

PENGARUH BERBAGAI KONSENTRASI PERASAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) PADA PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*

Tiya Kumala Sari, Nunung Sulistyani¹⁾ dan Barinta Widaryanti¹⁾

¹⁾Akademi Analis Kesehatan Manggala Yogyakarta
Alamat Korespondensi: nunungsulistyani@yahoo.co.id

Article info

Received : 26-04-2022
Revised : 20-05-2022
Accepted : 24-05-2022
Publish : 27-06-2022

Abstrak

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang ditemukan pada kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat diobati dengan pemberian antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik dapat menyebabkan hipersensitivitas. Upaya untuk menghindari hipersensitivitas antibiotik yaitu dengan cara pemanfaatan tanaman sebagai alternatif antibiotik. Tanaman yang digunakan untuk pengobatan salah satunya adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh berbagai konsentrasi perasan jeruk nipis pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Parameter pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ditetapkan dengan menghitung jumlah koloni menggunakan metode hitung cawan (plate count) setelah pemberian perasan jeruk nipis pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hasil penelitian menunjukkan berbagai konsentrasi perasan jeruk nipis berpengaruh pada jumlah koloni *Staphylococcus aureus*. Perasan jeruk nipis konsentrasi 75% efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*, jumlah koloni bakteri, perasan jeruk nipis

Abstract

Staphylococcus aureus is a bacteria found on the skin, respiratory tract, and digestive tract. *Staphylococcus aureus* infections can be treated with antibiotics. However, the use of antibiotics can cause hypersensitivity. Efforts to avoid antibiotic hypersensitivity are by using plants as an alternative to antibiotics. One of the plants used for treatment is lime (*Citrus aurantifolia*). The purpose of this study was to examine the effect of various concentrations of lime juice on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* growth parameters were determined by counting the number of colonies using the plate count method after administration of lime juice at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. The results showed that various concentrations of lime juice had an effect on the number of *Staphylococcus aureus* colonies. Lime juice concentration of 75% was effective in reducing the number of *Staphylococcus aureus* colonies.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, number of colonies, lime juice

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri komensal yang terdapat di lubang hidung, tenggorokan, dan kulit manusia.

Selain sebagai bakteri komensal, *Staphylococcus aureus* juga merupakan bakteri patogen pada manusia (Tong *et al.*, 2015).

Infeksi *Staphylococcus aureus* banyak ditemukan pada kulit. Del Giudice (2020) menyebutkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan patogen yang umum menginfeksi kulit yang dapat menyebabkan impetigo, follikulitis, furunkel, dan abses primer.

Penyakit kulit yang timbul akibat infeksi *Staphylococcus aureus* dapat diobati dengan pemberian antibiotik. Namun penggunaan antibiotik dapat menimbulkan efek samping, yaitu timbulnya resistensi. Chambers & Deleo (2009) menyebutkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang memiliki kemampuan resisten terhadap berbagai antibiotik.

Resistensi *Staphylococcus aureus* dapat dihindari dengan memanfaatkan tanaman sebagai alternatif antibiotik. Tanaman obat yang dapat digunakan adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Secara empiris, masyarakat menggunakan jeruk nipis untuk mengobati batuk, jerawat, dan ketombe. Sampai saat ini, banyak penelitian yang membuktikan secara ilmiah tentang manfaat dari jeruk nipis.

Chusniah & Muhtadi (2017) melalui kajian literatur menyebutkan bahwa jeruk nipis berpotensi sebagai antibakteri pada pertumbuhan beberapa jenis bakteri. Razak, Djamil & Revilla (2013) menyebutkan bahwa jeruk nipis memiliki senyawa antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat terbesar pada konsentrasi tertinggi. Dwiyantri *et al.* (2018) membuktikan bahwa jeruk nipis juga mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat sebesar 20,75 mm pada konsentrasi 100%.

Berdasarkan uraian di atas dan belum banyak terdapat data kuantitatif mengenai pengaruh perasan jeruk nipis terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan hitung cawan (*plate count*), maka

dilakukan kajian tentang pengaruh pemberian perasan jeruk nipis terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, yaitu dengan perlakuan pemberian perasan jeruk nipis berbagai konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% pada *Staphylococcus aureus*. Rancangan penelitian ini adalah *post-test only control group design*. Dalam rancangan ini terdapat dua kelompok perlakuan. Kelompok pertama adalah kelompok perlakuan dan kelompok kedua adalah kelompok kontrol.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, cawan petri, dirgalski, dan mikroskop. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta, standar *Mac Farland 1*, buah jeruk nipis muda dengan kulit berwarna hijau dan diameter 3 cm, cefadroxil, *Manitol Salt Agar* (MSA), dan *Muller Hinton Agar* (MHA).

Uji Kemurnian Isolat

Uji kemurnian isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan mengambil 2 ose suspensi bakteri, kemudian diinokulasikan ke media MSA, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram, uji katalase, dan uji koagulase.

Perhitungan Jumlah Koloni

Perhitungan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan metode hitung cawan (*plate count*) yang dinyatakan sebagai total koloni dalam satuan CFU/ml.

Sebanyak 24 cawan petri steril disiapkan. 16 cawan petri masing-masing diisi dengan konsentrasi perasan buah jeruk nipis sebanyak 1 ml sebagai kelompok perlakuan, 4 cawan petri masing-masing diisi dengan 1 ml antibiotik cefadroxil sebagai kelompok

kontrol positif, dan 4 cawan petri tanpa penambahan antibiotik sebagai kelompok kontrol negatif. Selanjutnya, masing-masing cawan petri tersebut ditambahkan media MHA yang dicairkan dengan suhu ± 40 °C sebanyak 11 ml. Kemudian dihomogenkan dan dibiarkan membeku, lalu diinokulasikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 10 μ l dan disebar menggunakan dirglasky, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pengamatan dan penghitungan dilakukan terhadap koloni yang tumbuh pada kelompok perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kemurnian Isolat

Hasil uji kemurnian isolat *Staphylococcus aureus* ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni berwarna kuning pada media MSA, merupakan Gram positif dengan sel berbentuk coccus, uji katalase positif dengan terbentuknya gelembung udara, dan uji koagulase positif ditandai terbentuknya aglutinasi. Hasil tersebut dibandingkan dengan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* seperti terlihat pada Tabel 1.

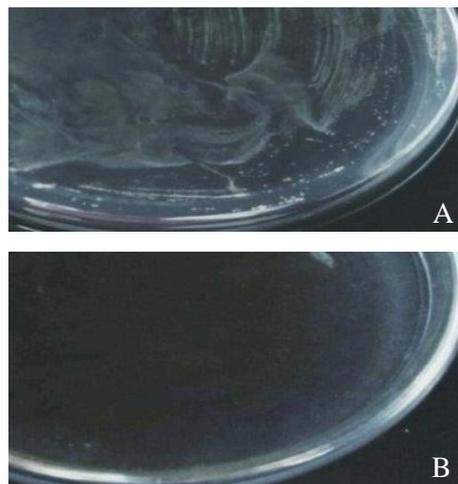
Tabel 1. Hasil Uji Kemurnian Isolat *S. aureus*

Karakter	Hasil Uji	<i>Bergey's Manual</i>
Warna koloni	Kuning keemasan	Kuning keemasan
Bentuk sel	<i>Coccus</i>	<i>Coccus</i>
Pewarnaan Gram	+	+
Katalase	+	+
Koagulase	+	+

Tabel 1 menunjukkan bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini merupakan isolat murni *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya isolat bakteri uji dapat digunakan untuk uji perhitungan jumlah koloni.

Perhitungan Jumlah Koloni

Hasil perhitungan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini membuktikan bahwa pada kelompok kontrol tanpa pemberian antibiotik perasan jeruk nipis berbagai konsentrasi mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* (Gambar 1).



Gambar 1. Contoh pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus*. A. kontrol negatif, B. Perasan jeruk nipis konsentrasi 75%

Jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan antar konsentrasi. Semakin besar konsentrasi perasan jeruk nipis, semakin sedikit koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Penghitungan Rerata Jumlah Koloni pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol

Kelompok	Rerata Jumlah koloni (CFU/mL)
Perasan jeruk nipis konsentrasi 25%	2×10^8
Perasan jeruk nipis konsentrasi 50%	$2,5 \times 10$
Perasan jeruk nipis konsentrasi 75%	0
Perasan jeruk nipis konsentrasi 100%	0
Cefadroxil 5%	0

Tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 75% sama dengan kelompok kontrol positif dengan pemberian antibiotik Cefadroxil 5%.

PEMBAHASAN

Uji Kemurnian isolat *Staphylococcus aureus*

Uji kemurnian *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini menggunakan media MSA. Pada media MSA, koloni *Staphylococcus aureus* berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol dan menghasilkan asam. Leboffe J. Michael & Pierce E. Burton (2011) menyebutkan bahwa media MSA digunakan untuk isolasi dan diferensiasi *Staphylococcus aureus*. Media MSA terdiri dari manitol, 7,5% NaCl, indikator pH *phenol red*. *Phenol red* berwarna kuning jika pH di bawah 6,8, berwarna merah pada pH 7,4-8,4, dan berwarna merah muda dengan pH di atas 8,4. Spesies patogenik *Staphylococcus aureus* memfermentasi manitol dan memproduksi asam yang mengubah indikator pH menjadi kuning.

Pewarnaan Gram pada uji kemurnian ini menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan Gram positif yang ditandai dengan warna ungu pada sel. Pollack (2018) menjelaskan bahwa bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tersusun atas lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dengan derajat ikatan silang lebih besar (karena kandungan asam teikoat). Asam teikoat dapat bereaksi dengan zat warna kristal ungu dan iodine sehingga membentuk kompleks dari molekul- molekul kristal ungu iodine-asam teikoat yang sulit dihilangkan oleh alkohol, sehingga bakteri Gram positif berwarna ungu.

Uji katalase pada penelitian ini menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* memiliki enzim katalase yang mampu memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan

O_2 . Mustafa (2014) membuktikan bahwa *Staphylococcus aureus* memproduksi katalase dan dapat digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dan *Streptococcus*. Senada dengan El-Hadedy & Abu El-Nour (2012) menyatakan bahwa identifikasi *Staphylococcus aureus* secara konvensional ditunjukkan dengan hasil positif pada uji katalase.

Uji koagulasi pada penelitian ini membuktikan bahwa *Staphylococcus aureus* memiliki enzim koagulasi yang ditunjukkan dengan terbentuknya gumpalan seperti pasir putih setelah ditetesi dengan plasma EDTA. McAdow, Missiakas & Schneewind (2012) menjelaskan bahwa isolat klinis *Staphylococcus aureus* mengeluarkan koagulasi, polipeptida yang mengikat dan mengaktifkan protrombin, sehingga mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan meningkatkan pembekuan plasma atau darah.

Penghitungan Jumlah Koloni

Perasan jeruk nipis pada berbagai konsentrasi yang diberikan pada kelompok perlakuan menunjukkan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Kemampuan perasan jeruk nipis dalam menghambat *Staphylococcus aureus* diduga bahwa perasan jeruk nipis mengandung senyawa aktif antibakteri.

Salah satu aktivitas farmakologi dari jeruk nipis adalah sebagai antibakteri (Prastiwi & Ferdiansyah, 2013). Aktivitas antibakteri dari jeruk nipis ditunjukkan dengan perubahan morfologi sel yaitu dengan rusaknya dinding sel dan berongga sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Handoko & Yuliana, 2014).

Jeruk nipis memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan saponin (Okwu, 2008; Oikeh *et al.*, 2016). Rosyidah *et al.* (2010) menjelaskan senyawa saponin mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Nugraha, Prasetya and Mursiti (2017) menyatakan bahwa senyawa

flavonoid mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menyebabkan kerusakan pada dinding sel, membran sel dan protein membran sehingga terjadi kebocoran isi sel (Dong *et al.*, 2020). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah menghambat sintesis asam nukleat dan merusak dinding sel bakteri, menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri, dan menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan *phospholipase* (Cushnie & Lamb, 2005)

Berdasarkan penghitungan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini, dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi perasan jeruk nipis akan semakin sedikit koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh. Hal ini kemungkinan kandungan senyawa aktif antibakteri akan semakin banyak pada konsentrasi yang lebih tinggi. Senada dengan Lingga, Pato & Rossi (2016) membuktikan bahwa pada konsentrasi tertinggi aktivitas antibakteri semakin baik yang ditunjukkan dengan semakin besar zona hambat yang terbentuk.

Perasan jeruk nipis pada konsentrasi 75% dan 100% memiliki aktivitas antibakteri yang sama dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* pada media MHA. Berdasarkan kandungan asam sitrat yang terdapat pada masing-masing konsentrasi perasan jeruk nipis, maka konsentrasi perasan jeruk nipis yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 75%. Dalimartha (2008) menyebutkan bahwa jeruk nipis mengandung asam sitrat sebanyak 7%.

Asam sitrat tersebut akan menyebabkan jeruk nipis memiliki rasa asam.

Penggunaan antibiotik cefadroxil 5% pada penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dengan kelompok perlakuan perasaan jeruk nipis pada konsentrasi 75% dan 100%. Namun, kemungkinan penggunaan antibiotik lebih efektif dalam membunuh *Staphylococcus aureus*.

Antibiotik cefadroxil memiliki efek bakterisid dengan cara memecah enzim dinding sel dan menghambat enzim dalam sintesis dinding sel. Katzung (2015) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid memiliki sifat bakteristatik yang bekerja hanya menghambat pertumbuhan organisme tetapi tidak membunuhnya. Flavonoid juga dapat bersifat bakterisid tergantung dengan konsentrasinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Sumono & SD, 2008). Penelitian lanjutan perlu dilakukan, kajian pada uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan pada penelitian adalah perasaan jeruk nipis konsentrasi 75% efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Saran pada penelitian ini adalah perlu dilakukannya kajian uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM).

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Akademi Analis Kesehatan Manggala yang telah mendanai penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Chambers, H. F. and Deleo, F. R. (2009) 'Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era.', *Nature reviews. Microbiology*, 7(9), pp. 629–41. doi: 10.1038/nrmicro2200.
- Chusniah, I. and Muhtadi, A. (2017) 'Review Artikel : Aktivitas Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Antibakteri, Antivirus, Antifungal, Larvasida dan Athelmintik', *Farmaka*, 15(2),

- pp. 9–22.
- Cushnie, T. P. T. and Lamb, A. J. (2005) 'Antimicrobial activity of flavonoids', *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), pp. 343–356. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002.
- Dalimartha, S. (2008) *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 5*. Jilid 4. Puspa Swara.
- Dong, S. *et al.* (2020) 'Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria', *Industrial Crops and Products*, 149, p. 112350. doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112350.
- Dwiyanti, R. D. *et al.* (2018) 'Efektivitas Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Escherichia coli*', *Jurnal Skala Kesehatan*, 9(2). doi: 10.31964/jsk.v9i2.161.
- El-Hadedy, D. and Abu El-Nour, S. (2012) 'Identification of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from Egyptian food by conventional and molecular methods', *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 10(1), pp. 129–135. doi: 10.1016/j.jgeb.2012.01.004.
- Del Giudice, P. (2020) 'Skin infections caused by *staphylococcus aureus*', *Acta Dermatovenereologica*, 100(100-year theme Cutaneous and genital infections), pp. 208–215. doi: 10.2340/00015555-3466.
- Handoko and Yuliana, F. (2014) 'Stability Study of Antibacterial Activity of Mixed Lime Juice and Honey of Heating Temperature on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*', 21(2), pp. 1–7.
- Nutrition*, 4(1), pp. 103–109. doi:
- Katzung, B. G. 2015 (2015) *Handbook Farmakologi Dasar dan Klinik*. 4th edn. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Leboffe J. Michael & Pierce E. Burton (2011) *A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory*. 4th edn, Morton Publishing Company. 4th edn. Edited by D. N. Morton. colorado: morton publishing. doi: 10.2174/187152008785133128.
- Lingga, R. A., Pato, U. and Rossi, E. (2016) 'Uji Anti Bakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*', *Jom Faperta*, 3(2), pp. 33–37.
- McAdow, M., Missiakas, D. M. and Schneewind, O. (2012) 'Staphylococcus aureus secretes coagulase and von willebrand factor binding protein to modify the coagulation cascade and establish host infections', *Journal of Innate Immunity*, 4(2), pp. 141–148. doi: 10.1159/000333447.
- Mustafa, H. S. I. (2014) *Staphylococcus aureus* Can Produce Catalase Enzyme When Adding to Human WBCs as a Source of H₂O₂ Productions in Human Plasma or Serum in the Laboratory', *Open Journal of Medical Microbiology*, 04(04), pp. 249–251. doi: 10.4236/ojmm.2014.44028.
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T. and Mursiti, S. (2017) 'Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Sebagai Antibakteri Dari Daun Mangga', *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2), pp. 91–96.
- Oikeh, E. I. *et al.* (2016) 'Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates', *Food Science and*

- 10.1002/fsn3.268.
- Okwu, D. E. (2008) 'Citrus fruits: A rich source of phytochemicals and their roles in human health', *International Journal of Chemical Sciences*, 6(2), pp. 451–471. Available at: [http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2008/1_6\(2\)2008.pdf](http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2008/1_6(2)2008.pdf).
- Pollack, R. A. (2018) *Lab Exercises in Microbiology*. 5th edn. Wiley.
- Prastiwi, S. S. and Ferdiansyah, F. (2013) 'KANDUNGAN DAN AKTIVITAS FARMAKOLOGI JERUK NIPIS (Citrus aurantifolia s.)', *Farmaka*, 15(2), p. 2.
- Razak, A., Djamal, A. and Revilla, G. (2013) 'Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Secara In Vitro', *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2(1), p. 05. doi: 10.25077/jka.v2i1.54.
- Rosyidah, K. *et al.* (2010) 'Dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi', *BIOSCIENTIAE*, 7(2), pp. 25–31.
- Sumono, A. and SD, A. W. (2008) 'The use of bay leaf (*Eugenia polyantha* Wight) in dentistry', *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 41(3), p. 147. doi: 10.20473/j.djmg.v41.i3.p147-150.
- Tong, S. Y. C. *et al.* (2015) 'Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management', *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), pp. 603–661. doi: 10.1128/CMR.00134-14.