

UJI KOEFISIEN FENOL KOMBINASI EKSTRAK DAUN DAN KULIT BUAH *Citrus hystrix* SEBAGAI KANDIDAT ANTISEPTIK *IN VITRO*

Lia Yulia Budiarti¹, Husnul Khatimah², Erida Wydiamala^{1,3}, Ghina Salsabila⁴, Nurwafa⁴

¹Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine, Lambung Mangkurat University Banjarmasin (Indonesia)

²Department of Biomedical, Faculty of Medicine, Lambung Mangkurat University Banjarmasin (Indonesia) ²Department Research Center Unit, Faculty of Medicine, Lambung Mangkurat University, Banjarmasin, Indonesia

⁴Students of Medical Education Study Program, Faculty of Medicine Lambung Mangkurat University Banjarmasin (Indonesia)

Correspondance: lybudiarti@ulm.ac.id; 1910911120029@mhs.ulm.ac.id;
1910911120033@mhs.ulm.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyakit infeksi yang ditularkan melalui kontak dengan tangan masih merupakan masalah kesehatan pada masyarakat di wilayah lahan basah. Penggunaan zat antiseptic saat cuci tangan yang berbasis alkohol maupun berbahan alami, ditujukan untuk meminimalisis penularan agen penyebab infeksi. Tanaman *Citrus hystrix* yang mengandung beberapa senyawa aktif bersifat antimikroba, dapat dikembangkan sebagai antiseptik alternatif.

Tujuan: Penelitian ini menginformasikan efektivitas sediaan antiseptik ekstrak kombinasi daun dan kulit buah *C.hystrix* secara *in vitro* melalui uji koefisien fenol.

Metode: Uji dilusi dengan biakan kultur konvensional, digunakan untuk mengamati aktivitas kandidat antiseptik pada isolat mikroba standar laboratorium. Parameter pengamatan berupa besaran nilai koefisien fenol kombinasi ekstrak *C.hystrix* dengan pembandingan fenol 5% pada *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans*.

Hasil: Pada penelitian ini memperlihatkan adanya perbedaan efektivitas perlakuan, berdasarkan besaran nilai koefisien fenolnya. Sediaan ekstrak sebagai antiseptic adalah efektif, bila bernilai sama atau lebih dengan pembandingan fenol 5%. Diperoleh hasil nilai koefisien fenol yang lebih tinggi antara perlakuan kombinasi ekstrak *C.hystrix* dengan fenol 5%, yaitu pada *Staphylococcus aureus*. Nilai koefisien yang sama dengan fenol 5% adalah pada *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans*.

Pembahasan: Jenis senyawa sekunder yang relatif sama dan terkandung dalam daun dan kulit buah *C.hystrix* mengandung berbagai senyawa antibakteri yaitu senyawa minyak atsiri sitronelol, limonen, dan geraniol, juga senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun dan kulit buah *C.hystrix* terhadap bakteri gram positif *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri gram negatif *E.coli* dan *P.aeruginosa*. Sedangkan pada Ragi *C.albicans* bersifat gram positif namun dikarekan membran selnya lebih kompleks dibandingkan bakteri sehingga hasilnya sama dengan bakteri gram negatif.

Simpulan: Ekstrak kombinasi daun dan kulit buah *C.hystrix* mempunyai efektivitas sebagai kandidat antiseptik alternatif.

Kata-kata kunci: antiseptik alternatif, *Citrus hystrix*, uji koefisien fenol, *in vitro*.

Pendahuluan

Penyakit infeksi yang ditularkan melalui perantaraan tangan masih merupakan masalah kesehatan di wilayah lahan basah. Penularan penyakit infeksi di wilayah lahan basah, dikaitkan dengan hygiene masyarakat, terutama perilaku cuci tangan menggunakan zat antiseptik. Umumnya penularan infeksi sering terjadi akibat penggunaan air yang telah terkontaminasi bakteri serta kontak langsung dengan tangan atau adanya kontaminan bakteri pada permukaan kulit.^{1,2}

Laporan hasil identifikasi jenis bakteri yang terdapat pada sampel swab tangan masyarakat yang bertempat tinggal di sekitar bantaran sungai Kota Banjarmasin, didapatkan jenis bakteri *S. aureus*, *S. epidermidis* dan *E. coli* pada sampel tangan dan bakteri *E. coli* serta *S. typhi* pada sampel tinja.^{1,3} Jenis ragi *Candida albicans* juga dapat ditularkan melalui perantaraan tangan ataupun kulit yang mengalami kelainan. Penularan ragi *Candida albicans* antar orang bisa terjadi saat menggunakan fasilitas bak atau toilet umum⁴ atau saat terjadi bencana banjir.⁵

Penularannya agen penyebab infeksi antar orang ke orang lainnya, dapat dicegah dengan penggunaan antiseptik, yang berperan mengurangi atau membunuh kolonisasi mikroba yang terdapat pada permukaan atau jaringan kulit.⁵ Penggunaan zat antiseptik saat cuci tangan yang berbasis alkohol maupun berbahan alami, ditujukan untuk meminimalisis penularan agen penyebab infeksi. Kandungan bahan aktifnya adalah alkohol yang memiliki efektivitas tinggi terhadap virus, bakteri, dan jamur. Alkohol adalah salah satu jenis antiseptik yang sering digunakan, dengan cara merusak membran sel, menghambat kinerja enzim dan mendenaturasi protein sel mikroba.⁶ Alkohol mempunyai sifat mudah terbakar dan dapat membuat tangan menjadi kering. Selain itu, penggunaan alkohol pada kadar tinggi memiliki dampak meningkatkan risiko infeksi virus pemicu radang saluran pencernaan.^{7,8} Penggunaan alkohol jangka lama dapat membahayakan kulit seperti menimbulkan rasa terbakar, iritasi, kulit kering, dan tidak dapat digunakan pada kulit luka.⁹ Upaya untuk mengurangi dampak penggunaan alkohol, adalah dengan menggunakan sediaan antiseptik alami. Zat

antibakteri alternatif dapat berperan lebih aman dan efektif, serta lebih murah dibandingkan obat sintesis.¹⁰

Keefektifan dari suatu zat antiseptik dalam menghambat kolonisasi pertumbuhan bakteri, dapat diukur berdasarkan uji koefisien fenol. Pada uji koefisien fenol, nilai koefisien dibandingkan dengan fenol 5% sebagai pembanding yang telah diketahui keefektifannya sebagai zat desinfeksi. Nilai koefisien fenol yang baik adalah setara 1 (satu); keefektifan makin baik bila nilai koefisien fenol ≥ 1 . Isolat Mikroba standar laboratorium yang dapat digunakan pada uji koefisien fenol, diantaranya adalah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi* serta ragi *Candida albicans*.^{11,5} Pengujian koefisien fenol juga dapat diaplikasikan pada sediaan herbal yang memiliki aktivitas antibakteri.¹¹ Hasil uji perlakuan kombinasi infus bunga *Cananga odorata* dan buah *Averrhoa bilimbi* terhadap *Staphylococcus aureus* dan terhadap *Salmonella typhi* menghasilkan besaran pengambatan dan nilai koefisien fenol yang berbeda.¹²

Tanaman buah jeruk *Citrus hystrix* DC (*C. hystrix*) telah dimanfaatkan masyarakat sebagai obat. *C. hystrix* dapat digunakan untuk mengatasi batuk, obat kumur, serta sebagai bahan antiseptik. Hasil uji fitokimia pada *C. hystrix*, didapatkan berbagai senyawa sekunder yang bersifat antibakteri, berupa minyak atsiri sitronelol, limonen, dan geraniol; serta flavonoid, fenolik, terpenoida alkaloid, dan tanin.^{13,14,15} Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol daun dan kulit buah *C. hystrix* didapatkan senyawa aktif flavonoid, tanin, fenol, dan alkaloid.¹¹

Pada bentuk perlakuan sediaan tunggal, *C. hystrix* mampu menghambat berbagai bakteri uji termasuk terhadap *E. coli*^{13,14} Hasil uji ekstrak etanol 96% kulit *C. hystrix* pada perlakuan 100%, dapat menghambat *E. coli* dengan zona hambat sebesar 10,67 mm¹⁴, tetapi zona hambat yang dihasilkan masih dibawah kontrol positif disk.^{15,16,17} Budiarti dkk menyebutkan efek perlakuan infus kulit buah *C. hystrix* 100% dapat menurunkan jumlah bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, tetapi efeknya masih belum setara perlakuan alkohol 70%, Upaya

meningkatkan efek antibakteri selain menggunakan pelarut yang sesuai pada sediaan bentuk sediaan ekstraksi serta dalam bentuk kombinasi/campuran. Hasil uji *in vitro* perlakuan kombinasi ekstrak etanol daun dan kulit *C.hystrix* 12,5%, 25%, 50%, dan 75% (b/v) memiliki efek yang berbeda-beda terhadap *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*; pada kombinasi 75% (1:1) menghasilkan zona hambat terbesar pada keempat bakteri uji dan setara dengan kontrol positif.¹¹ Hasil uji sediaan hand sanitizer kombinasi ekstrak daun *Ocimum basilicum* 75% dan ekstrak kulit *C.hystrix* DC 25%, memperlihatkan daya antiseptik yang efektif dalam menurunkan jumlah bakteri uji dibandingkan formula lainnya.¹⁸

Ketersediaan *C.hystrix* DC dimasyarakat cukup banyak, tetapi pemanfaatannya sebagai sediaan antiseptik dalam bentuk kombinasi belum banyak diinformasikan. Hasil-hasil penelitian sebelumnya menjadi landasan untuk meneliti aktivitas antibakteri perlakuan ekstrak etanol kombinasi daun dan kulit buah *C.hystrix* sebagai sediaan kandidat antiseptik alternatif. Penelitian ini bertujuan mengamati efektivitas sediaan antiseptik dari sediaan ekstrak kombinasi daun dan kulit buah *C.hystrix* secara *in vitro* melalui uji koefisien fenol. Efektivitas sediaan herbal sebagai kandidat antiseptik diamati berdasarkan perbandingan nilai koefisien fenol ekstrak kombinasi daun kulit kulit buah *C.hystrix* dengan zat pembanding larutan fenol 5%. Isolat mikroba standar laboratorium yang diujikan adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta pada ragi *Candida albicans*.

Metode

Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Citrus hystrix* jenis tanaman uji diperoleh dari wilayah di Kalimantan Selatan.

Isolat bakteri uji yang diteliti yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *S. Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 27853, dan *Candida albicans* ATCC10231. Isolat mikroba yang diujikan merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran ULM Banjarbaru. Suspensi mikroba yang diujikan dibuat homogen dengan ditumbuhkan pada media BHI dan dibuat setara dengan larutan Mac Farland 0,5 ($1,5 \times 10^6$ CFU/ml).

Media uji yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), dan *Brain Heart Infusion* (BHI). Pelarut pada pembuatan ekstrak dan seri pengenceran adalah akuades steril. Kontrol yang digunakan pada uji koefisien fenol adalah khlorin 0,002% dan fenol 5%.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Buah *C.hystrix*

Metode ekstraksi yang digunakan untuk penelitian ini adalah maserasi. Masing-masing sebanyak 1000 gram sampel serbuk daun dan kulit buah *C.hystrix* dimasukkan ke dalam alat maserasi, kemudian larutan etanol 96% dituangkan secara perlahan-lahan ke dalam alat maserasi. (Putri, 2018) Proses maserasi dilakukan dalam waktu 3 x 24 jam dengan diaduk sampai merata, setiap 1 x 24 jam filtrat disaring dan pelarut diganti dengan yang baru. Setelah itu ekstrak dimasukan ke dalam *rotary evaporator* dengan suhu 60°C sampai didapatkan ekstrak etanol yang kental, kemudian diuapkan di waterbath sehingga di dapatkan bobot tetap. Hasil ekstraksi dapat disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.¹⁹

Pembuatan Seri Pengenceran Perlakuan Pada Uji Koefisien Fenol

Disiapkan masing-masing sebanyak 26 tabung steril untuk perlakuan kombinasi ekstrak daun dan kulit buah *C.hystrix* 100% (1:1) serta kontrol fenol 5% dan diberi label 1-26. Pada setiap tabung 1-13 diisi perlakuan ekstrak uji serta kontrol fenol 5% sebanyak 2 ml dan ditambahkan akuades steril dari setiap tabung 1-13 berturut-turut yaitu 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 18, dan 23 ml; kemudian setiap tabung dihomogenkan. Selanjutnya pada setiap tabung berisi ekstrak dan kontrol uji dipipet secara aseptis sebanyak 2ml dan dimasukkan kedalam tabung 14-26. Hasilnya diperoleh seri pengenceran dari setiap perlakuan dan

kontrol fenol 5% uji adalah 1:20; 1:30; 1:40; 1:50; 1:60; 1:70; 1:80; 1:90; 1:100; 1:110; 1:150; 1:200; dan 1:250. Pembuatan seri pengenceran perlakuan dibuat tahapan yang sama untuk setiap perlakuan terhadap bakteri yang diujikan.¹¹

Uji Koefisien Fenol

Disiapkan suspensi bakteri uji (*S. aureus*, *S.epidermidis*, *E.coli*, dan *P.aeruginosa*), serta jamur *Candida albicans* pada rak tabung dan tabung reaksi steril yang berisi media NB yang sudah diberi label sesuai dengan pengenceran beserta lama waktu kontak (5, 10, dan 15 menit), serta peralatan seperti lampu spiritus, mikropipet, dan ose. Dimasukkan sebanyak 0,5ml suspensi bakteri uji kedalam tabung yang telah berisi perlakuan uji (ekstrak daun dan kulit buah *C.hystris* dan fenol 5%) pada berbagai seri pengenceran dimulai dari tabung pengenceran 1:20 sampai 1:250, lalu dihomogenkan. Setelah 5 menit, diambil sebanyak 1 ose dari setiap tabung seri pengenceran uji tersebut dan dimasukkan kedalam setiap tabung reaksi berisi seri pengenceran uji dengan waktu kontak 5 menit, lalu ose disterilkan dengan lampu spiritus. Setelah 5 menit kedua, diambil sebanyak 1 ose dari setiap tabung seri pengenceran perlakuan uji kedalam tabung reaksi seri pengenceran perlakuan uji dengan waktu kontak 5menit (jumlah waktu kontak10 menit), lalu ose disterilkan dengan lampu spiritus. Setelah 5 menit ketiga, diambil sebanyak 1 ose dari setiap tabung pengenceran perlakuan uji ke dalam tabung reaksi seri pengenceran perlakuan uji dengan waktu kontak 5menit (jumlah waktu kontak 15 menit), lalu ose disterilkan dengan lampu spiritus. Tahapan yang sama dilalukan untuk perlakuan pada setiap bakteri uji. Seluruh tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Adanya pertumbuhan

bakteri (+) ditandai dengan medium menjadi keruh, dan tidak adanya pertumbuhan mikroba uji (-) ditandai medium tetap bening. Selanjutnya dihitung nilai koefisien fenol dengan rumus berikut.²⁰

Koefisien fenol =

$$\frac{\left\{ \begin{array}{l} \text{Pengenceran fenol terendah yang mematikan bakteri} \\ \text{Pengenceran antiseptik terendah yang mematikan bakteri} \end{array} \right\}}{\left\{ \begin{array}{l} \text{Pengenceran fenol tertinggi yang mematikan bakteri} \\ \text{Pengenceran antiseptik tertinggi yang mematikan bakteri} \end{array} \right\}}$$

Analisis Data

Data nilai koefisien fenol danalisis secara deskriptif.

Hasil

Efektivitas suatu zat antimikroba sebagai bahan disinfeksi yang baik adalah yang setara atau lebih besar dari nilai koefisien cairan fenol 5%, yaitu sama dengan 1 (satu). Pengamatan uji koefisien fenol pada setiap perlakuan yang diujikan dapat dilihat pada tabel 1 dan 2. Pada perlakuan yang memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan mikroba, dihitung efektivitasnya melalui rumus nilai koefisien fenol. Rerata nilai koefisien fenol pada setiap perlakuan, tampak pada Tabel 2. Pada penelitian ini memperlihatkan adanya perbedaan efektivitas perlakuan, berdasarkan besaran nilai koefisien fenolnya. Sediaan ekstrak sebagai antiseptic adalah efektif, bila bernilai sama atau lebih dengan pembanding fenol 5%. Diperoleh hasil nilai koefisien fenol yang lebih tinggi antara perlakuan kombinasi ekstrak *C.hystris* dengan fenol5%, yaitu pada *Staphylococcus aureus*. Nilai koefisien yang sama dengan fenol 5% adalah pada *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans*.

Table 1. Hasil Pengamatan Uji koefisien Fenol Perlakuan Ekstrak Kombinasi Daun dan Kulit Buah *C.hystrix* , Fenol 5%, Alkohol 70% Terhadap Bakteri *S.aureus*

Sampel	Konsentrasi Perlakuan	Ulangan 1			Ulangan 2			Ulangan 2			Koefisien Fenol	
		5	5	5	10	10	10	15	15	15		
Ekstrak Kombinasi C.hystrix	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,125	
	1:30	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:50	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:60	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:70	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:90	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:100	+	-	-	+	+	-	+	-	-		
	1:110	+	+	+	+	+	-	+	+	-		
	1:150	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	1:200	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	1:250	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-		1
	1:30	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:50	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:60	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:70	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:90	+	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:100	+	+	-	+	-	-	+	-	-			
1:110	+	+	+	+	+	-	+	+	-			
1:150	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:200	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:250	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
1:30	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:50	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:60	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:70	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:80	+	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:90	+	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:100	+	+	-	+	-	-	+	-	-			
1:110	+	+	+	+	+	-	+	+	-			
1:150	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:200	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:250	+	+	+	+	+	+	+	+	+			

Table 2. Hasil Pengamatan Uji koefisien Fenol Perlakuan Ekstrak Kombinasi Daun dan Kulit Buah *C.hystrix* , Fenol 5%, Alkohol 70% Terhadap *E.coli*, *P.aeruginosa*, dan *C.albicans*

Sampel	Konsentrasi Perlakuan	Ulangan 1				Ulangan 2			Ulangan 2			Koefisien Fenol	
		5	5	5	10	10	10	15	15	15			
Ekstrak Kombinasi <i>C.hystrix</i>	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	1:30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:90	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1:100	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-		
	1:110	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-		
	1:150	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	1:200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	1:250	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		1
	1:30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:90	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-			
1:100	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-			
1:110	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-			
1:150	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:250	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
1:30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:90	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:100	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-			
1:110	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-			
1:150	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:250	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		1	
1:30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:90	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
1:100	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-			
1:110	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-			
1:150	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
1:250	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			

Pembahasan

Pada *Staphylococcus aureus* didapatkan nilai koefisien lebih tinggi dari fenol 5% sedangkan, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta pada ragi *Candida albicans* didapatkan hasil yang sama dengan fenol 5%. Berdasarkan data yang diperoleh, nilai koefisien fenol=1 menunjukkan bahwa jenis disinfeksi yang diujikan memiliki efektivitas sebagai sediaan disinfeksi.

Fenol adalah standar kekuatan antiseptik. Mekanisme kerja fenol sebagai antiseptik bakteristatik bekerja dengan interaksi antara senyawa fenolik dengan sel bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada konsentrasi rendah, fenol akan membentuk kompleks protein dengan ikatan lemah dan segera mengalami dekomposisi, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel bakteri dan menyebabkan pengendapan dan denaturasi protein. Sedangkan pada konsentrasi tinggi fenol akan menyebabkan koagulasi protein sel bakteri dan membran sitoplasma mengalami lisis.²¹

Efektivitas sebagai antimikroba dan sediaan antiseptik, dikarenakan peran dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *C.hystrix*. Kandungan senyawa aktif pada daun dan kulit buah *C.hystrix* diantaranya yaitu senyawa minyak atsiri sitronelol, limonen, dan geraniol, juga senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin.²² Senyawa sitronelol, limonen dan geraniol termasuk kelompok terpenoid yang mampu menekan pertumbuhan mikroorganisme dengan menghambat proses metabolisme sel bakteri. Senyawa sitronelol, limonen dan geraniol mempunyai struktur granil asetat dengan gugus alkohol dan aldehid yang berperan

dalam mendenaturasi protein sel bakteri. Senyawa sitronelol dapat menyebabkan denaturasi protein pada bakteri dan dapat menghambat bakteri. Senyawa limonen menghambat pertumbuhan bakteri dengan mendenaturasi protein dan membuat pertumbuhan sel tersebut terhambat, serta menyebabkan kematian pada sel bakteri. Sementara itu, senyawa geraniol mampu mengganggu permeabilitas membran sel.²³

Senyawa aktif flavonoid dapat menghambat enzim topoisomerase II (DNA gyrase) yang merupakan enzim penting dalam proses replikasi dan transkripsi DNA bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri akan terganggu. Kandungan utama flavonoid pada *C.hystrix* adalah naringin yang terdapat pada bagian kulit dan buah, serta mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang kuat dan menghambat fungsi membran sel, sehingga bakteri tersebut mati.²⁴

Pada penelitian ini dapat dibuktikan bahwa perlakuan kombinasi ekstrak dapat menghasilkan efektivitas antimikroba yang baik, sehingga menghasilkan nilai koefisien fenol yang setara atau lebih tinggi daripada kontrol fenol 5%. Hasil ini menunjukkan adanya efek sinergisme seperti yang telah diinformasikan dari penelitian sebelumnya. Hasil uji sediaan hand sanitizer kombinasi ekstrak daun *Ocimum basilicum* 75% dan ekstrak kulit *C.hystrix* DC 25%, memperlihatkan daya antiseptik yang efektif dalam menurunkan jumlah bakteri uji dibandingkan formula lainnya.¹⁸

Hasil yang relative sama yaitu pada perlakuan kombinasi infus *Averrhoa blimbi* dan *Cananga odorata*¹² serta kombinasi infus *Mimosa pudica* dan *Cyperus rotundus*²⁵ memperlihatkan

efektivitas sebagai sediaan antiseptik alternatif.

Efektivitas pada bakteri Gram positif umumnya lebih baik daripada Gram negative. Jenis bakteri yang dihambat, struktur dinding sel bakteri, penetrasi dan ikatan senyawa antibakteri dapat mempengaruhi aktivitas zat antibakteri berdasarkan variasi nilai koefisien fenol yang diperoleh. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri seperti flavonoid, saponin, dan tanin. Hal ini dikarenakan struktur dinding sel bakteri gram positif relatif lebih sederhana dibandingkan dengan struktur dinding sel bakteri gram negatif. Komposisi dinding sel bakteri gram positif terdiri dari lebih dari 50% kandungan peptidoglikan dan asam teikoat yang bersifat polar dan kandungan lipid rendah (1-4%) yang bersifat non-polar. Sementara itu, flavonoid, saponin dan tanin merupakan senyawa polar.²¹ Oleh karena itu, senyawa antibakteri ini lebih mudah menembus membran sel bakteri gram positif. Sedangkan bakteri gram negatif memiliki dinding sel bakteri yang lebih sulit ditembus senyawa oleh flavonoid, saponin dan tanin karena terdiri dari kandungan lipid yang tinggi (11-22%) yang bersifat non polar dan kandungan peptidoglikan hanya sekitar 5-10% yang bersifat polar. dan membran sel luar yang berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa toksik yang masuk dan keluar sel. Selain itu, bakteri gram negatif memiliki membran luar yang terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam) dan lipopolisakarida non-polar (lapisan luar). Hal inilah yang menyebabkan senyawa sekunder polar (flavonoid, saponin dan tanin) lebih sulit masuk ke dalam sel bakteri gram negatif

sehingga aktivitas antibakterinya kurang kuat dibandingkan bakteri gram positif.²¹

Membran luar gram negatif terdiri dari tiga lapisan, yaitu lipopolisakarida (LPS), lipoprotein, dan fosfolipid. Pada fosfolipid terdapat porin yang terbentuk dari protein. Porin adalah saluran yang dapat dilalui oleh beberapa molekul. Membran luar ini berfungsi sebagai penghalang terhadap antibiotik, enzim pencernaan, dan kondisi kering, tetapi tidak dapat menjadi penghalang untuk semua zat. Faktor utama kerusakan dinding sel adalah lipopolisakarida (LPS) dan porin. Senyawa antibakteri yang bekerja dengan cara menembus LPS (lipopolisakarida), molekul hidrofilik akan lebih mudah melewati LPS dibandingkan molekul hidrofobik. Bakteri gram negatif memiliki sifat hidrofilik yaitu karboksil, asam amino dan hidroksil. Mekanisme kerja antibakteri masing-masing senyawa metabolit sekunder berbeda-beda. Senyawa metabolit sekunder menghambat pertumbuhan bakteri dimulai dengan merusak dinding sel. Senyawa polar dapat menembus peptidoglikan polar, serta beberapa senyawa polar seperti senyawa fenolik yang dapat memutuskan ikatan peptidoglikan pada dinding bakteri. Senyawa antibakteri yang mampu bereaksi dengan porin (protein trans membran) pada membran luar bakteri dan dinding sel bakteri akan membentuk ikatan polimer yang kuat, sehingga mengakibatkan rusaknya porin tersebut. Rusaknya porin yang berfungsi sebagai tempat keluar masuknya nutrisi akan menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri menurun sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau sel bakteri akan mati.²⁶

Penelitian secara *in vitro* ini membuktikan ekstrak *C.hystrix* memiliki

efektivitas sebagai antiseptik. Pengembangan *C.hystrix* sebagai sediaan antiseptik alternatif perlu didukung berdasarkan penelitian, baik dalam sediaan ekstrak kombinasi dengan jenis tanaman berbeda, juga dilanjutkan pengujian secara *invitro* maupun uji organoleptik.

Penutup

Kesimpulannya, berdasarkan koefisien fenol, ekstrak daun dan kulit buah *C.hystrix* memiliki aktivitas antibakteri sebagai preparat antiseptik yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri uji.

Untuk penelitian selanjutnya lebih mendalami permasalahan dan lebih mempersiapkan diri dalam proses pengambilan, pengumpulan data dan segala sesuatu yang berhubungan dengan penelitian serta dapat dilakukan dengan baik serta lebih matang.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada semua pihak yaitu Departemen Mikrobiologi dan Parasitologi, Departemen Biomedik, serta Medical Education Program Studi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat yang telah berperan dalam memberikan bantuan untuk penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Budiarti LY, Khariyati L, Fakhriyadi R. .The Potensial Of Kasturi As Hand Antiseptic. 2017
2. Wulansari NT, Parut AA. Pengendalian Jumlah Angka Mikroorganisme Pada Tangan Melalui Proses Hand Hygiene.2019.3(1):7-13
3. Kurniati, Surya P, Heriyani F, Budiarti LY . Gambaran jenis bakteri pada tangan siswa sekolah dasar di sekitar bantaran Sungai Lulut Banjarmasin. Homeostasis. 2019. 2(1)99-106
4. Asmarani ED, Humairoh, Kurniawti. Identifikasi Jamur Candida Sp. dalam Air Bak Toilet Pada Tempat Wisata di Wilayah Kota Kediri Dengan Metode Centrifugasi. Prosiding Seminar Nasional Sains, Teknologi dan Analisis Ke-1 2018. 2018 *prosidingonline.iik.ac.id.146-155.*
5. Budiarti LY, Khaidah S, Khatimah H, Wydiamala E. Penyuluhan Pemanfaatan Herbal Pencegah Tinea Pedis Pada Masyarakat di Ilayah Rawan Banjir. Prosiding PKM -CSR, Vol. 4(2021): 514-521. e-ISSN: 2655-3570
6. Asngad A, Aprilia RB, Nopitasari N. Kualitas gel pembersih tangan (handsanitizer) dari ekstrak batang pisang dengan penambahan alkohol, triklosan dan gliserin yang berbeda dosisnya. Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi. (2018);4(2):61-70.
7. Cahyani NME. Daun Kemangi (Ocimum Cannum) Sebagai Alternatif Pembuatan Handsanitizer. Jurnal KEMAS: 9 (2) (2014) : 150-156
8. Zullaikah SCC. Clarizka D, Fulanah D , Fitri L, Yunila RW. Subcritical Water Extraction of Essential Oils from Indonesia Basil (Kemangi) Leaf: Effects of Temperature and Extraction Time on Yield and Product Composition. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” ISSN 1693-4393 Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia Yogyakarta, 18 Maret 2015: -7
9. Rini EP, Nugraheni ER. Uji daya hambat berbagai merek hand sanitizer gel terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Journal Of Pharmaceutical Science And Clinical Research. 2018:1:18-26.

10. Wardani R, Jekti DSDD, Sedijani P. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) terhadap pertumbuhan bakteri isolat klinis. 2018;5(1):10-11.
11. Budiarti LY, Wydiamala E & Madani RA. Antibacterial Activity of Extract Combination of Leaves and Peels Kaffir Lime (*Citrus Hystrix* Dc.) Against Some Test Bacteria. *Bioinformatics and Biomedical Research Journal* 4(2): 39 - 47. doi: 10.11594/bbrj.04.02.01
12. Budiarti LY, Wydiamala E, Ulfa N. Phenol coefficient test combination infusion of *Cananga odorata – Averrhoa bilimbi* L. Against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* in Vitro. 2021;4(1):23-25.
13. Irwan A, Mustikasari K, Ariyani D. 2017. Pemeriksaan pendahuluan kimia daun, Kulit dan buah limau kuit: jeruk lokal Kalimantan Selatan. *Sains dan Terapan Kimia*. 2017;11:71-79.
14. Irwan A, Junaidi AB. Kajian awal metabolomik pada ekstrak metanol daging buah limau kuit dengan analisis Gc-MS tidak tertarget. 2020. Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah. 2020;5:27-31.
15. Lee J.H, Cho. S, Choi CW, Nam Kt, Hwang SG. Investigatio on antibacterial and antioxidant activities, phenolic and flavonoid contents of some thai edible plant as an alternative for antibiotics. *Asian-Australasian*. 2014;27(10):1462-1464.
16. Ariyani H, Nazemi M, Hamidah H, Kurniati M. Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit (*Cytrus hystrix Dc*) terhadap beberapa bakteri. *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*. 2018;2(1):136-141.
17. Prayudi OM. Aktivitas antibakteri ekstrak air kulit limau kuit (*Citrus hytrix DC*) terhadap jumlah koloni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 2017:3-49.
18. Dewi I, Yuniyanto B. Uji efektivitas sediaan hand sanitizer kombinasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum Sanctum L*) dan ekstrak kulitjeruk purut (*Citrus Hystrix*). *Jurnal Kebidanan Dan Kesehatan Tradisional*. 2016:1(2), 130-135.
19. Ariyani H, Nazemi M, Hamidah H, Kurniati M. Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit (*Cytrus hystrix Dc*) terhadap beberapa bakteri. *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*. 2018;2(1):136-141.
20. Budiarti LY, Nurikhwan PW, Muthmainah N. Metode pencegahan infeksi. 2021. Banjarmasin CV. Sarimulia Indah; 2021.
21. Budiarti LY, Wydiamala E, Ulfa N. Phenol coefficient test combination infusion of *Cananga odorata – Averrhoa bilimbi* L. Against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* in Vitro. 2021;4(1):23-25.
22. Soepomo. Jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*). Indonesia: Pusat Data & Informasi PERSI; 2012.
23. Dhavesia V. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidemidis*. 2017:6-11.
24. Dewadita AG. Uji aktivitas antibakteri emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus ATCC25923 secara in vivo*. [skripsi] [Surakarta]: Universitas Setia Budi, 2019.
25. Irdayanti T. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Kombinasi Infus Rumput Teki dan Putri Malu dengan Alkohol 70% Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. [skripsi][Banjarmasin].

Universitas Lambung Mangkurat;
2021.

26. Febri AMR. Uji koefisien fenol 1,3-dimethylol-5,5 dimethylhydantoin sebagai desinfektan dalam deterjen cair. Makassar: Universitas Hasanuddin; 2018.