 96% (1:3) dengan pengadukan konstan. Residu yang didapat kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator dan waterbath pada suhu 60°C. Ekstrak yang didapatkan sebesar 250,20 gram dengan rendemen 12,51%.

Partisi n-Heksan, Etil Asetat dan Metanol

Dari ekstrak daun jeruk bali yang dipartisi sebanyak 70 g, didapatkan partisi n-heksan sebanyak 12,70 g, partisi etil asetat sebanyak 15,20 g dan partisi metanol sebanyak 40,58 g.

Skrining Fitokimia

Tujuan dilakukan skrining fitokimia pada penelitian ini adalah untuk mengetahui golongan atau kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dan dapat menjadi gambaran kandungan daun dan ekstrak secara kualitatif (Khoirani, 2013).

Hasil skrining fitokimia partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia.

Senyawa	Partisi n-heksan	Partisi etil asetat	Partisi Metanol
Flavonoid	-	-	+++
Alkaloid	+++	+++	++
Saponin	++	-	-
Steroid	-	+++	-
Fenol	+++	-	++
Triterpenoid	++	-	-

*Ket: (+++) sangat kuat (+) kurang kuat
(++) kuat

Kromatografi Lapis Tipis

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa golongan flavonoid menghasilkan bercak setelah dideteksi pada sinar UV 254 nm terlihat fluoresensi diatas latar belakang hijau dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi warna ungu dengan nilai R_f dari baku pembanding (quersetin), sampel metanol, etil asetat dan n-heksan berturut-turut yaitu 0,88; 0,88; 0,9; dan 0,91. Dari hasil KLT uji flavanoid, partisi yang mengandung flavanoid adalah partisi metanol. Karena dari hasil nilai R_f nya sama dengan baku pembanding dan sesuai dengan hasil skrining fitokimia pada tabel 1.

Sedangkan hasil identifikasi senyawa golongan alkaloid menghasilkan bercak setelah dideteksi pada sinar UV 254 nm terlihat fluoresensi diatas latar belakang hijau dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi warna ungu dengan nilai R_f dari baku pembanding (kaffein), sampel metanol, sampel etil asetat dan sampel n-heksan berturut-turut yaitu 0,52; 0,52; 0,53 dan 0,53. Dari hasil KLT uji alkaloid, partisi yang mengandung alkaloid adalah partisi metanol. Karena dari hasil nilai R_f nya sama dengan baku pembanding. Kemudian dilihat dari nilai R_f yang berdekatan kemungkinan partisi etil asetat dan n-heksan mengandung alkaloid dan sesuai dengan hasil skrining fitokimia pada tabel 1

Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Metode sumuran tersebut dapat mengidentifikasi pertumbuhan bakteri dipermukaan dan didalam media sehingga dapat menghasilkan efek yang kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Tahapan dalam uji aktivitas antibakteri antara lain:

1. Sterilisasi alat

Alat-alat gelas tersebut dibungkus dengan kertas lalu diikat dengan tali disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan untuk jarum ose dan pinset disterilisasi dengan cara dibakar diatas api langsung menggunakan spiritus.

2. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar

Sebanyak 5,4 gram lalu ditambahkan aquades steril 270 mL. Selanjutnya dipanaskan diatas magnetic stirrer, kemudian disterilkan dengan proses sterilisasi

menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian tuang kedalam cawan petri ± 30 mL sebanyak 9 cawan petri.

3. Pembuatan Standar Mc.Farland

Sebanyak 9,95 ml H₂SO₄ 1% ditambah 0,05 ml BaCl₂ 1% dicampur dan homogenkan. Kekeruhan suspensi bakteri uji samakan kekeruhan suspensi standar Mc. Farland 0.5.

4. Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebanyak 1 ose biakan murni ditambah 2 ml NaCl 0,9%. Bandingkan dengan kekeruhan standar 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. Farland mempunyai populasi 1,5 × 10⁸ CFU/ml) (Febrianti, 2019).

5. Pembuatan Seri Konsentrasi

Stok konsentrasi partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali divariasikan dengan pelarut DMSO sampai larut dan di addkan 10 ml Aqua Pro Injeksi masing-masing sebanyak 5 ml, dengan konsentrasi 10%, 20% dan 40% yang diambil dari larutan stok 60%.

6. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan menggunakan 3 kelompok yang terdiri dari partisi n-heksan, partisi etil asetat dan partisimetanol. Media yang digunakan yaitu media MHA. Uji aktivitas ini dilakukan dengan cara membuat lubang sumuran ± 8 mm untuk memasukkan partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, kontrol positif tetrasiklin dan kontrol negatif DMSO masing-masing sebanyak 100 µl kedalam lubang sumuran kemudian dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam maka akan terbentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Bakteri diinkubasi pada suhu 37°C karena pada suhu inilah bakteri mengalami fase pertumbuhan pada fase stasioner dimana pada fase ini laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan akan tetap (Niah R., 2018). Dari hasil pengukuran yang dilakukan didapatkan hasil yang menunjukkan partisi n-heksan daun jeruk bali konsentrasi 10% memiliki zona hambat minimum dengan rata-rata zona hambat sebesar 8,56 mm dan konsentrasi 60% memiliki zona hambat maksimal dengan rata-rata zona hambat sebesar 11,60 mm. Pada partisi etil asetat daun jeruk bali konsentrasi 10% memiliki

zona hambat minimum dengan rata-rata zona hambat sebesar 10,90 mm dan konsentrasi 60% memiliki zona hambat maksimal dengan rata-rata zona hambat sebesar 13,95 mm. Kemudian pada partisi metanol daun jeruk bali konsentrasi 10% memiliki zona hambat minimum dengan rata-rata zona hambat sebesar 11,55 mm dan konsentrasi 60% memiliki zona hambat maksimal dengan rata-rata zona hambat sebesar 14,53 mm. (Tabel2).

Tabel 2. Hasil Pengukuran Zona hambat

Kons (b/v)	Diameter zona hambat (mm)		
	n-Heksan X±SD	Etilasetat X±SD	Metanol X±SD
10%	8,56±0,61	10,90±0,36	11,55±0,83
20%	9,66±0,47	11,61±0,48	12,35±0,73
40%	11,00±0,40	12,98±1,09	13,47±0,72
60%	11,60±0,45	13,95±0,35	14,53±0,44
KP	27,15±0,35	27,25±0,40	27,38±0,61
KN	0±0	0±0	0±0

Berdasarkan Tabel 2 menunjukan bahwa partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) mempunyai aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media MHA. Aktivitas antibakteri pada partisi n-heksan, etil asetat dan methanol menunjukkan semakin besar konsentrasi semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan, dilihat pada konsentrasi 10% partisi n-heksan didapat hasil zona hambat 8,56mm dan pada konsentrasi 60% diperoleh hasil zona hambat 11,60 mm. Pada partisi etil asetat dilihat dari konsentrasi 10% diperoleh hasil zona hambat 10,90 mm dan pada konsentrasi 60% diperoleh hasil zona hambat 13,95 mm. Sedangkan partisi metanol dilihat pada konsentrasi 10% diperoleh hasil zona hambat 11,55 mm dan pada konsentrasi 60% diperoleh hasil zona hambat 14,53mm.

Hasil dari skrining fitokimia yang mempunyai kandungan kimia senyawa untuk antibakteri pada partisi metanol lebih banyak dibandingkan dengan partisi etil asetat dan n-heksan. Pada partisi etil asetat mempunyai kandungan kimia senyawa untuk antibakteri lebih banyak dibandingkan dengan partisi n-heksan. Sedangkan pada partisi n-heksan memiliki kandungan kimia senyawa untuk antibakteri lebih sedikit dibandingkan dengan partisi metanol dan etil asetat.

Selanjutnya dilakukan penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) untuk mengetahui konsentrasi minimum dari partisi

n- heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. KHM pada partisi n- heksan, etil asetat maupun metanol daun jeruk bali terdapat pada konsentrasi 10% b/v dimana pada konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Namun untuk penentuan titik efektif pada partisi n-heksan daun jeruk bali terdapat pada konsentrasi 40% b/v, partisi etil asetat daun jeruk bali terdapat pada konsentrasi 10% b/v dan pada partisi metanol daun jeruk bali terdapat pada konsentrasi 10% b/v. Dikarenakan pada konsentrasi tersebut merupakan titik konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lebih dari 10 mm dimaksudkan agar zona hambat dapat terlihat jelas dan lebih mudah untuk dibandingkan.

Senyawa yang berperan sebagai antibakteri meliputi senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan fenol. Kandungan senyawa yang ada didalam partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dapat mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Menurut Sudirman (2014) senyawa flavonoid dapat bekerja sebagai antibakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Menurut Geyid (2005) senyawa alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk antibakteri yaitu dapat memotong rantai dan mendenaturasi protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat menyebabkan rusaknya sel bakteri. Menurut Aryadi (2014) senyawa saponin dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu stabilitas membran sel sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, jadi kandungan saponin termasuk kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri. Menurut Aryadi (2014) senyawa fenol dapat bekerja sebagai antibakteri dengan merusak, meracuni propoplasma dan menembus dinding serta mengendapkan protein sel bakteri. Fenol juga dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri.

Pada penelitian ini menggunakan kontrol positif tetrasiklin. Dimana kontrol positif tetrasiklin dikatakan sensitif jika zona hambat yang dihasilkan ≥ 19 mm, intermediet 15-18 mm dan resisten ≤ 14 mm (Fitria, 2016).

Tetrasiklin ini dapat memberikan adanya zona hambat yang besar, hal ini mengindikasikan bahwa kontrol positif sangat berpengaruh dalam daya hambat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil daya hambat dari kontrol positif lebih besar dibandingkan dengan partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*). Salah satu faktor yang mempengaruhi terbentuknya zona hambat pada kontrol positif lebih besar dikarenakan tetrasiklin termasuk dalam antibiotik dengan spektrum luas, dimana antibiotik spektrum luas dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri golongan Gram positif maupun Gram negatif. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO. Hasil yang didapat dalam penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambat. Penggunaan DMSO sebagai kontrol negatif tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri.

Menurut Greenwood dalam Sudirman (2013), respon daya hambat antibakteri dapat diklasifikasikan pada tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi respon daya hambat

Diameter	Respon
<20mm	Kuat
16-19mm	Sedang
10-15mm	Lemah

Hasil penelitian menunjukkan bahwa respon uji daya hambat antibakteri partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* relatif lemah. Hal ini dapat diketahui bahwa hasil zona hambat pada penelitian ini memiliki daya hambat, tetapi masih dalam respon lemah untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan data yang didapat dari hasil pengukuran zona hambat masing-masing partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dilakukan analisis data menggunakan uji ANOVA tipe *OneWay* atau analisis varian satu arah. Digunakan uji ANOVA untuk menguji sebuah rancangan eksperimental dengan rancangan lebih dari dua. Uji ini termasuk dalam uji parametrik sehingga asumsi penggunaan uji parametrik harus dipenuhi yaitu data berdistribusi normal, varians homogen dan diambil dari sampel yang acak (Riwidikdo, 2008).

Kemudian hasil pengamatan zona hambat pada masing-masing partisi n-heksan, etil asetat dan metanol dilakukan analisis secara statistik dengan metode *OneWay ANOVA* menggunakan program SPSS dengan tingkat nilai signifikan ($p < 0,05$) dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Uji normalitas

No.	Sample	Sig.
1.	Partisi n-heksan	0,138
2.	Partisi etil asetat	0,537
3.	Partisi metanol	0,767

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan bahwa data yang dihasilkan yaitu normal dengan nilai signifikan $p > 0,05$, dapat dilihat hasil uji normalitas partisi n-heksan 0,138, uji normalitas partisi etil asetat 0,537 dan uji normalitas partisi metanol 0,767. Sehingga dari hasil data tersebut dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas.

Dilakukan uji homogenitas yaitu untuk menguji kesamaan varian dengan melihat homogenitas ketiga kelompok zat antibakteri yang diujikan diantaranya partisi n-heksan, etil asetat dan metanol. Asumsi homogenitas dalam uji *One Way ANOVA* dapat terpenuhi apabila nilai signifikasi $p > 0,05$ dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Uji homogenitas

No.	Sample	Sig.
3.	Partisi n-heksan	0,111
4.	Partisi etil asetat	0,074
3.	Partisi metanol	0,285

Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas terhadap data dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan mempunyai varian yang homogen atau sama, sehingga dapat dilanjutkan dengan ke uji *One Way ANOVA* karena telah memenuhi syarat untuk dilanjutkannya uji *One Way ANOVA*. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Uji *One Way ANOVA*

Sample	Sig
Partisi n-heksan	,000
Partisi etil asetat	,000
Partisi metanol	,000

Dari tabel 6 yang dilakukan diperoleh hasil uji nilai signifikan 0,000 hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari masing- masing konsentrasi partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*). Jika nilai signifikasi yang diperoleh kurang dari 0,05

menunjukkan adanya perbedaan dari masing-masing konsentrasi sampel dan zona hambat. Sehingga dapat dilanjutkan dengan ke uji *Tukey*.

Dari hasil uji *Tukey* yang dilakukan diperoleh hasil uji nilai signifikan lebih dari 0,05 hal ini sama dengan syarat uji *Tukey* yaitu nilai signifikan lebih dari 0,05 dinyatakan tidak berbeda.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) partisi n-heksan, etil asetat dan metanol daun jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 10%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryadi, I.G.A.I.P. (2014). Pengaruh Ekstrak Daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Sebagai Penyebab Abses Peridontal Secara *in vitro*. *Skripsi*. Universitas MahasaraswatiDenpasar.
- Azizah, Nur, Afghani Jayuska dan Harlia. (2015). Aktivitas Anti Rayap Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm. Merr.) Terhadap Rayap Tanah *Coptotermes* sp. *Jurnal*. Program Studi Kimia Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura. Vol 4(3):33-39.
- Bandiola, Teresa M.B. (2018). *Extraction and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants: A Brief Summary*. *School of Pharmacy, Far Eastern University Philippines. International Journal of Pharmacy*. 8(1): 137-143.
- Dwidjoseputro. (1994). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Djambatan.
- Fitria, Samialhuda Rahmawati. (2016). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Pepaya (Carica papaya) Terhadap Bakteri Streptococcus*

Pneumoniae dan *Vibrio cholerae*.
Skripsi. Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura.

- Geyid, A. (2005). *Screening of Some Medicinal Plants of Ethiopia for Their Antimicrobial Properties and Chemical Profiles*. *Journal of Ethnopharmacology* 97: 421-427.
- Greenwood, D., Slack, R.C.B., Peutherer J.F., dan Barrer M.R. (2007). *Medical Microbiology: A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control*. UK: Elsevier Health Sciences. Hal 261-265.
- Khoirani, Nur. (2013). Karakterisasi Simplisia Dan Standarisasi Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.). *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. Hal: 40-41.
- Niah Rakhmadhan. (2018). "Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Daun Karamunting (*Melastoma Malabathricum* L.) Terhadap *Salmonella Typhi*" *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, Vol.1 No.1: 113-121
- Purwati, Sri. Lumowa, S.V.T & Samsurianto. (2017). Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana camara* L) Sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama Dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Hortikultura Di Kalimantan Timur. *Biologi FMIPA Universitas Mulawarman. Jurnal*, 153- 158.
- Riwidikdo H. (2008). *Statistik Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Mitra Cendekia Press.
- Setyowati, W.A.E, Ariani SRD, Ashadi, M.B dan Rahmawati, CP. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. ISBN (979363175-0):271-280.
- Sudirman, T.A. (2014). Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Skripsi*. Makasar: Fakultas Kdokteran Gigi. Universitas Hasanudin
- Tarukbua, Yoma Seivia F, Edwin De Queljoe dan Widdhi Bodhi. (2018). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Hook F. & T) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal. Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado*.
- Tuntun, M. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan* 7 (3): 498-500.
- WHO. Maternal Mortality: World Health Organization; (2014).
- Wijaya, D.P, Paendong, J.E, & Abidjulu, J. (2014). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynium capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal MIPA UNSTRAT online*. 3(1), 11-15.