

Uji Efektifitas Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia.S*) Sebagai Hand Sanitizer Alami Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri**Testing The Effectiveness of Lime Juice (*Citrus aurantifolia.S*) as a Natural Hand Sanitizer Against The Growth Inhibitory of The Bacteria**Soeyati Poejiani¹¹Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, 6. E-mail: ucik.fk@ub.ac.id

Submisi: 28 Oktober 2022; 28 Desember 2022

ABSTRAK

Perasan jeruk nipis mengandung beberapa bahan aktif utama yang dapat berperan sebagai antibakteri meliputi flavonoid, asam sitrat, dan limonen. *Acinetobacter baumannii* adalah bakteri berbentuk batang tergolong bakteri Gram-negatif yang mempunyai sifat aerob, tidak bergerak atau non-motil. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efektifitas perasan jeruk nipis sebagai hand sanitizer alami terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram dimana aktifitas antibakteri dari perasan jeruk nipis ditentukan oleh konsentrasi hambat minimum (KHM). Variasi konsentrasi yang digunakan adalah 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 0% (kontrol negatif), dish Meropenem 10µg (kontrol positif). Berdasarkan penelitian diperoleh KHM perasan jeruk nipis pada konsentrasi 10%. Data pengujian zona hambat dianalisis menggunakan One Way Annova. Penelitian ini menunjukkan hasil, bahwa KHM perasan jeruk nipis pada konsentrasi 10% menunjukkan zona hambat 7,74 mm lebih luas dibandingkan antibiotik Meropenem 10µg dengan zona hambat 6 mm.

Kata kunci: Bahan Alami; *Acinetobacter baumannii*, pengganti sabun

ABSTRACT

Lime juice contains several main active ingredients that can act as antibacterial including flavonoids, citric acid, and limonene. *Acinetobacter baumannii* is a rod-shaped bacterium belonging to the Gram-negative bacteria which has aerobic, immobile or non-motile. This purpose of this study was to determine the effectiveness of lime juice as a natural hand sanitizer against the growth inhibition of *Acinetobacter baumannii* bacteria. The research used the disc diffusion method in which the bacterial activity of lime juice was determined by the minimum inhibitory concentration (MIC). Various concentration used were 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 0% (negative control), 10µg Meropenem dish (positive control). Based on the research obtained MIC of lime juice at a concentration of 10%. Inhibition zone test data were analyzed using One Way Annova. The research showed the results, that the MIC of lime juice at a concentration of 10% showed an inhibition zone of 7.74 mm wider than the antibiotic Meropenem 10µg with an inhibition zone of 6 mm.

Keywords: Natural Ingredients; *Acinetobacter baumannii*; soap substitute

PENDAHULUAN

Spesies bakteri yang tersebar luas di dalam tanah dan air serta dapat dibiakkan dari kulit adalah genus *Acinetobacter*. Salah satu spesies di dalam genus *Acinetobacter* yang bersifat patogen adalah *Acinetobacter baumannii*.

Sejak akhir tahun 2019 pemerintah mencanangkan program mencuci tangan, memakai masker, menjaga jarak atau yang disebut dengan 3M, aktivitas yang dilakukan sebaiknya di dalam rumah atau dengan istilah *work from home*. Saat aktivitas di luar rumah perlu adanya sabun dan air mengalir untuk mencuci tangan. Namun hal ini menjadi tidak efektif, oleh karena itu diperlukan bahan efektif yang praktis yaitu *hand sanitizer*.

Hand sanitizer merupakan pembersih tangan pengganti sabun pada saat tidak tersedianya sabun dan air yang mengandung antiseptik. Pada saat ini dengan aktivitas kegiatan masyarakat yang tinggi menimbulkan keinginan untuk menggunakan cara praktis dan *hygenis* sehingga diperlukan *hand sanitizer*. Diperlukan adanya bahan alternatif alami seperti perasan jeruk nipis sebagai bahan dasar *hand sanitizer* yang tidak menimbulkan efek samping.

Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) mempunyai beberapa kandungan bahan aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Bahan-bahan aktif tersebut meliputi flavonoid, asam sitrat, dan limonen (Yahya, 2016). Salah satu bahan aktif yang terdapat pada jeruk nipis adalah flavonoid. Flavonoid ini dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri (Lauma, 2015). Kandungan asam sitrat dengan derajat keasaman (pH) yang rendah dapat mengganggu aktifitas sel bakteri dan menghambat berkembangnya koloni bakteri (Molina,

2009). Kandungan limonen dapat berakumulasi dengan membran plasma mikroba menyebabkan hilangnya energi gaya dan integritas membran (Espina, 2013).

Perasan jeruk nipis sudah digunakan dalam beberapa penelitian sebagai *hand sanitizer* yang dapat menghambat berkembangnya koloni bakteri *Staphylococcus aureus* (Miftah et al., 2020). Penelitian (Lauma, 2015) menggunakan perasan jeruk nipis menghasilkan daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*. Menurut Razak, dkk., 2013, menyatakan bahwa konsentrasi perasan jeruk nipis semakin tinggi menghasilkan daya hambat yang semakin baik terhadap *Staphylococcus aureus* dengan perlakuan uji secara *in vitro*. Nurdin, dkk., 2013 menyatakan bahwa konsentrasi 25% perasan jeruk nipis menghasilkan daya hambat pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Berdasarkan data diatas, peneliti ingin mengetahui Efektifitas Perasan Jeruk Nipis sebagai *Hand Sanitizer* Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Acinetobacter baumannii*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober sampai Nopember 2021. Penelitian dikerjakan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan media agar antara lain, *Muller Hinton* (Oxoid), *Mac Conkey* (Oxoid), *Nutrien Agar* (Oxoid), *Nutrien Broth* (Oxoid), air destilasi steril, ujung pipet mikro ukuran 200µl-1000µl, 20µl-200µl, H₂O₂ 3% (Merck), tes *oksidase* (Oxoid), pewarnaan gram, *blank dish* (Oxoid), *objek glass*, Perasan Jeruk Nipis, *Acinetobacter baumannii*, kertas saring, *filter sartorius* 0,2µm, *sputit injeksi* 10 ml.

Alat dan Instrumentasi

Adapun alat-alat *glass ware* yang dipakai adalah tabung reaksi beserta rak tabung reaksi, api bunsen, cawan petri, *beaker glass* 100 ml, corong gelas, *erlenmeyer* 100 ml, ose. Instrumentasi alat yang digunakan yaitu pipet mikro (*Gilson's*) dengan ukuran 200 μ l-1000 μ l, 20 μ l-200 μ l, *Laminary Air Flow (Heraus)*, Inkubator (*Memmert*), Autoklaf (*Tommy*), bak pewarnaan, timbangan analitik (*Kern*), *digital* jangka sorong. Alat pendukung penelitian antara lain spidol permanen, bak untuk pewarnaan gram.

Metode Penelitian

Metode penelitian ini adalah rancangan eksperimental laboratories menggunakan 7 macam perlakuan dengan ulangan 4 kali. Variabel bebas yang digunakan adalah pemberian perasan jeruk nipis dengan konsentrasi berbeda-beda sedangkan zona hambat adalah variabel terikat.

Uji hipotesis pada penelitian ini untuk mengetahui perasan jeruk nipis sebagai *hand sanitizer* mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii*. *Hand sanitizer* alami perasan jeruk nipis diduga mempunyai daya hambat bakteri *Acinetobacter baumannii*. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji statistik yaitu *one way Anova* dengan $0,000 < 0,05$.

Pembuatan Perasan Jeruk Nipis

Proses pembuaatan perasan jeruk nipis terlebih dahulu di cuci dengan air sampai bersih kemudian disemprot dengan alkohol 70% dan dikeringkan dengan kertas serap. Jeruk nipis diperas dengan pemeras jeruk, air perasan ditampung dalam *beaker glass* dan dimasukkan dalam tabung *falcon* 15 ml untuk dilakukan *centrifuge* dengan laju putaran sebesar 3000 rpm yang membutuhkan waktu 10 menit. Cairan bening perasan jeruk nipis yang di dapat disaring dengan kertas saring lembut,

hasil saringan di *filter* dengan menggunakan *sartorius* ukuran 0,2 μ m.

Persiapan Suspensi Bakteri

Menurut Murray dkk (1999), konsentrasi suspensi kepadatan bakteri uji yang akan digunakan ditanam pada permukaan agar *Muller Hinton* adalah 10^8 CFU/ml. Konsentrasi kepadatan bakteri tersebut diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Pada panjang gelombang tersebut kepadatan bakteri setara dengan *Optical Density* (OD) 0,1 .

Suspensi kepadatan bakteri diambil dari satu ose bakteri uji pada medium *Nutrien Agar* kemudian setelah 24 jam bakteri uji dikultur pada medium *Nutrien Broth* yang telah diinkubasi dengan suhu inkubator 37°C selama 1x24 jam.

Uji Daya Hambat Perasan Jeruk Nipis Terhadap *Acinetobacter baumannii*

Membuat berbagai konsentrasi perasan jeruk nipis kemudian ditetaskan ke dalam kertas cakram, menuang 10-15 ml medium *Muller Hinton Agar* ke dalam cawan petri steril, biarkan memadat, memasukkan medium *Muller Hinton Agar* ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 1x24 jam (Noorhamdani, dkk., 2016). Masukkan kapas lidi steril ke dalam suspensi bakteri *Acinetobacter baumannii* dan usapkan secara perlahan dan merata pada permukaan agar. Meletakkan kertas cakram yang sudah berisi perasan jeruk nipis dengan konsentrasi yang berbeda-beda ke permukaan medium *Muller Hinton Agar* yang sudah digoreskan suspensi bakteri. Menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya mengukur diameter zona hambat dengan jangka sorong digital.

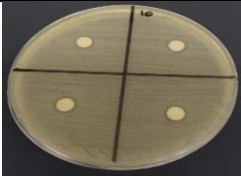
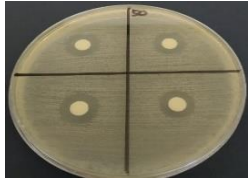
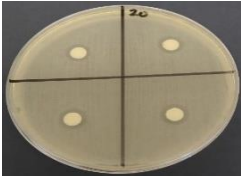
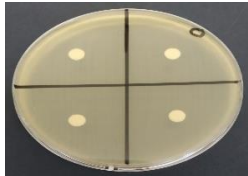
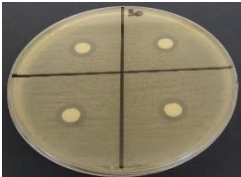
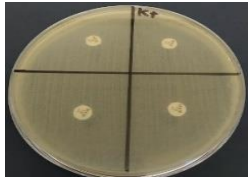
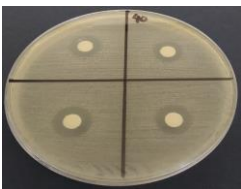
HASIL DAN PEMBAHASAN

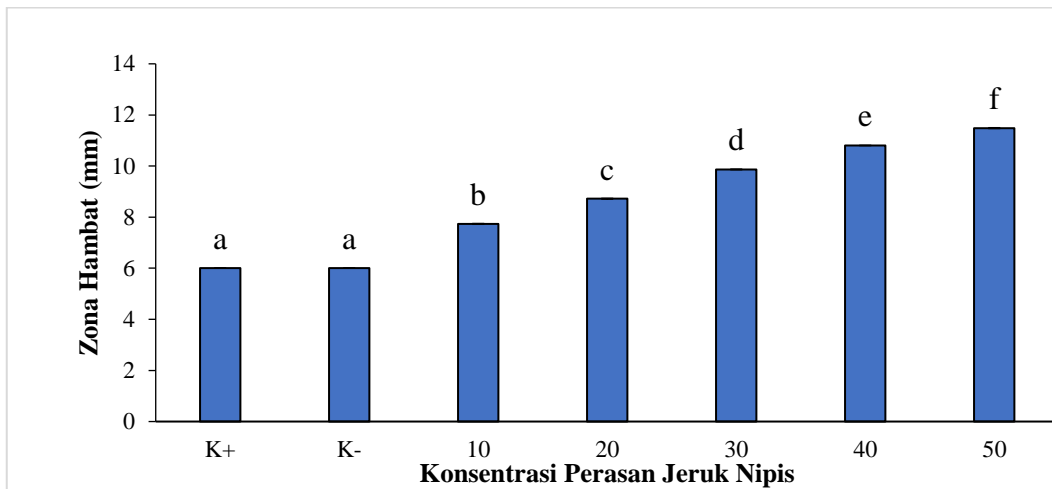
Daya antibakteri pada metode difusi cakram ditunjukkan dari suatu zona bebas bakteri atau adanya daerah jernih mengelilingi daerah sekitar kertas cakram (Noorhamdani, dkk., 2016). Analisa ini dibuat untuk memperoleh rentang konsentrasi perasan jeruk nipis. Konsentrasi uji yang adalah 50%, 40%,30%, 20% dan 10% dengan menggunakan Kontrol Negatif 0% (Aquades steril), Kontrol Positif (*Dish Antibiotik Meropenem* 10µg (Tabel 1).

Tabel 1 menunjukkan konsentrasi antibakteri perasan jeruk nipis beserta

pengulangannya didapatkan hasil zona hambat dengan konsentrasi 10% adalah 7,74 mm. Pada konsentrasi 20% diameter zona hambat adalah 8,74 mm. Pada konsentrasi 30% diameter zona hambat adalah 9,87 mm. Pada Konsentrasi 40% diameter zona hambat adalah 10,81 mm. Pada konsentrasi 50% diameter zona hambat adalah 11,49 mm. Pada Kontrol negatif yang berisi aquades steril tidak menghasilkan zona hambat, begitu pula pada kontrol positif yang berisi *meropenem dish* dengan konsentrasi 10µg tidak ditemukan adanya zona hambat.

Tabel 1. Hasil Uji Zona Bening Perasan Jeruk Nipis Terhadap Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan metode *dish diffusion*.

No	Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis (%)	Gambar Zona Hambat	No	Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis (%)	Gambar Zona Hambat
1	10		5	50	
2	20		6	K (-) (Aquades)	
3	30		7	K(+) (Meropenem Dish 10µg)	
4	40				



Gambar 1. Huruf yang berbeda yang diikuti angka pada diagram balok menunjukkan rata-rata yang mempunyai makna berbeda

Diagram balok perasan jeruk nipis sebagai *hand sanitizer* terhadap daya hambat bakteri *Acinetobacter baumannii*. Gambar 1. Menunjukkan perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 50% mempunyai diameter zona bening 11,49 mm lebih luas dibandingkan dengan diameter zona bening pada konsentrasi perasana jeruk nipis lainnya. Zona bening dengan luas antara 10-20 mm dikategorikan kriteria zona hambat kuat, zona hamba antara 5-10 mm dikategorikan kriteria sedang dan zona hambat dengan diameter kurang dari 5 mm dikategorikan kriteria kurang (Greenwood, 1995). Dari hasil uji tersebut dapat diketahui bahwa daya antibakteri perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 10% telah efektif karena memiliki daya hambat lebih luas terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii* dibanding dengan antibiotik *dish Meropenem* 10µg/ml yang merupakan kontrol positif.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini disimpulkan adanya daya hambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*, dengan menggunakan

perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 10%. Saran untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan mengenai efektifitas perasan jeruk nipis sebagai *hand sanitizer* alami dengan membandingkan *hand sanitizer* yang mengandung senyawa kimia seperti alkohol.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih yang tulus kami sampaikan kepada Kemendikbud Ristek Dikti yang telah memberi kesempatan penulis pada program magang PLP TA. 2021 beserta PT. Pembina Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang sudah memberi bimbingan, masukan dan arahan agar terlaksananya penelitian ini. Tidak lupa kami sampaikan terimakasih kepada Kepala Laboratorium Mikrobiologi FKUB yang sudah memberi kemudahan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian selama program magang.

DAFTAR PUSTAKA

Espina, L., Gelaw, T. K., de Lamo-Castellví, S., Pagán, R., & García-Gonzalo, D. 2013. Mechanism of bacterial inactivation by (+)-limonene and its potential use in

- food preservation combined processes. *PloS one*, 8(2), e56769.
- Greenwood, 1995. Antibiotic, Susceptibility (Sensitivity) Test Antimicrobial and Chemotherapy. USA: Mc. Graw Hill Company.
- Lauma, S. W. 2015. Uji efektifitas perasan air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* s) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *PHARMACON*, 4(4).
- Miftah, Munasikhah, Abadiyah, Lestari. 2020. Pemanfaatan Daun Sirih dan Jeruk Nipis Sebagai bahan dan hand Sanitizer Alami. (Online) (<http://kkn.unnes.ac.id>lapkknunes>), diakses tanggal 11 November 2021).
- Molina, E.G., Perles, R.D., Moreno, D.A., and Viguera, C.G. 2009. Natural Bioactive Compounds of Citrus limon for Food and Health. *JPBA*; (51): 327-345.
- Nurdin, JA., Munir, RS., Setiabudi, RJ. 2013. Essential Oil Extract of *Citrus Aurantifolia* L. has Better Antibacterial Effect than Sulfur Towards *Staphylococcus epidermidis*. *Folia Medica Indonesia*. 48 (3): 115-120.
- Noorhamdani, AS., Santoso, S., Winarsih, S., Hidayat, D., Santosoningsih, D., Mulyastuti, Y., Erikawati, D., Rahayu, S. 2015. *Bakteriologi Medik Third edition* Surabaya: Patra Media Nusantara.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F.C., Tenover, F.C., Tenover, R.H. 1999. *Manual of Clinical Microbiology 7 Edition*. USA: ASM Press.
- Razak, A., Djamil, A., Revilla, G. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* S.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Padang: Universitas Andalas, Fakultas Kedokteran. 2 (1).
- Yahya, H. 2016. Pengaruh Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* Swingle) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus Faecalis* Dominan Pada Saluran Akar Secara *In Vitro* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).