

**KANDUNGAN KIMIA MINYAK ATSIRI DARI KULIT BUAH JERUK BALI (*Citrus maxima*) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**Komang Ardipa Saputra<sup>1\*</sup>, Ni Made Puspawati<sup>1</sup>, dan I Wayan Suirta<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*

**\*E-mail: [Ardipa07@yahoo.com](mailto:Ardipa07@yahoo.com)**

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk Bali (*Citrus maxima*) dan mengidentifikasi komposisi senyawanya. Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali diekstraksi menggunakan metode destilasi uap dan komposisi senyawanya diidentifikasi menggunakan KG-MS (Kromatografi Gas –Spektrometer Massa). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*). Minyak atsiri yang diperoleh dari ekstraksi kulit buah jeruk Bali berwarna bening, memiliki bau khas seperti jeruk dengan rendemen 0,14 %. Hasil uji aktivitas menunjukkan minyak atsiri kulit buah Jeruk Bali dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Pada konsentrasi 50, 75, dan 100 ppm minyak atsiri tersebut memberikan daya hambat yang kuat terhadap *E.coli* dengan diameter hambat berturut-turut, 11, 14, dan 17mm. Namun aktivitas antibakterinya terhadap *S.aureus* pada 50 ppm tergolong sedang dengan daya hambat 9 mm, dan aktivitas yang kuat ditunjukkan pada konsentrasi 75 dan 100 ppm dengan daya hambat berturut-turut 11 mm dan 14 mm. Hasil analisis spektra KG-MS menunjukkan minyak atsiri kulit buah Jeruk Bali mengandung lima senyawa yang teridentifikasi sebagai senyawa  $\alpha$ -pinen, mirsen, limonen, germakren dan  $\beta$ -asaron.

Kata kunci: Jeruk Bali, minyak atsiri, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

### ABSTRACT

This study aimed to determine antibacterial activity of *Citrus maxima* peel essential oil and to analyse its chemical constituents. The essential oil was extracted using steam distillation method and its chemical constituent was identified utilizing Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) technique. Antibacterial activity testing against *Escherichia coli* (*E.coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) bacteria was done using diffusion agar method. Steam distillation of fresh *Citrus maxima* peel gave 0.14 % colorless oil with specific aroma of citrus. The antibacterial activity testing result showed that the essential oil inhibited the growth of both *E.coli* and *S.aureus* bacteria. The essential oil at 50 ppm; 75 ppm; and 100 ppm strongly inhibited the growth of *E.coli* with inhibition diameter of 11mm; 14 mm; and 17 mm and *S.aureus* by 9 mm; 11 mm and 14 mm respectively. GC-MS spectra showed 5 peaks which identified as  $\alpha$ -pinene, mircene, limonen, germacren and  $\beta$ -asaron.

**Keywords:** *Citrus maxima*, essential oil, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

### PENDAHULUAN

Jeruk (*Citrus*) adalah salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomi tinggi karena mengandung vitamin C dan digunakan sebagai bahan tambahan makanan. Daun dan kulit jeruk memiliki metabolit sekunder seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan steroid, tanin (Prakash, et al, 2013; Intekhab and Aslam, 2009). *Citrus* merupakan tanaman penghasil minyak atsiri dan berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan kandungan senyawanya yaitu sitronelal, limonen, geranial, sabinen, geraniol,

linalol,  $\alpha$ -pinen, mirsen,  $\beta$ -kariofilen,  $\beta$ -pinen, geranil asetat, nonanal, dan  $\alpha$ -terpineol (Chutia dkk., 2009).

Minyak atsiri adalah senyawa metabolit sekunder yang telah dikenal memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Antibakteri merupakan daya hambat untuk perkembangan bakteri dan toksisitas selektif, dimana bahan tersebut hanya melemahkan patogen tetapi tidak berpengaruh terhadap inangnya (Jawetz *et al*, 2010). Kandungan senyawa minyak atsiri dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri yang dapat digunakan sebagai aktivitas antibakteri (Kan *et al*, 2006). Jenis bakteri

merugikan seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, dan *Pasturella Salmonella* dapat dihambat oleh minyak atsiri (Karsinah *et al*, 1994).

Jeruk Bali (*Citrus maxima*) mempunyai banyak nutrisi yang bermanfaat untuk mengatasi masalah-masalah kesehatan di antaranya dapat mencegah penyakit kanker, menjaga daya tahan tubuh, menghilangkan jerawat, mencegah penuaan dini, menurunkan kolesterol dan tekanan darah tinggi, dan dapat melancarkan pencernaan dan kulit buahnya yang mengandung minyak atsiri berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat. Di Bali kulit buah jeruk Bali belum dimanfaatkan secara optimal menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi dan biasanya hanya dibuang sebagai limbah. Memanfaatkan limbah kulit buah jeruk Bali menjadi produk yang berguna dan lebih bernilai ekonomis salah satunya menjadi bahan obat karena mengandung minyak atsiri (Brock, 1991).

Menurut penelitian Sari dkk (2013), minyak atsiri dari kulit buah jeruk Pontianak memiliki aktivitas antibakteri yang lebih sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan *Staphylococcus aureus*. Hasil diameter rata-rata zona hambat dari tiap konsentrasi pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* secara berurutan yakni 0,5; 1,5; dan 2,5 mg/mL sebesar 15; 16; dan 19 mm sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* yakni sebesar 16, 33; 18; dan 21 mm. Konsentrasi memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap perolehan diameter zona hambat dimana pada konsentrasi 2,5 mg/mL merupakan konsentrasi terbaik yang memberikan zona hambat terbesar. Berdasarkan penelitian Mukhtisari (2012), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella Dysenteriae* dengan zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 6,25 % sampai dengan 100%.

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan kimia dan menguji aktivitas antibakteri dari minyak atsiri kulit buah Jeruk Bali terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## MATERI DAN METODE

### Bahan tumbuhan

Dalam penelitian ini digunakan bahan kulit buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) yang dagingnya berwarna merah yang diperoleh dari

Desa Mambal, Kecamatan Abiansemal Kab. Badung. Determinasi dilakukan di LIPI-UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya "Eka Raya" Bali.

### Bahan penunjuk uji hayati

Mikroba *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA, UNUD.

### Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah etanol 96%, amoksisilin, nutrisi agar, kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ) anhidrat, natrium klorida ( $\text{NaCl}$ ).

### Peralatan

Penelitian ini menggunakan alat-alat sebagai berikut seperangkat alat destilasi uap, corong pisah, erlenmeyer, neraca analitik, gelas ukur, botol tempat minyak atsiri, aluminium foil, cakram kertas saring, cawan petri, mikro pipet, api bunsen, rotari evaporator, dan seperangkat alat GC-MS.

### Cara Kerja

#### Penyiapan bahan

Kulit buah Jeruk Bali yang diperoleh dicuci bersih kemudian dipotong-potong menjadi bagian kecil. Karena pengerjaan menggunakan jaringan segar maka kondisi kulit buah Jeruk Bali diusahakan agar tetap terjaga kesegarannya

### Isolasi Minyak Atsiri

Metode yang digunakan untuk mengisolasi minyak atsiri adalah destilasi uap. Kulit buah Jeruk Bali segar sebanyak  $\pm 4,5$  kg didestilasi secara bertahap, setiap kali destilasi menggunakan  $\pm 2$  dan 2,5 kg kulit buah jeruk Bali segar. Kulit buah Jeruk Bali dipotong kecil-kecil, dimasukkan ke dalam dandang yang telah berisi air. Hasil dari destilasi uap adalah campuran minyak dengan air yang selanjutnya minyak dibebaskan dari sisa-sisa air dalam corong pisah. Destilat ditambahkan natrium klorida ( $\text{NaCl}$ ) agar minyak yang teremulsi terpisah. Minyak atsiri yang di dapatkan kemudian ditambahkan dengan  $\text{CaCl}_2$  untuk mengikat air agar didapatkan minyak murni. Minyak atsiri yang diperoleh, kemudian dianalisis menggunakan Kromatografi gas-spektroskopi massa (KG-SM) serta digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Kandungan Kimia Minyak Atsiri dari Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) serta Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Komang Ardipa Saputra, Ni Made Puspawati, dan I Wayan Suirta)

### Uji Aktifitas Antibakteri

#### a. Pembuatan media agar

Sebanyak 4 gram serbuk Nutrien Agar (NA) dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dan ditambahkan 200 mL aquades. Selanjutnya dipanaskan di atas penangas air sampai mendidih dan diaduk dengan magnet stirer sampai homogen.

#### b. Pembuatan suspensi bakteri

Stok kultur dari bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), dibiakkan di dalam 50 mL media nutrien broth yang terdapat di dalam erlenmeyer. Biakan ini kemudian diinkubasi pada temperatur 37<sup>0</sup> C selama 24 jam. Selanjutnya biakan dapat digunakan dalam uji aktivitas antibakteri.

#### c. Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk Bali dilakukan pada konsentrasi 100 ppm ; 75 ppm ; 50 ppm ; dan 25 ppm.

### Analisis kualitatif kromatografi gas dan spektrokopi massa (GC-MS)

Minyak atsiri selanjutnya dianalisis menggunakan GC-MS dengan pengaturan sebagai berikut : gas helium sebagai gas pembawa, kecepatan alir gas 1 mL/min, temperatur injektor 300<sup>o</sup>C sampai 180<sup>o</sup>C pada 4<sup>o</sup>C/min kemudian 180<sup>o</sup>C sampai 250<sup>o</sup>C pada 10<sup>o</sup>C. Spektra massa direkam pada 30 sampai 450 m/z.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Isolasi Minyak Atsiri dengan Destilasi Uap

Hasil ekstraksi minyak atsiri dari kulit buah jeruk Bali (*Citrus maxima*) segar yang telah di potong kecil-kecil dengan menggunakan metode destilasi uap dihasilkan minyak atsiri yang diekstraksi dari 4,5 kg kulit buah jeruk Bali memberikan berat minyak 6,68 g dengan rendemen 0,14% dan memiliki berat jenis sebesar 0,8920 g/mL. Minyak atsiri yang dihasilkan dari kulit buah jeruk Bali berwarna bening dengan aroma yang khas seperti buah jeruk Bali. Kecilnya kandungan minyak atsiri pada kulit buah jeruk Bali mungkin disebabkan karena pada umumnya minyak atsiri lebih

banyak dibiosintesis pada daun dan juga di perngaruhi oleh iklim, tempat tumbuh dan umur dari suatu sampel tumbuhan yang digunakan (Ketaren 1985).

Minyak atsiri yang diperoleh dari kulit buah jeruk Bali selanjutnya masing-masing diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram (+) *S.aureus* serta *E.coli* sebagai gram (-) dan dianalisis komponen senyawa penyusunnya menggunakan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (Tabel 1).

**Tabel 1. Uji Aktivitas Antibakteri**

No.	Sampel	Diameter Daya Hambat Terhadap	
		<i>Escherichia coli</i> (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i> (mm)
1.	Kontrol Negatif (Etanol)	0	0
2.	Kontrol Positif (Amoxicillin 250 ppm)	25	19
3.	Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali 25 ppm	8	6
4.	Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali 50 ppm	11	9
5.	Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali 75 ppm	14	11
6.	Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali 100 ppm	17	14

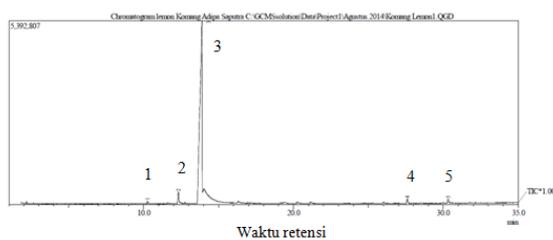
Keterangan kategori daya hambat bakteri menurut Davis Stout :

Diameter Daya Hambat >20 mm= Sangat kuat  
Diameter Daya Hambat 10-20 mm= Kuat  
Diameter Daya Hambat 5-10 mm= Sedang  
Diameter Daya hambat <5= Lemah

Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi minyak atsiri yang digunakan tergantung pada besarnya hambatan pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S. aureus*. Semakin besar konsentrasi yang digunakan, maka semakin besar pula daya hambat yang diberikan. Pada konsentrasi uji minimum yang digunakan yaitu 25 ppm, minyak atsiri kulit buah jeruk Bali sudah menunjukkan aktivitas antibakteri yang tergolong sedang terhadap *E.coli* dan *S. aureus*. Pada konsentrasi 50 ppm menunjukkan ujiaktivitas sedang terhadap *S. aureus* . Pada konsentrasi 50 , 75 dan 100 ppm minyak atsiri kulit buah jeruk Bali menunjukkan aktivitas antibakteri kuat terhadap bakteri *E.coli* dan juga terhadap *S. aureus*. Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali merupakan minyak yang tersusun dari golongan terpenoid yaitu monoterpen dan seskuiterpen.

### Hasil Identifikasi Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali dengan GC-MS

Kromatogram hasil analisis minyak atsiri kulit buah jeruk Bali (*Citrus maxima*) dengan instrumen Kromatografi Gas (KG) menunjukkan lima (5) puncak yang menunjukkan adanya lima (5) komponen senyawa kimia yang terdeteksi. Kromatogram minyak atsiri kulit buah jeruk Bali ditunjukkan pada Gambar 1.

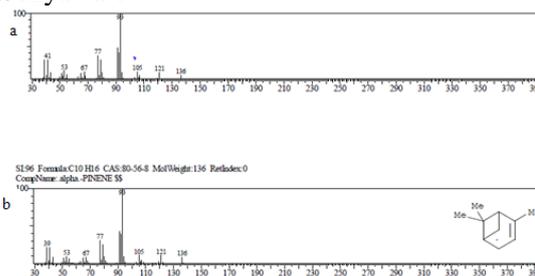


Kromatogram Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali.

**Gambar 1.** Kromatogram Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali.

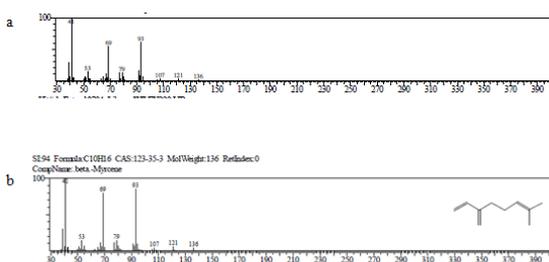
Setiap puncak pada kromatogram minyak atsiri kulit buah jeruk Bali selanjutnya diidentifikasi dengan cara menganalisis spektra massanya. Hasil spektra massa dari masing-masing puncak kemudian dibandingkan dengan spektra massa yang terdapat dalam database WILEY229.LIB sehingga dapat diduga senyawa-senyawa penyusun minyak atsiri Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali.

#### a. Senyawa 1



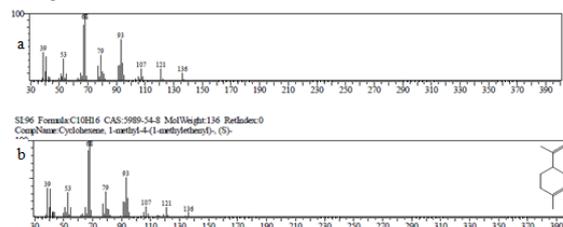
Spektra Massa Senyawa Puncak 1 (a) dan Senyawa  $\alpha$ -pinen (b)

#### b. Senyawa 2



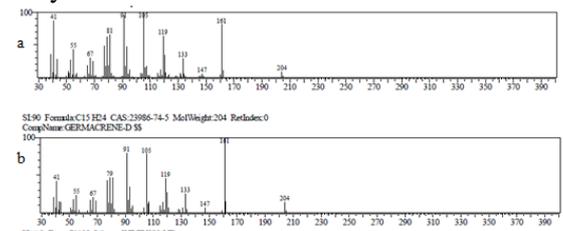
Spektra Massa Senyawa Puncak 2 (a) dan Senyawa mircen (b)

#### c. Senyawa 3



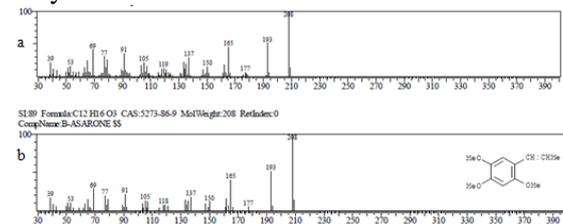
Spektra Massa Senyawa Puncak3 (a) dan Senyawa limonen (b)

#### d. Senyawa 4



Spektra Massa Senyawa Puncak 4(a) dan Senyawa Germacren D (b)

#### e. Senyawa 5



Spektra Massa Senyawa Puncak 5(a) dan Senyawa  $\beta$ -Asaron (b)

**Gambar 2.** Spektra Massa Senyawa Puncak 1- 5.

**Tabel 2.** Dugaan Senyawa-senyawa Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus masima*) Berdasarkan Database WILEY229LIB

No.	Puncak Senyawa	Waktu Retensi ( $t_R$ )	Area (%)	$M^+$	Senyawa	Golongan Senyawa
1	Puncak 1	10.258	0.46	136	$\alpha$ -pinen	Monoterpen
2	Puncak 2	12.314	2.48	136	Mircen	Monoterpen
3	Puncak 3	13.888	94.96	136	Limonen	Monoterpen
4	Puncak 4	27.595	1.01	204	Germacren D	Seskuiterten
5	Puncak 5	30.325	1.09	208	$\beta$ -asarone	Monoterpen

Seperti tertera dalam Tabel 2 senyawa limonen merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri kulit buah jeruk Bali dengan persentase luas area tertinggi yaitu berturut-turut 94,96%. Senyawa lainnya terdiri dari mircen (2,48%),  $\beta$ -asarone (1,09%), germacren D (1,01%) dan  $\alpha$ -pinen (0,46%). Senyawa-senyawa penyusun minyak atsiri kulit buah jeruk Bali terdiri dari (5) senyawa yang dianalisis spektra massa dan pola fragmentasinya, diantaranya adalah  $\alpha$ -pinen, mircen, limonen, germacren,  $\beta$ -asarone.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

1. Minyak atsiri yang diekstrak dari kulit buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) berwarna bening, berbau wangi yang khas jeruk dan diperoleh rendemen 0,14%. Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Minyak atsiri kulit buah jeruk Bali memiliki beberapa komponen senyawa, yaitu limonen (94,96 %), mircen (2,48%), B- asaron (1,09%), germacren D (1,01%) dan  $\alpha$  pinen (0,46%)

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan aktivitas minyak atsiri kulit buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) yang berpotensi sebagai antikanker, antiinflamasi, dan antioksidan.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Melalui kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Dr. Drs. Manuntun Manurung, M.Si., Ibu Oka Ratnayani, S.Si., M.Si., Ph.D, Ni Komang Ariati, S.Si.,M.Si. atas masukan dan sarannya. Orang tua dan sahabat penulis atas saran dan dukungannya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes,. A. dan Jacob. T.,1992, *Antropologi Kesehatan Indonesia Pengobatan Tradisional* i. Jakarta: EGC
- Brock,T. D & Madigan,M.T,1991, *Biology of Microorganisms*. Sixth ed. Prentice-Hall International,Inc
- Chutia, M., Bhuyan, D. P., Pathak, M. G., Sarma, T. C., Boruah P., 2009, *Antifungal Activity and Chemical Composition of Citrus reticulata Blanco Essential Oil Against Phytopathogens from North East India*. Food Science and Technology, 42, 777-780
- Gibson, J.M., 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk Perawat*. Diterjemahkan dari buku Modern Microbiology and Patology for Nurses oleh I.K.G. Soma Prasada. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Intekhab, J. and M. Aslam. 2009. Constituents from *Feronia Limonia*. *Analele Universităţii din Bucureşti–Chimie (serie nouă)*, vol 18 no. 2, pag. 95–101.
- Jawetz, Melnick, Adelberg,2008, *Mikrobiologi Kedokteran*.(H. Hartanto, C.Rachman, A. Dimanti, A. Diani). Jakarta : EGC.p.199 – 200 : 233.
- Kan,Yuksel., Uçan, Sait, U Kartal, Murat., Altun, M.L. Aslan, S., Sayar, E., Ceyhan, T., 2006, GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of Cultivated *Satureja cuneifolia* Ten. *Essential Oil.Turkey Journal Chemitry* 30, 253 – 259.
- Karsinah, Lucky, H. M., Soehanto, Mardiasuti, H. W., 1994, *Kokus positif Gram dan Batang negatif gram dalam buku ajar Mikrobiologi Kedokteran, Edisi Revisi*, 103 – 111, 163 –165, Penerbit Bina Aksara, Jakarta.
- Prakash, A., et al., 2001, “Antioxidant Activity”. *Medallion Laboratories Analitical Progress*, Vol. 19. No. 2.
- Sari., et al .,2013. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Pontianak Terhadap *Staphilococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia.
- Mukhtisari., 2012., Uji Aktivitas Antibakteri Perasan Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan *Shigella Dysentriae* Secara *In Vitro*. Fakultas Kedokteran, Universitas Jember.