

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK SAMBAL (*Citrus Microcarpa Bunge*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus Aureus*

Vanesa¹, Syarifah Nurul Yanti R. S. A², Mardhia Mardhia³, Mahyarudin Mahyarudin⁴

¹. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

². Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

³. Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

⁴. Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

e-mail: nurulyanti@medical.untan.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Pneumonia dapat diakibatkan oleh infeksi dari salah satu strain bakteri *S. aureus*, yaitu *Methicillin Resistance Staphylococcus aureus* (MRSA). *Staphylococcus aureus* memiliki potensi untuk mengembangkan resistensi terhadap hampir semua kelas antibiotik. Diperlukan pengembangan alternatif agen terapi lain dalam menangani peningkatan kasus resistensi bakteri. Jeruk sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) adalah tanaman yang terdapat di Kalimantan Barat, Indonesia. Air perasan dari buah ini mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan air perasan jeruk sambal sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. **Metode:** Air perasan jeruk sambal dibuat dengan mensterilkan buah, kemudian dipotong menjadi dua, diambil sari buahnya dengan diperas dan disaring menggunakan kertas saring. Metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*) digunakan sebagai metode pengujian aktivitas antibakteri. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 4 konsentrasi: 25%, 50%, 75%, dan 100%, kontrol positif (Siprofloksasin 5 µg/disk) dan kontrol negatif (akuades steril). **Hasil:** Analisis fitokimia menunjukkan terdapat kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenolik pada air perasan jeruk sambal. Dimana saponin (+++) sebagai kandungan terbanyak. Aktivitas antibakteri didapati pada semua konsentrasi dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. **Kesimpulan:** Air perasan jeruk sambal mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro, sehingga dapat disimpulkan memiliki aktivitas antibakteri.

Kata kunci : Antibakteri., *Staphylococcus aureus*., *Citrus microcarpa Bunge*,

ABSTRACT

Background: Pneumonia can be caused by infection from one of the strains of *Staphylococcus aureus*, namely *Methicillin Resistance Staphylococcus aureus* (MRSA). *Staphylococcus aureus* has the potential to develop resistance for almost all classes of antibiotics. It is necessary to develop other alternative therapies for dealing with the increasing cases of bacterial resistance. Sambal orange (*Citrus microcarpa Bunge*) is a plant found in West Kalimantan, Indonesia. This fruit juice contains secondary metabolites that have antibacterial activity. **Objective:** This research project was conducted to investigate the antibacterial potential of chili orange juice against *Staphylococcus aureus*. **Methods:** To prepare the juice, the fruit was sterilized, cut in half, and squeezed to extract the juice. The resulting liquid was filtered using filter paper. The antibacterial activity was evaluated using the disc diffusion method (*Kirby-Bauer*). The treatment groups were categorized into four different concentrations: 25%, 50%, 75%, and 100%, positive control (Ciprofloxacin 5 µg/disc), and negative control (*sterile distilled water*). **Results:** Phytochemical analysis revealed that sambal orange juice contains alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and phenolics, with saponin being the most prominent (+++). The results indicated that the sambal orange juice exhibited antibacterial activity at all concentrations, with an inhibitory zone formed around the paper disc. Sambal orange juice has the potential to effectively inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in vitro.

Keywords : Antibacterial., *Staphylococcus aureus*., *Citrus microcarpa Bunge*,

PENDAHULUAN

Infeksi dapat terjadi diberbagai bagian tubuh manusia terutama sistem pernapasan. Infeksi saluran napas sendiri dikategorikan menjadi dua: Infeksi Saluran Pernapasan Bawah (ISPB) dan Infeksi Saluran Pernapasan Atas (ISPA).¹ ISPB adalah penyebab kematian ketiga paling umum di dunia, angka kematiannya mencapai 2,7 juta secara global.² Pneumonia merupakan bentuk dari ISPB akut, dimana pada pneumonia terjadi peradangan diparenkim paru sehingga mengganggu pertukaran oksigen dan karbon disoksida sehingga dapat menimbulkan angka kematian yang tinggi.^{1,3} Di Indonesia sendiri prevalensi kejadian pneumonia mengalami peningkatan dimana tahun 2013 angka prevalensi adalah 1,6% kemudian naik pada tahun 2018 menjadi 2%.⁴ Tidak jarang penyebab *Community Acquired Pneumonia* (CAP) adalah *Methicillin Resistance Staphylococcus aureus* (MRSA), di dunia kejadian CAP oleh MRSA sekitar 3%.⁵ MRSA merupakan salah satu strain dari bakteri *S. aureus*.⁶

S. aureus merupakan bakteri kokus Gram positif dan nonmotil yang paling sering ditemukan dapat menginfeksi kulit dan jaringan ikat. Organisme yang sangat kuat, dapat bertahan hidup di permukaan kering dalam waktu lama, tahan terhadap pengeringan dan pada konsentrasi garam tingkat tinggi pun masih dapat hidup.⁷ Diantara genus stafilokoki *S. aureus* adalah yang paling patogen dengan cakupan manifestasi klinis ringan seperti infeksi kulit hingga berkembang menjadi penyakit yang dapat mengancam jiwa.^{7,8}

Penatalaksanaan pneumonia yang memiliki risiko kecil terhadap patogen multiresisten obat, termasuk MRSA, adalah dengan menggunakan antibiotik seperti seftriakson, gemifloksasin, moksifloksasin, levofloksasin, dan siprofloksasin.³ Penemuan MRSA menjadi hal meresahkan bagi para praktisi, apalagi MRSA mulai sering menjadi penyebab pneumonia.^{5,9} Tentunya menjadi tantangan besar bagi para praktisi dalam pemilihan agen terapi terkait pengobatan infeksi bakteri ini, dimana *Staphylococcus aureus* memiliki potensi untuk mengembangkan resistensi terhadap hampir semua kelas antibiotik. Diperlukan pengembangan alternatif agen terapi lain dalam menangani peningkatan kasus resistensi bakteri.⁹

Masyarakat Indonesia melihat bahan alam sebagai salah satu alternatif yang digunakan sebagai pengobatan tradisional. Kepercayaan turun temurun akan khasiat tanaman serta diperkuatnya bukti keefektifan berbagai tanaman sebagai bahan obat oleh para peneliti menjadikan pengobatan tradisional sebagai alternatif pengganti obat kimiawi dan terus dikembangkan. Berbagai penyakit termasuk penyakit infeksi juga telah di terapi dengan pengobatan berbahan tanaman alami.¹⁰

Jeruk sambal atau dikenal dengan nama ilmiah *Citrus microcarpa Bunge* adalah tanaman yang tumbuh di Indonesia. Masyarakat Kalimantan Barat (KalBar) tentunya tidak asing dengan tanaman ini karena sering digunakan dalam keseharian. Buah jeruk sambal biasanya dimanfaatkan sebagai minuman dalam bentuk air perasan, pengawet makanan dan tambahan pengsedap masakan, sedangkan kulitnya digunakan sebagai pelengkap masakan tertentu.¹¹

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa dalam air perasan dari buah jeruk sambal memiliki kandungan berbagai metabolit sekunder. Kandungan senyawa yang dimaksud yaitu, limonen,

asam fenolik, α -terpineol, flavonoid dan linalool yang memiliki yang memiliki kemampuan antibakteri, termasuk terhadap bakteri *S. aureus*.¹²⁻¹⁸ Nurul Yanti, dkk telah melakukan analisis fitokimia terhadap air dari perasan jeruk sambal KalBar, dimana didapati kandungan yang belum pernah disebutkan diliteratur manapun yaitu, tanin, alkaloid, saponin, flavonoid, dan fenolik.¹⁹

Latar belakang yang telah dijabarkan menjadi alasan peneliti tertarik dalam mengamati kemampuan antibakteri air perasan jeruk sambal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Jeruk sambal diambil dari Desa Kalimas, KalBar dimana masyarakatnya memiliki perkebunan jeruk sambal. Kabupaten Kubu Raya sebagai tempat tanaman ini tumbuh memiliki jenis tanah aluvial. Peneliti berharap hasil dari penelitian ini dapat menjadi landasan rujukan dalam pengembangan terapi alternatif terhadap bakteri *S. aureus*.

BAHAN DAN METODE

Alat dalam penelitian ini meliputi: labu erlenmeyer, bunsen, jarum ose, rak tabung reaksi, pipet tetes, lidi kapas steril, kertas saring, inkubator, pisau, mikropipet, cawan petri, *Laminar Air Flow* (LAF), kertas saring, jangka sorong, gelas ukur, kaca objek, mikroskop, pinset, kaca penutup, corong penyaring, kapas, dan batang pengaduk.

Bahan dalam penelitian ini meliputi: air perasan (jeruk sambal), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), akuades steril, biakan murni bakteri, HCl 2 N, media *Mannitol Salt Agar* (MSA), reagen mayer, larutan NaCl 0.9%, reagen wagner, H₂SO₄ pekat, air panas, larutan kloroform, larutan FeCl₃ 5%, larutan standar Mc Farland, reagen dragendroff, siprofloksasin 5 μ g/disk, dan kertas cakram.

Pada penelitian ini desain penelitian yang digunakan adalah *posttest only control group design*. Kelompok perlakuan yaitu, konsentrasi air perasan jeruk sambal 25%, 50%, 75%, dan 100%. Siprofloksasin 5 μ g/disk digunakan sebagai kontrol positif sedangkan akuades steril sebagai kontrol negatif. Pengulangan akan dilakukan sebanyak 4 kali berdasarkan rumus *Federer*.

Buah jeruk sambal berasal dari perkebunan yang terletak di Desa Kalimas, Kubu Raya, KalBar. Buah yang digunakan langsung dipetik dari pohonnya dan merupakan buah yang sudah matang. Buah dikatakan sudah matang apabila memiliki warna hijau kekuningan pada kulitnya.²⁰

Air perasan jeruk sambal dibuat di rumah peneliti. Buah mula-mula dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan. Buah dibersihkan kembali menggunakan alkohol 70%. Setelah dipotong menjadi dua, buah diperas dan air perasan kemudian dimasukkan ke wadah bersih. Setelahnya air perasan disaring menggunakan kertas saring yang diletakkan diatas labu erlenmeyer. Kertas saring sebelumnya telah disterilkan dengan dimasukan ke dalam plastik dan dipanaskan dengan uap selama lima belas menit.²¹ Pada penelitian ini variasi konsentrasi air perasan jeruk nipis adalah 25%, 50%, 75%, dan 100%. Variasi konsentrasi dibuat menggunakan rumus pengenceran: $V1 \times M1 = V2 \times M2$. Pada konsentrasi 25% diberi perasan jeruk sambal 2,5 ml + akuades steril 7,5 ml, konsentrasi 50% diberi perasan jeruk nipis 5 ml + akuades steril 5 ml, konsentrasi 75% diberi perasan

jeruk nipis 7,5 ml + akuades steril 2,5 ml, dan konsentrasi 100% diberi perasan jeruk nipis 10ml.²²

Analisis fitokimia metabolit sekunder air perasan jeruk sambal dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura secara kualitatif terhadap alkaloid, flavonoid, saponin terpenoid, steroid, tannin, dan fenolik. Kandungan alkaloid diuji dengan memasukan 2 ml HCl 2 N ke dalam 5 ml air perasan jeruk sambal. Larutan yang telah dicampur kemudian dibagi ke dalam 3 tabung dengan masing-masing tabung terdapat 1 ml. Reagen mayer, wagner, dan dragendroff masing-masing ditetaskan pada tiap tabung. Terbentuknya endapan atau presipitat putih/kuning menandakan hasil positif pada pengujian dengan reagen mayer. Terbentuknya endapan coklat kemerahan menandakan hasil positif pada pengujian dengan reagen wagner. Terbentuknya endapan jingga atau coklat menandakan hasil positif pada pengujian dengan reagen dragendroff.²³

Kadar flavonoid diuji dengan meneteskan 3-7 tetes air perasan ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan beberapa tetes H₂SO₄ pekat. Jika didapati terbentuknya warna merah tua, oranye, atau kuning menandakan hasil positif.²⁴ Kadar saponin diuji dengan memasukan 2 ml air perasan jeruk sambal ke dalam 5 ml air panas, setelah itu dikocok selama 1 menit. Apabila terbentuk busa menandakan terdapat kandungan saponin.²⁵ Kadar terpenoid diuji dengan memasukan 1,5 ml larutan H₂SO₄ dan 1 ml larutan kloroform yang telah dicampurkan ke dalam 3 ml air perasan jeruk sambal. Apabila terbentuk perubahan warna menjadi coklat kemerahan menandakan terdapat kandungan terpenoid.²⁵ Kadar steroid diuji dengan memasukan 2 ml larutan kloroform dan 2 ml larutan H₂SO₄ yang telah dicampurkan ke dalam 2 mL air perasan jeruk sambal. Apabila terbentuk perubahan warna menjadi merah dan fluoresensi hijau kekuningan menandakan terdapat kandungan steroid.²⁵ Kadar fenolik diuji dengan metode FeCl₃, dimana 5 mL larutan FeCl₃ 5% dilarutkan ke dalam 5 mL air perasan. Apabila terbentuk perubahan warna menjadi menjadi hijau gelap menandakan terdapat kandungan fenolik.²⁵ Kadar tanin diuji dengan metode *Ferric Chloride test*, dimana 5 mL air perasan ditetaskan beberapa tetes larutan FeCl₃ 5%. Apabila terjadi perubahan warna menjadi hitam atau biru kehijauan menandakan terdapat kandungan tanin.²⁶

Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikroskopis Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dengan metode *disc diffusion* (Kirby-Bauer). Suspensi bakteri *S. aureus* akan diinokulasikan dengan metode apus (*swab*) menggunakan lidi kapas steril pada permukaan media MHA. Pertama-tama lidi kapas steril dimasukan ke dalam suspensi bakteri, terkhusus untuk bakteri Gram positif jangan ditiriskan pada tabung reaksi. Kemudian, suspensi bakteri dinokulasikan pada cawan petri dengan metode apus (*swab*) tiga arah, yang dilakukan sebanyak tiga kali. Apusan dilakukan dari atas ke bawah secara merata, setelah itu cawan petri diputar 60° ke kanan atau menggunakan *automatic plate rotator*.²⁷ Inokulum disebarkan hingga keseluruhan permukaan agar secara merata tanpa ada celah antar apusan.

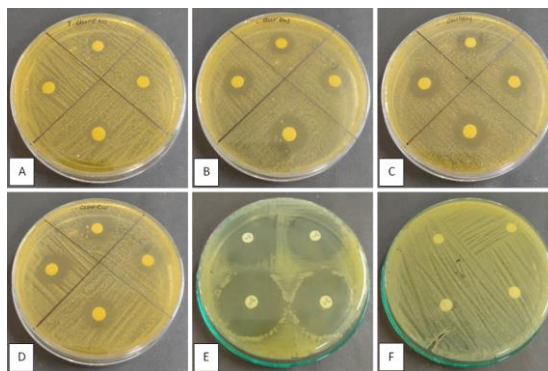
Tiap kertas cakram direndam ke dalam sampel air perasan jeruk sambal selama 7 menit dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Kontrol negatif menggunakan akuades steril, sedangkan kontrol positif menggunakan siprofloksasin 5

µg/disk.^{28, 29} Setelah itu, kertas cakram yang telah mengandung sampel, kontrol positif, dan kontrol negatif diletakkan diatas koloni bakteri *S. aureus* pada media MHA.³⁰ Media MHA kemudian diinkubasi pada suhu 35°C ± 2 selama 24 jam.^{28, 29, 31} Ketika 24 jam telah berlalu diamati ada tidaknya zona hambat atau zona jernih yang terbentuk disekitar kertas cakram. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran diameter zona hambat diambil dari rata-rata tiga sisi yang berbeda.²⁸

Analisis data pada penelitian ini diawali dengan uji normalitas data menggunakan uji Saphiro Wilk, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene*. Jika distribusi data normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji Analisis Varian Satu Arah (*One way-ANOVA*). Uji statistik ANOVA dilakukan untuk mengetahui perbedaan bermakna antar kelompok uji dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Analisis data dilakukan melalui aplikasi SPSS Statistics versi 25.0. Penelitian ini telah lolos kaji etik dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dengan nomor 4945/UN22.9/PG/2021.

HASIL

Koloni bakteri pada media MHA yang telah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 35°C ± 2, kemudian diukur zona hambatnya. Pengukuran dilakukan pada zona yang tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri *S. aureus* menggunakan jangka sorong. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuk zona hambat yang ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil zona hambat dari bakteri *S. aureus* terhadap variasi konsentrasi air perasan *Citrus microcarpa Bunge* (A) 25%; (B) 50%; (C) 75%; (D) 100%; (E) Kontrol positif (Siprofloksasin); (F) Kontrol negatif.

Berdasarkan zona hambat yang terbentuk pada gambar diatas menunjukkan rerata zona hambat setelah diukur pada kelompok konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, kontrol positif, dan kontrol negatif secara berurutan adalah 10,22mm, 16,04mm, 16,26mm, 16,71mm, 27mm, dan 0mm. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas jeruk sambal (*Citrus Microcarpa* Bunge) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)	Keterangan
	Pengulangan ke-					
	1	2	3	4		
25%	10,90	10,73	9,53	9,73	10,22	Resisten
50%	14,83	16,20	17,13	16,00	16,04	Intermediet
75%	16,40	16,10	15,93	16,63	16,26	Intermediet
100%	17,96	16,13	15,36	17,40	16,71	Intermediet
Kontrol (+)	26,27	26,9	28,3	26,57	27	Sensitif
Kontrol (-)	0	0	0	0	0	Zona hambat (-)

Analisis fitokimia dari air perasan jeruk sambal menunjukkan terdapat kandungan metabolit sekunder yaitu, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenolik. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis fitokimia air perasan *Citrus microcarpa* Bunge

Parameter uji	Sampel
Saponin	+++
Alkaloid (dragendroff)	++
Alkaloid (wager)	++
Alkaloid (mayer)	+
Flavonoid (Mg+ HCl)	+
Tanin	+
Fenolik	+
Steroid	-
Terpenoid	-

Keterangan: (-) tidak mengandung, (+) terkandung rendah, (++) terkandung cukup, (+++) terkandung tinggi

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan air perasan jeruk sambal memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* melalui terbentuknya diameter zona hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100 % secara berurutan adalah 10,22mm (resisten), 16,04mm (intermediet), 16,26mm (intermediet) dan 16,71 (intermediet). Diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar sesuai dengan semakin tingginya konsentrasi. Hal ini menandakan semakin tinggi konsentrasi air perasan jeruk sambal maka kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* semakin besar. Sedangkan kontrol positif menunjukkan diameter terbesar yaitu, 27mm (sensitif). Sesuai teori kontrol negatif tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat.

Perlu diketahui mengenai dinding sel *S. aureus* (bakteri gram positif) tersusun dari peptidoglikan. Peptidoglikan sendiri berasal dari ikatan antara gula amino N-asetilglukoaminase dan asam N-asetilmumarik. Dimana keduanya akan membentuk ikatan silang yang diperantarai oleh *Penicilin Binding Protein* (PBP) sehingga ikatan antar dinding sel akan lebih kuat.^{32, 33} Meskipun dinding sel bakteri gram (+) lebih tebal dibanding bakteri gram (-), namun secara struktural terdapat perbedaan yang berarti.^{32, 33, 34} Dinding sel bakteri gram (-) memiliki dua membran: membran luar (hidrofilik) dan membran dalam (lipofilik) sedangkan bakteri gram (+) hanya terdiri dari satu lapis membran (lipofilik).³⁴ Hal ini membuat *S. aureus* bersifat lebih peka terhadap antibiotik dan senyawa antibakteri dibanding gram negatif karena susunan dinding selnya.³²

Hasil skrining fitokimia terhadap air perasan jeruk sambal didapati terkandung flavonoid, alkaloid, fenol, tannin dan saponin. Flavonoid memiliki struktur yang mirip dengan antibiotik golongan kuinolon, dimana bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat *DNA gyrase*. Namun, efek antibakteri flavonoid pada bakteri gram positif bergantung pada sifat lipofiliknya dengan mengganggu dinding bakteri sebagai target utama.³⁴ Alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri melalui beberapa mekanisme diantaranya: menghambat sintesis asam nukleat dan protein, mengganggu permeabilitas membran sel, merusak membran dan dinding sel, menghambat proses metabolisme bakteri serta menghambat *efflux pump*.³⁵ Aktivitas antibakteri asam fenolik dilakukan dengan cara mengubah polaritas, mengubah permeabilitas membran plasma, menghambat enzim ekstraseluler, mengubah secara langsung metabolisme, dan mengganggu pertumbuhan bakteri dengan menghilangkan protein tertentu.³⁶ Tanin dapat menyebabkan tidak terbentuknya sel bakteri dengan menghambat DNA topoisomerasi dan *reverse transcriptase enzyme*.³⁷

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa saponin merupakan kandungan terbanyak dalam jeruk sambal. Saponin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan menyebabkan kebocoran enzim dan protein dari dalam sel.³⁸ Saponin adalah glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid. Saponin juga memiliki berbagai kelompok glikosil yang terikat pada posisi C3, namun pada beberapa saponin memiliki dua rantai gula yang menempel pada posisi C3 dan C17.³⁹ Struktur saponin tersebut menyebabkan permukaan

saponin mirip seperti sabun atau deterjen sehingga saponin dapat digunakan sebagai antibakteri. Saponin membentuk sebuah kompleks ireversibel dengan steroid dalam dinding sel bakteri yang mengakibatkan permukaan dinding sel bakteri menurun dan permeabilitas membran bakteri rusak.^{39, 40} Setelah itu, saponin akan masuk melalui membran sitoplasma yang akan mengganggu kestabilan membran sehingga sitoplasma bocor dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.⁴⁰

Fluorokuinolon adalah salah satu golongan obat antimikroba yang paling sering digunakan baik di rumah sakit maupun di masyarakat. Siprofloksasin menjadi salah satu fluorokuinolon pertama yang mendapatkan penggunaan klinis ekstensif terhadap patogen MRSA.⁴¹ Mekanisme kerja siprofloksasin adalah dengan menghambat DNA girase (topoisomerase II) dan topoisomerase IV yang terdapat dalam bakteri. Penghambatan terhadap enzim yang terlibat dalam replikasi, rekombinasi dan reparasi DNA tersebut mengakibatkan penghambatan terhadap pertumbuhan sel bakteri.⁴²

Analisis uji statistik dilakukan dengan program SPSS menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) satu arah dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) untuk melihat nilai perbandingan rata-rata yang signifikan antara diameter hambat pada variasi konsentrasi yang diujikan terhadap bakteri uji. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) antara konsentrasi air perasan dengan kontrol negatif dan kontrol positif.

SIMPULAN DAN SARAN

Air perasan jeruk sambal memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Senyawa metabolit sekunder (alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenolik) yang terkandung pada air perasan jeruk sambal merupakan faktor utama terhambatnya pertumbuhan bakteri, terutama saponin dengan kadungan kadar tertinggi. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) antara diameter zona hambat pada konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Penelitian ini hanya menggunakan air perasan dari jeruk sambal untuk melihat efek antibakterinya, namun penggunaan kulit dan biji jeruk sambal dapat dipertimbangkan untuk penelitian lebih lanjut. Selain itu, analisis fitokimia pada penelitian ini hanya dilakukan secara kualitatif, penelitian lebih lanjut analisis fitokimia air perasan jeruk sambal secara kuantitatif dapat diteliti lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

1. Puspitasari DE dan Syahrul F. Faktor risiko pneumonia pada balita berdasarkan status imunisasi campak dan status asi eksklusif. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 2015; 3(1): 69-81.
2. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. *Lancet*. 2015; 385(9963):117-71.
3. Warganegara E. Pneumonia Nosokomial (Hospital-acquired, Ventilator-associated, dan Health Care-associated Penumonia). *JK Unila*. 2017; 1(3): 612- 618.

4. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI. 2018.
5. Mantero M, Tarsia P, Gramegna A, Henchi S, Vanoni N, and Oasquale MD. Antibiotic therapy, supportive treatment and management of immunomodulation-inflammation response in community acquired pneumonia: review of recommendations. *Multidiscip Respir Med*. 2017; 12: 26.
6. Taylor TA and Unakal CG. *Staphylococcus Aureus*. StatPearls[internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020[diakses pada 19 Januari 2021]. Dapat diakses melalui: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
7. Bilung LM, Tahar AS, Kira R, Rozali AAM, and Apun K. High Occurrence of *Staphylococcus aureus* Isolated from Fitness Equipment from Selected Gymnasiums. *J of Enviromental and Public Health*. 2018; 2018.
8. Biturs AA, Peter OM, Abbas MA, and Goni MD. *Staphylococcus aureus: A review of Antimicrobial Resistance Mechanisms*. *Veterinary Sciences: Research and reviews*. 2018; 4(2): 43-50.
9. Fischbach, M.A. Walsh, T. *Antibiotics for Emerging Pathogen*. *Science*. 2009. 325(5944): 1089- 1093.
10. Apriliani M, Ramadhan AM, & Rijai L. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 2017; 5(1): 157- 164. <https://doi.org/10.25026/mpc.v5i1.232>
11. Wulandari M. Aktivitas Antioksidan Ekstran N-Heksan, Etil Asetat dan Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal. *Jurnal JJK*. 2013; 2(2): 90-94.
12. Cheong MW. *Chemical Components and Aromatic Profiles of Citrus and Coffee in Asia*. Thesis. Department of Chemistry: National University of Singapore. 2013. p.238.
13. Octaviani M, Fadhli H, & Yuneistya E. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) dengan Metode Difusi Cakram. *Pharm Sci Res*. 2019; 6 (1): 67.
14. Chen MH, Yang KM, Huang TC, & Wu ML. *Traditional Small-Size Citrus from Taiwan: Essential Oils, Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity*. *Medicines (Basel)*. 2017; 4(2): 28.
15. Mawan AR, Indriwati SE, dan Suhadi. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Buah *Syzygium polyanthum* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherchia coli*. *Bioeksperimen*. 2018; 4(1): 64-68.
16. Patricia AM, Jumaeri, dan Mahatmanti FW. Uji Daya Antibakteri Gel Hand Sanitizer Minyak Atsiri Seledri (*Apium graveolens*). *Indo J Chem Sci*. 2019; 8(1): 28-33.
17. Mawaddah N, Fakhurrrazi, dan Rosmaidar. Aktivitas antibakteri ekstrak tempe terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *JIMVET*. 2018; 2(3): 230-241.

18. Ramadhani N, Samudra AG, dan Pratiwi LWI. Analisis Penetapan Kadar Flavonoid Sari Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *JMPI*. 2019; 6(1): 53-58.
19. Yanti SN, Chandra VE, dan Vanesa V. Kajian Metabolit Sekunder dalam Air Perasan Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) yang Berasal dari Desa Kalimas, Kalimantan Barat. *Journal of pharmaceutical and sciences*. 2021;4(2):105-110.
20. Handoko DD, Napitupulu B dan Sembiring H. Penanganan Pascapanen Buah Jeruk. *Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Utara*. 2005:486-497.
21. Ojjezeh, T.I., Nwachukwu, S.E., dan Udoh, S.J. Antimicrobial Effect of Citrus aurantifolia Juice and *Veronica amygdalina* On Common Bacteria Isolates. *Der Pharma Chemica*. 2011; 3(1): 1-7.
22. Laia HCG, Yusliana, Daeli PJ, Sarwendah, dan Chiuman L. Uji Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus (L) Merr*) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. 2019; 15(2): 170-177.
23. Muthmainnah B. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol buah delima (*Punica granatum L.*) dengan metode uji warna. *Media Farmasi*. 2017; 13(2).
24. Puspa OE, Syahbanu I, dan Wibowo MA. Uji fitokimia dan toksisitas minyak atsiri daun pala (*Myristica fragans Houtt*) dari Pulau Lemukutan. *JKK*. 2017; 6(2): 1-6.
25. Balamurugan V, Fatima S, dan Velurajan S. A guide to phytochemical analysis. *IJARIE*. 2019;5(1):241-242.
26. Banu KS dan Cathrine L. General Techniques Involved in Phytochemical Analysis. *IJARCS*.2015;2(4):28.
27. Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *Am Soc Microbiol*. 2016.
28. Berlian Z, Fatiqin A, dan Agustina E. Penggunaan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* pada bahan pangan. *Jurnal Bioilmi*. 2016; 2(1): 51-58.
29. Ramli S, Radu S, Shaari K, Rukayadi Y. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of *Syzygium polyanthum L.* (Salam) Leaves against Foodborne Pathogens and Application as Food Sanitizer. *Biomed Res Int*. 2017; 2017: 9024246.
30. Balamurugan V, Fatima Sheerin, dan Velurajan S. A guide to phytochemical analysis. *IJARIE*. 2019; 5(1): 241-242.
31. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 34th ed. CLSI supplement M100. *Clinical and Laboratory Standards Institute*; 2024.
32. Hamidah MN, Rianingsih L, dan Romadhon. Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.
33. Anggita D, Nuraisyah S, dan Wiriansya EP. Mekanisme kerja antibiotik. *UMI Medical Journal*. 2022;7(1):46-58.
34. Yan Y, Xia X, Fatima A, Zhang L, Yuan G, dkk. Antibacterial activity and mechanisms of plant flavonoids against gram-negative bacteria based on the antibacterial statistical model. *Pharmaceuticals*. 2024;17(3):292. <https://doi.org/10.3390/ph17030292>
35. Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *Antibiotics (Basel)*. 2021 Mar 19;10(3):318. doi: 10.3390/antibiotics10030318. PMID: 33808601; PMCID: PMC8003525.
36. Liu J, Du C, Beaman HT, and Monroe MBB. Characterization of Phenolic Acid Antimicrobial and Antioxidant Structure–Property Relationships. *Pharmaceutics*. 2020; 12(419): 1-17.
37. Nuria, maulita cut, Faizaitun, Arvin, Sumantri. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus Atcc 25923*, *Escherichia Coli Atcc 25922*, dan *Salmonella Typhi Atcc 1408*. *Mediagro*. 2009;5(2):26–37.
38. Madduluri S, Rao KB, dan Sitaram B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.2013;5(4): 679-684.
39. Yanuartono HP, Nnurrozi A, dan Indarjulianto S. Saponin: Dampak terhadap Ternak (Ulasan). *Jurnal Peternakan Sriwijaya*. 2017;6(2):79-90.
40. Sudarmi K, Darmayasa IBG, dan Muksin IK. Uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzygium umini*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus ATCC*.
41. Weber SG, Gold HS, Hooper DC, Karchmer AW, and Carmeli Y. Fluoroquinolones and the Risk for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Hospitalized Patients. *Emerging Infectious Diseases*. 2003; 9(11); 1415-1422.
42. Faidiban AN, Posangi J, Wowor PM, dan Bara RA. Uji Efek Antibakteri *Chromodoris annae* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

