

## **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix D.C*) Dengan DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta crantz*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO**

**Anggie Novtania Hasyim<sup>1</sup>, Nenny Triastuti<sup>2</sup>, Nur Mujaddidah Mochtar<sup>3</sup>, Ayu Lidya Paramita<sup>4</sup>**

- 1) Universitas Muhammadiyah Surabaya
- 2) Universitas Muhammadiyah Surabaya
- 3) Universitas Muhammadiyah Surabaya
- 4) Universitas Muhammadiyah Surabaya

### **Abstrak**

Penyakit infeksi bakteri merupakan penyebab penyakit paling umum yang dapat ditemukan di daerah tropis seperti negara Indonesia. Adanya faktor ekstrinsik dapat memudahkan mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit mencoba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang dengan baik. Bakteri gram positif yang paling sering menyebabkan infeksi salah satunya spesies *Staphylococcus aureus*. Daun jeruk purut dan daun singkong mengandung senyawa aktif flavonoid, minyak atsiri (sitronellal), saponin, tannin, fenolik, steroid dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya kombinasi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) memiliki efektivitas yang sebanding atau lebih baik dibandingkan dengan antibiotik standar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Daun jeruk dan daun singkong diekstraksi dengan metode maserasi pelarut etanol 70% kemudian dilakukan uji orientasi dan uji kombinasi antibakteri dengan metode difusi. Hasil dikombinasikan dengan perbandingan konsentrasi (1:1), (0,5:0,5), (1:0,5) dan (0,5:1). Data dianalisa secara statistic dengan uji Shapiro-wilk, homogenitas levene, dilanjutkan uji One-Way Anova dan Uji Post Hoc yakni Uji Tukey HSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun jeruk purut dan daun singkong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Kombinasi ekstrak paling efektif pada perbandingan konsentrasi 0,5:0,5 dengan rata-rata diameter zona hambat  $11,33 \pm 1,56$  mm.

**Kata Kunci : Antibakteri, Daun Jeruk Purut, Daun Singkong, *Staphylococcus aureus*, In Vitro**

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi bakteri merupakan penyebab penyakit paling umum yang dapat ditemukan di daerah tropis seperti negara Indonesia. Karakteristik daerah tropis yakni memiliki kelembapan optimum antara 60-90% dan juga suhu yang hangat berkisar 35°C-40°C (Rikhsan Kurniatuhadi, 2019). Adanya faktor ekstrinsik dapat memudahkan mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit mencoba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang dengan baik (Maija, Lambui dan Pitopang, 2016). Bakteri gram positif yang paling sering menyebabkan infeksi salah satunya spesies *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) (Niswah, Indrayati dan Sari, 2023). Bakteri *S.aureus* merupakan patogen yang berbahaya dan memiliki berbagai jenis infeksi, seperti infeksi pada kulit yaitu impetigo bulosa/krustosa, folikulitis, bakteremia, endocarditis hingga *Staphylococcus aureus* yang resisten methicillin (MRSA) (Del P, 2020). Prevalensi MRSA di RSUD dr. Soetomo Surabaya tahun 2020 sebesar 8,1% dari 643 pasien; 5,4% terdapat di tenggorokan; 3,9% terdapat di rongga hidung; dan 1,2% di tenggorokan dan rongga hidung (Nismawati dan Agus, 2018).

Alternatif pilihan untuk mengatasi resisten antibiotik yaitu penggunaan tanaman herbal sebagai antibakteri. Indonesia salah satu negara yang memiliki ragam flora dan fauna, dari sekian banyak flora di Indonesia telah banyak para ahli taksonomi yang berhasil di identifikasi (Zulkarnain *et al.*, 2021). Oleh karena itu, peneliti ingin memanfaatkan Tanaman herbal salah satu bagian dari tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan alternatif. Keberadaan daun jeruk purut dan daun singkong di Indonesia mudah didapatkan, murah dan menunjukkan potensi farmakologis dalam pengobatan berbagai penyakit. Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Niswah (2023) daun jeruk purut terbukti memiliki efek antibakteri dengan menunjukkan zona hambat kuat sekitar 12,32 mm pada konsentrasi 25% terhadap bakteri *S.aureus*. Penelitian syariah dan ilmu (2022) membuktikan daun singkong sebagai antibakteri pada konsentrasi 15% menunjukkan zona hambat kuat sekitar 11,1 mm terhadap bakteri *S.aureus*. Menurut Pratama *et al.*, (2017) menjelaskan bahwa penggabungan ekstrak tanaman yang disatukan memiliki daya hambat antibakteri yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal.

Pada penelitian ini, peneliti ingin menggunakan kombinasi tanaman daun jeruk purut dan daun singkong untuk membuktikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram untuk mengamati zona hambat yang terbentuk. Penelitian ini dilakukan orientasi konsentrasi yang dimulai dari konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% dan 50%. Berdasarkan uraian di atas, maka mendorong peneliti untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) terhadap bakteri *S.aureus* secara in vitro yang diharapkan memiliki efek yang sinergis.

## METODE

Penelitian ini merupakan kuantitatif secara *True eksperimental laboratorik in vitro* dengan desain penelitian *posttest Only Control Group Design*. Sampel dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* biakan murni yang didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surabaya dan kombinasi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dan ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) pada perbandingan 1:1, 0,5:0,5, 1:0,5 dan 0,5:1.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Jarum Ose, lampu spirtus, pemantik, bunsen, timbangan analitik, cawan petri, jangka sorong, mikropipet, beaker glass 5 Liter, botol maserasi 4,5 liter, rak tabung reaksi, spatula, pinset, blender, penangas air, laminar air flow (biobase), kapas steril, kertas cakram, Sendok tanduk, batang pengaduk, inkubator, gelas beaker, kain flannel, kertas saring, labu erlenmeyer, mortir, lidi kapas steril dan corong. Bahan yang digunakan adalah Simplisia Daun jeruk purut, Simplisia daun singkong, ekstrak kental duan jeruk purut dan ekstrak kental daun singkong, aquadestilata, liquid dimethylsulfoxide (DMSO), etanol 70%, bakteri *Staphylococcus aureus*, Kloramfenikol disk 30 $\mu$  g, media Nutrient Agar, larutan NaCl.

### Penyiapan Sampel

Pengumpulan bahan simplisia daun jeruk purut didapatkan dari CV. Herbal Anugrah Alam bantul, Yogyakarta. Bahan baku serbuk daun jeruk purut-Mesh 80 yang dibeli seberat 1,5kg dengan kadar air yang terkandung sekitar 9.78% dengan metode pengujian Gravimetric yang telah ditetapkan buku Farmakope Herbal Indonesia. Bahan baku simplisia daun singkong diperoleh dari PT. Palapa Muda Perkasa depok, Jawa Barat seberat 1,5kg. Kadar air daun singkong yang terkandung sebesar 4.02% dengan alat oven mempert. Standar farmakope herbal Indonesia menyebutkan bahwa kandungan air yang bagus terkandung pada simplisia <10%.

### Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) dan Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta crantz*)

Simplisia daun jeruk purut dan simplisia daun singkong masing-masing ditimbang sebanyak 500 gr dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut yang digunakan sebagai maserasi ialah etanol 70% karena dapat menarik senyawa aktif pada ekstrak lebih banyak, aman, mudah didapatkan dan tidak beracun (Novian, 2020). Simplisia direndam dalam pelarut sebanyak 5000 ml (perbandingan 1:10) selama 5 hari pada suhu ruang. Selanjutnya hasil yang diperoleh disaring. Filtrat dari hasil maserasi selanjutnya dilakukan rotary evaporator dengan suhu 50°C dengan RPM 200 yang dilanjutkan langkah pemekatan menggunakan Oven dengan suhu 50°C selama 3 hari untuk mendapatkan ekstrak kental. Tujuan rotary evaporator ini adalah untuk memisahkan etanol 70% pada proses maserasi agar menghasilkan senyawa aktif yang terkandung

pada ekstrak sedangkan Pemekatan menggunakan oven ini bertujuan untuk memisahkan sisa pelarut yang terkandung pada rotary evaporator, sehingga ekstrak yang dihasilkan adalah kandungan ekstrak murni didalam ekstrak kental.

### **Pembuatan Variasi Uji Orientasi Konsentrasi Ekstrak Daun Jeruk purut dan Ekstrak Daun Singkong**

Uji orientasi kosentrasi dari masing-masing ekstrak dimulai dari konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% dan 50%. Pelarut konsentrasi ekstrak menggunakan larutan DMSO 5% dengan volume DMSO 10 ml ditambahkan 90 ml aquadest steril. Ekstrak daun jeruk purut dan ekstrak daun singkong dapat dilakukan dengan cara menimbang 0,5 gram; 1 gram; 1,5 gram; 2 gram; 2,5 gram; 3 gram; 3,5 gram; 4 gram; 4,5 gram dan 5 gram kemudian diencerkan dengan aquadest steril ad 5 ml menggunakan cawan porselin sampai larutan homogen. Larutan uji konsentrasi dipindahkan ke dalam tabung reaksi steril yang diambil menggunakan pipet volume dan masing-masing tabung reaksi diberi label konsentrasi.

### **Pembuatan Suspensi Biakan Bakteri *Staphylococcus aureus***

Bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dengan menggunakan Ose dan disuspensikan dalam tabung suspensi bakteri dengan cara melarutkan beberapa Ose bakteri dalam 5 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga kekeruhannya sesuai dengan standar 0,5 Mcfarland dimana setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml (Ningrum, Ramadanti dan Muthoharoh, 2020).

### **Inokulasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Miring**

Suspensi bakteri terstandar Mc Farland 0,5 diambil menggunakan lidi kapas steril sebanyak satu kali lalu di streak (gores) zigzag pada cawan petri yang berisi media Nutrient Agar (NA) dan diamkan sekitar 5 menit atau hingga memadat pada suhu ruang (Niswah, Indrayati dan Sari, 2023).

### **Pembuatan Kombinasi Konsentrasi Ekstrak Daun Jeruk Purut dan Ekstrak Daun Singkong**

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dibuat dengan berbagai perbandingan. Perbandingan ini didapatkan dari hasil uji orientasi konsentrasi yang termasuk kategori zona hambat kuat dengan konsentrasi terkecil. Perbandingan kombinasi yang digunakan adalah 1:1 (40%:40%); 0,5:0,5 (20%:20%); 1:0,5 (40%:20%) dan 0,5:1 (20%:40%). Perbandingan kombinasi 1:1 yakni konsentrasi 40% dengan ditimbang 0,4 gr ekstrak kental daun jeruk dilarutkan dengan DMSO 5% 1 ml lalu dilarutkan hingga homogen dan dipindahkan ke tabung reaksi yang sudah diberi label lalu ditimbang 0,2 gr ekstrak kental daun singkong dilarutkan dengan DMSO 5% 1 ml lalu diarutkan hingga homogen dan dipindahkan ke tabung reaksi yang berisi larutan konsentrasi 40%. Perbandingan 0,5:0,5 (20%:20%) ditimbang 0,2 gr masing-masing

ekstrak kental dan ad dmso 5% 1 ml. perbandingan 1:0,5(40%:20%) ditimbang 0,4 gr ekstrak kental daun jeruk purut dan ad dmso 5% 1 ml : ditimbang 0,2 gr ekstrak kental daun singkong ad dmso 5% 1 ml. perbandingan 0,5:1 (20%:40%) ditimbang 0,2 gr ekstrak kental daun jeruk purut ad dmso 5% 1 ml : ditimbang 0,4 gr ekstrak kental daun singkong ad dmso 5% 1 ml.

### **Penyajian larutan Kontrol**

**Kontrol Positif**, Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol disk 30 $\mu$ g/disk.

**Kontrol Negatif**, Kontrol negatif yang digunakan adalah larutan DMSO 5%. Larutan DMSO 5% disajikan dari penjualan market online toko hijau yang telah ter standart.

### **Uji Aktivitas Antibakteri Pada Ekstrak Daun Jeruk Purut dengan Daun Singkong Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.**

Pengujian ini memerlukan sterilisasi alat dan bahan. Pengujian aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi cakram dan media yang digunakan adalah media Nutrient Agar (NA). Alasan menggunakan metode NA yakni digunakan untuk melihat pertumbuhan zona hambat terhadap isolate bakteri yang ditumbuhkan pada media selain itu media NA tidak mengandung karbohidrat dan konsistensi media padat sehingga bakteri *S.aureus* dapat tumbuh dengan optimal dengan memanfaatkan nitrogen dan komponen lainnya seperti asam amino pada komponen media (Nasution *et al.*, 2024). Larutan kombinasi di mikropipet sebanyak 20  $\mu$ L ke dalam kertas cakram steril untuk direndam selama 5 menit lalu kertas cakram tersebut ditempelkan ke media NA yang telah di goreskan mikroba *S.aureus*. Media NA dilakukan inkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C.

## **HASIL**

### **Hasil Ekstraksi Daun Jeruk Purut**

Penelitian ini menggunakan simplisia daun jeruk purut sebanyak 500 gr dan simplisia daun singkong sebanyak 500 gr lalu dimaserasi dengan 5 Liter etanol 70% dan hasil rotary evaporator diperoleh ekstrak kental sebanyak 30 gram. Warna ekstrak kental daun jeruk purut berwarna hitam kecoklatan sedangkan warna ekstrak kental daun singkong berwarna hitam pekat.



A

B

**Gambar 1.** (a) Ekstrak kental daun jeruk purut, Gambar (b). Ekstrak kental daun singkong (DokumentasiPribadi)

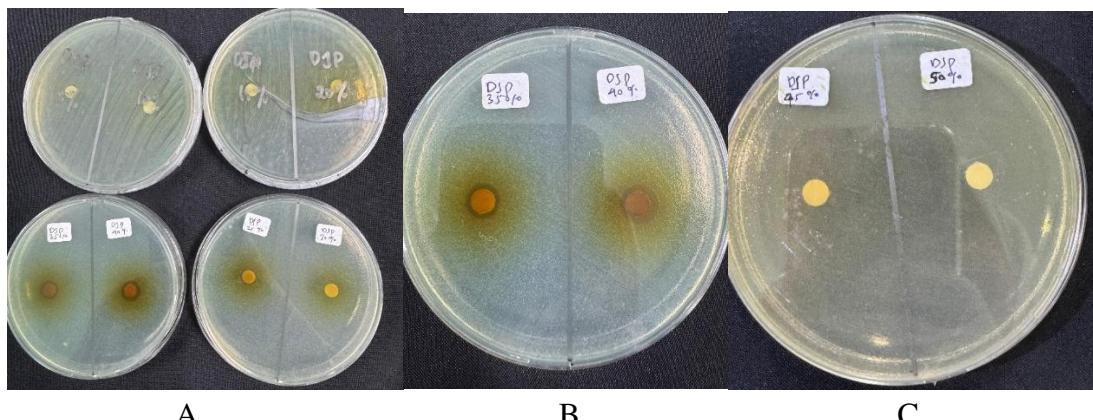
### Hasil Uji Orientasi Ekstrak Daun Jeruk Purut dan Daun Singkong

Uji orientasi kosentrasi dari masing-masing ekstrak dimulai dari konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% dan 50%. Larutan ekstrak orientasi konsentrasi diteteskan ke dalam kertas cakram steril sebanyak 20  $\mu\text{L}$  menggunakan mikropipet. Pinggiran cawan petri diberi parafilm lalu dibungkus menggunakan kertas hvs. Cawan petri dilakukan inkubasi dilakukan selama 48 jam dengan suhu 37°C. Secara umum, terlihat bahwa terdapat hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada kelompok orientasi konsentrasi dengan hasil pada tabel 1 dan tabel 2 sebagai berikut:

**Tabel 1** Zona hambat pada orientasi konsentrasi ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) pada 1x24 jam

Kelompok Sampel	Zona Hambat (mm)	Respon Hambatan
5%	0	Tidak ada zona hambat
10%	0	Tidak ada zona hambat
15%	8,58	Sedang
20%	9,55	Sedang
25%	10,20	Sedang
30%	8,1	Sedang
35%	10,80	Sedang
40%	11	Kuat
45%	10,60	Sedang
50%	10,30	Sedang

Sumber: Dokumentasi Pribadi



A

B

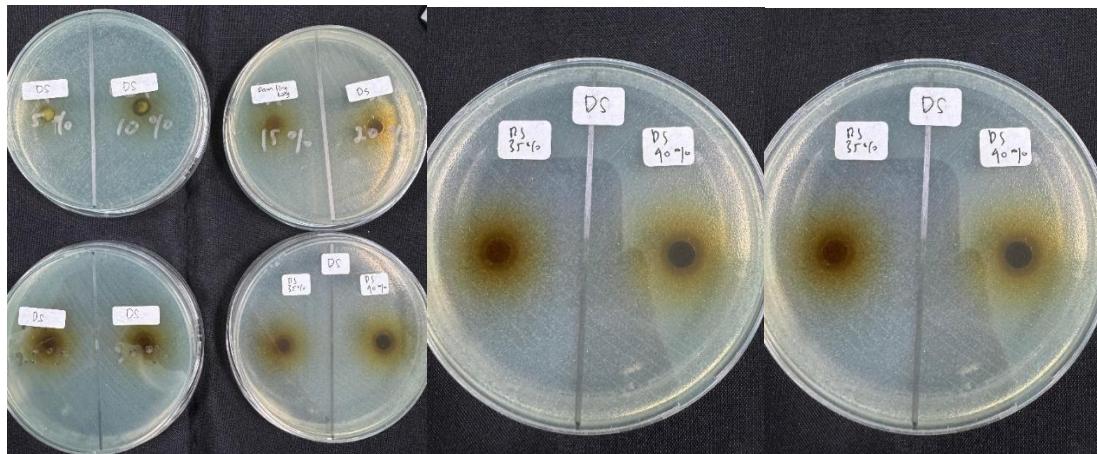
C

**Gambar 2.** Gambar (a) Hasil orientasi daun jeruk purut 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, Gambar (b) Hasil orientasi daun jeruk purut 35%, 40%, Gambar (c) Hasil orientasi daun jeruk purut 45% dan 50% (DokumentasiPribadi)

**Tabel 2** Zona Hambat pada orientasi konsentrasi ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta crantz*) pada 1x24 jam

Kelompok Sampel	Zona Hambat (mm)	Respon Hambatan
5%	7,2	Sedang
10%	8,55	Sedang
15%	8,80	Sedang
20%	8,90	Sedang
25%	11,40	Kuat
30%	10,10	Sedang
35%	10,60	Sedang
40%	11,50	Kuat
45%	10,20	Sedang
50%	10	Sedang

Sumber : Dokumentasi Pribadi



A

B

C

**Gambar 3.** Gambar (a) Hasil orientasi daun singkong 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, Gambar (b) Hasil orientasi daun singkong 35%, 40%, Gambar (c) Hasil orientasi daun singkong 45% dan 50% (DokumentasiPribadi)

### **Uji Kombinasi Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*.**

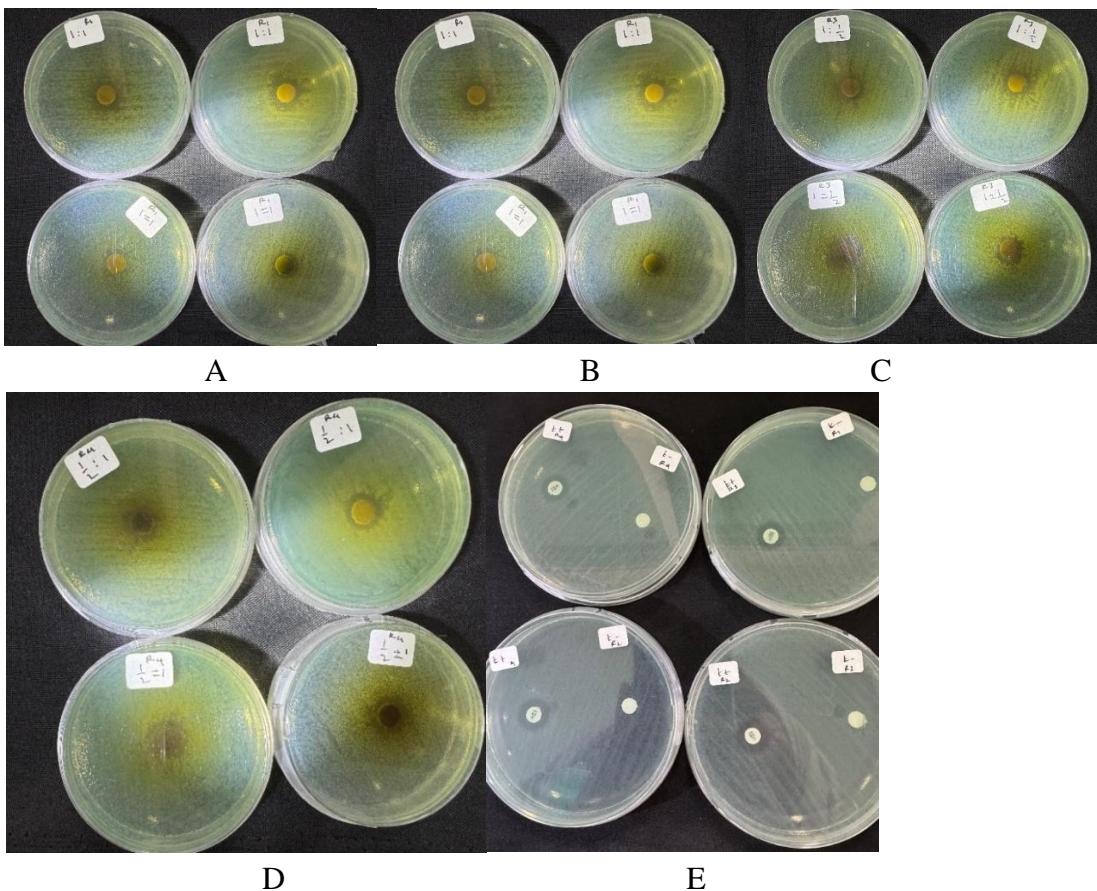
Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi yaitu dengan menempelkan kertas cakram yang telah direndam konsentrasi ekstrak daun jeruk purut dan daun singkong dengan larutan kombinasi 1:1 (40%:40%); kombinasi 0,5:0,5(20%;20%), kombinasi 1:0,5 (40%:20%) dan kombinasi 0,5:1 (20%:40%) ke dalam cawan petri yang berisi media NA yang telah di streaking bakteri *Staphylococcus aureus*. Cawan petri dilakukan inkubasi selama 1x24 jam untuk dilihat zona hambat yang terbentuk. Perlakuan ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Kontrol positif yaitu kloramfenikol disk dan kontrol negative yaitu Larutan DMSO 5%. Hasil penelitian kombinasi terlihat pada tabel 3 sebagai berikut:

**Tabel 3** Hasil uji kombinasi ekstrak daun jeruk purut dengan ekstrak daun singkong sebanyak 4 kali replikasi

<b>Perlakuan</b>	<b>Diameter zona hambat (mm)</b>				<b>Rata-Rata ± SD</b>	<b>Respon Hambatan</b>
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>		
EDJP : EDS (1:1)	7,2	8,2	11,05	10,80	9,33±1,90	Sedang
EDJP : EDS (0,5 : 0,5)	9,32	12	11	13	11,33±1,56	Kuat
EDJP : EDS (1:0,5)	10,20	11,10	10	10,90	11,07±0,53	Kuat
EDJP : EDS (0,5 : 1)	10,90	12	7,6	11,80	10,57±2,04	Sedang
Kontrol (+)	13,90	13,5	13,10	13,70	13,55±0,34	Intermediate
Kontrol (-)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	Tidak ada zona hambat

Keterangan :

- Kontrol (+) : Kloramfenikol disk
- Kontrol (-) : Larutan DMSO 5%
- EDJP : EDS (1:1) : Ekstrak daun jeruk purut 40% : Ekstrak daun singkong 40%
- EDJP : EDS (0,5:0,5) : Ekstrak daun jeruk purut 20% : Ekstrak daun singkong 20%
- EDJP : EDS (1:0,5) : Ekstrak daun jeruk purut 40% : Ekstrak daun singkong 20%
- EDJP : EDS (0,5:1) : Ekstrak daun jeruk purut 20% : Ekstrak daun singkong 40%



**Gambar 4.** Gambar (a) Hasil pengujian perbandingan 1:1 dengan replikasi, Gambar (b) Hasil pengujian perbandingan 0,5:0,5 dengan replikasi, Gambar (c) Hasil pengujian perbandingan 1:0,5 dengan replikasi, Gambar (d) Hasil pengujian perbandingan 0,5:1 dengan replikasi dan Gambar (e) Kontrol positif dan Negatif dengan replikasi (DokumentasiPribadi).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak dengan perbandingan 0,5:0,5 memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dalam menghambat *S. aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat  $11,33 \pm 1,56$  mm kemudian dilanjutkan dengan perbandingan 1:1, 1:0,5 dan 0,5:1 yang memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar  $9,33 \pm 1,90$  mm,  $11,07 \pm 0,53$  mm dan  $10,57 \pm 2,04$  mm. Pada kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:1, 0,5:1 menghasilkan daya hambat pada kategori sedang Sedangkan perbandingan 0,5:0,5 dan 1:0,5 menghasilkan daya hambat pada kategori kuat. Zona hambat Kloramfenikol disk sebagai control positif yang dihasilkan menurut tabel CLSI termasuk kategori Intermediate dengan rata-rata zona hambat  $13,55 \pm 0,34$  mm. Kontrol Negatif Larutan DMSO 5% menghasilkan daya hambat terhadap bakteri *S.aureus* dengan kategori tidak terbentuk zona hambat.

### Analisis Data Menggunakan SPSS

Uji normalitas dilakukan dengan Shapiro-Wilk untuk mengetahui apakah data yang terkandung distribusi normal atau tidak. Hasil uji normalitas aktivitas antibakteri

ekstrak daun jeruk purut dengan ekstrak daun singkong terhadap bakteri S.aureus disajikan pada tabel 4 sebagai berikut:

**Tabel 4** Uji Normalitas Saphiro-Wilk

		Tests of Normality		
		Shapiro-Wilk	df	Sig.
	Kelompok_perlakuan	Statistic		
Diameter_Zona_Hambat	DJPDS1:1	.867	4	.286
	DJPDS0,5:0,5	.984	4	.923
	DJPDS1:0,5	.895	4	.409
	DJPDS0,5:1	.807	4	.115
	KontrolPositif	.971	4	.850
	KontrolNegatif	.	4	.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 4 menunjukkan bahwa semua data kelompok perlakuan diperoleh lebih besar dari yaitu  $P>0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa data diameter zona hambat kombinasi ekstrak daun jeruk purut dengan ekstrak daun singkong terhadap bakteri Staphylococcus aureus berdistribusi normal. Uji selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang bertujuan untuk menguji apakah setiap data perlakuan tersebut secara homogen atau tidak. Data terdistribusi normal dan homogen sebagai salah satu syarat untuk dilakukannya Parametric tes. Hasil uji homogenitas disajikan pada Tabel 5 sebagai berikut:

**Tabel 5** Hasil Uji Homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	Based on Mean	5.395	5	18	.003
	Based on Median	2.873	5	18	.045
	Based on Median and with adjusted df	2.873	5	5.183	.132
	Based on trimmed mean	4.847	5	18	.006

Berdasarkan data *Based on Media and with Adjusted Of homogenitas* terlihat bahwa nilai Sig = 0,132 dimana nilai  $p>0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut tersebut homogen. Syarat pengujian data menggunakan One Way ANOVA telah terpenuhi dan dapat dilanjutkan ke tahap uji One Way Anova.

Uji *One Way Anova* merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat daya antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan daun singkong (*Manihot*

*esculenta crantz*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji One Way Anova disajikan pada Tabel 6 sebagai berikut :

**Tabel 4** Hasil Uji *One Way Anova*

**ANOVA**

Diameter\_Zona\_Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	447.292	5	89.458	50.311	.000
Within Groups	32.006	18	1.778		
Total	479.298	23			

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan uji Anova diperoleh nilai yang signifikan sebesar 0.000 ( $p < 0.05$ ). Interpretasi nilai tersebut adalah bahwa memiliki perbedaan yang signifikan ekstrak daun jeruk purut dengan daun singkong terhadap aktivitas antibakteri bakteri *S.aureus*.

Uji statistik terakhir yakni uji Post Hoc menggunakan uji *Tukey HSD* untuk melihat kelompok perlakuan mana saja yang menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hasil Uji *Tukey HSD* disajikan pada tabel 7 sebagai berikut :

**Tabel 7.** Hasil Uji *Tukey HSD*

**Diameter\_Zona\_Hambat**

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok_perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KontrolNegatif	4	.0000		
DJPDS1:1	4		9.3125	
DJPDS1:0,5	4		10.5500	
DJPDS0,5:1	4		10.5750	10.5750
DJPDS0,5:0,5	4		11.3300	11.3300
KontrolPositif	4			13.5500
Sig.		1.000	.312	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Hasil uji Tukey HSD menunjukkan kelompok kombinasi DJPDS 0.5:0.5 memiliki efektivitas yang sama dengan kontrol positif terhadap aktivitas antibakteri. Dari hasil uji analisis data dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) memiliki akvititas antibakteri.

## DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data diperoleh bahwa kombinasi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada perbandingan 0,5 : 0,5 Dimana

perbandingan 0,5 di daun jeruk purut pada konsentrasi 20%, sedangkan perbandingan 0,5 di daun singkong pada konsentrasi 20%.

#### A) Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol. Antibiotik kloramfenikol dikategorikan sebagai kategori Intermediate, dengan rata-rata nilai 13,55 mm yang lebih dari 13mm artinya memiliki efektivitas yang baik terhadap bakteri *S.aureus*. Zona hambat yang terbentuk oleh kontrol positif disebabkan karena antibiotik kloramfenikol menghambat sintesis protein mikroba dan bersifat bakteriostatik (Mastra, 2018).

#### B) Kontrol Negatif

Kontrol negatif bertujuan untuk melihat apakah zona hambat yang dihasilkan murni dari kandungan ekstrak atau tidak dan untuk melihat apakah pelarut yang digunakan mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk. Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut DMSO 5%. Hasil pengukuran ini adalah 0 mm, yang artinya tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### C) Kombinasi Ekstrak terhadap Antibakteri

Hasil rata-rata Kombinasi pada perbandingan 1:1 sebesar 9,3 mm, rata-rata perbandingan 0,5:0,5 sebesar 11,33 mm , rata-rata perbandingan 1:0,5 sebesar 11,07mm dan rata-rata perbandingan 0,5:1 sebesar 10,57 mm. Penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Niswah, Indrayati dan Sari (2023) yang melakukan penelitian “Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) dan Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Dengan Metode Pita Kertas” efektif pada perbandingan 1:2 menghasilkan zona hambat yang sangat kuat sedangkan dalam penelitian ini perbandingan 0,5:0,5 menghasilkan zona hambat kuat. Kontrol positif antibiotik chloramfenikol disk dengan rerata zona hambat yakni 13,55 mm atau paling besar dibandingkan pemberian variasi konsentrasi ekstrak yang artinya pemberian antibiotik masih sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Daun jeruk purut dan daun singkong memiliki kandungan flavonoid, saponin dan tannin, dimana ketika dilakukan kombinasi menunjukkan efek gabungan senyawa metabolit sekunder aktif lebih besar dibandingkan secara tunggal sehingga mampu berperan dalam antibakteri didukung dengan kandungan sitronellal yang terkandung pada minyak atsiri dan 1,8% tannin didalam jeruk purut terhadap bakteri *S.aureus*. Mekanisme kerja ekstrak dalam peranan antibakteri ialah dengan merusak dinding sel bakteri dan merusak komponennya. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang dinding sel nya memiliki banyak kandungan peptidoglikan namun sedikit lipid. Peptidoglikan pada *S.aureus* berfungsi sebagai kelangsungan hidup bakteri sehingga penghambatan sintesisnya sering menyebabkan kematian (Syariah dan Ilmu, 2022).

## KESIMPULAN

1. Hasil uji orientasi aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 40%.
2. Hasil uji kombinasi aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada perbandingan 0,5:0,5 (20%:20%).
3. Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) memiliki akvititas antibakteri.

## REFERENSI

- Anggraini, W. et al. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical journal of indonesia*, 5(1): 61–66.
- Ayu, D. F. dan Restuhadi, F. (2016). Optimasi Ekstraksi dan Karakterisasi Sifat Fisikio-Kimia Minyak Dari Biji Picung (*Pangium edule Reinw*). *Agriculture Journal*, pp: 1–9.
- Del Giudice P. (2020). Skin Infections Caused by *Staphylococcus aureus*. *Acta dermatovenereologica*, 100(9), adv00110. <https://doi.org/10.2340/00015555-3466>.
- Depkes RI., 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, pp:6-7.
- Maija, F., Lambui, O. dan Pitopang, R. (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Tumbuhan *Harrisonia perforata* (BLANCO) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biocelebes*, 10(1): 18–26.
- Meriyani, H. et al. (2021). *Antibiotic Use and Resistance at Intensive Care Unit of a Regional Public Hospital in Bali: A 3-Year Ecological Study*. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 10(3): 180–189. doi: 10.15416/ijcp.2021.10.3.180.
- Nasution, W. et al. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus Scaber L*) Terhadap Bakteri *Shigella Dysentriae* dengan Metode Difusi Cakram *The effectiveness of liman tread leaves (Elephantopus Scaber L) ethanol extract against shigella dysenteria*. *Biospecies*, 14(1): 18–23.
- Ningrum, W. A., Ramadanti, M. dan Muthoharoh, A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi Linn.*) dan Ekstrak Etanol

Daun Blimbing Manis (*Averrhoa carambola* Linn.) Terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(1): 46–51. doi: 10.31596/cjp.v4i1.84.

Nismawati, R. S. dan Agus, R. (2018). Deteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Pada Pasien Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Dengan Metode Kultur. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 4(1): 978–602.

Niswah, S. U., Indrayati, A. dan Sari, G. N. F. (2023). Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) DAN Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Dengan Metode Pita Kertas. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 27(3): 110–118. doi: 10.20956/mff.v27i3.27092.

Novian, N. H. (2020) “Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (Cucurbita, p-ISSN: 2089-5313 e-ISSN: 2549-5062 [http://ejurnal.poltekegal.ac.id/index.php/parape\\_mikir](http://ejurnal.poltekegal.ac.id/index.php/parape_mikir) E-mail: parapemikir@poltekegal.ac.id Analisis. *Jurnal poltekegal.ac.id/index.php/parapemikir*, 9(1): 54–59.

Pajan, S. A., Waworuntu, O. dan Leman, M. A. (2016). Potensi Antibakteri Air Perasan Bawang Putih(*Allium sativum* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(4)(4): 77–81.

Patel S, Preuss CV, Bernice F. Vancomycin. [Updated 2023 Mar 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459263/>

Permatasari, A., Batubara, I. dan Nursid, M. (2020). Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Waktu Maserasi terhadap Rendemen, Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Padina australis. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera : A Scientific Journal* , 37(2): 78–84. doi: 10.20884/1.mib.2020.37.2.1192.

Porchera, B. R. et al. (2024). *Linezolid and vancomycin for nosocomial infections in pediatric patients: a systematic review*. *Jornal de Pediatria*, 100(3): 243. doi: 10.1016/j.jped.2023.08.011.

Pratama, D., Suprihadi, A. dan Raharjo, B. (2017). Efektivitas Kombinasi Ekstrak Bahan Herbal (Mengkudu, Pepaya, Kunyit) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. *Jurnal Biologi*, 6(2): 7–16.

Qorik'ah, L. U., Putri, A. E. dan Huda, C. (2023). Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh dan daun pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmasipha : Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 7(1): 44–51. doi: 10.21111/pharmasipha.v7i1.8868.

Rikhsan Kurniatuhadi, M. A. F. R. (2019). Deteksi Keberadaan Bakteri *Staphylococcus* di Udara Dalam Ruangan Pasar Tradisional Kota Pontianak. *Jurnal Protobiont*, 8(2): 30–34. doi: 10.26418/protobiont.v8i2.32479.

Saputra, K. A., Puspawati, N. M. dan Suirta, I. W. (2017). Kandungan Kimia Minyak Atsiri Dari Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*. doi: 10.24843/jchem.2017.v11.i01.p10.

Sari, D. I. et al. (2021). *Lime Peel Liquid (Citrus aurantifolia, Swingle) Inhibit Escherichia Coli In Vitro*. *Jurnal Medik Veteriner*, 4(1): 63–71. doi: 10.20473/jmv.vol4.iss1.2021.63-71.

Sari, N. (2024). Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix D.C.*) dan Daun Sirih (*Piper betle L.*) dalam Menekan Pertumbuhan *Fusarium sp.* Secara In Vitro. pp: 1–21

Syariah, K. B. dan Ilmu, G. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Singkong (Manihot esculenta) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Penelitian Biologi*, 8 September 2016, pp: 1–6.

Zulkarnain, Z. et al. (2021). Potensi Kandungan Senyawa Ekstraksi Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta L.*) Sebagai Kandidat Antibiotik Alami. *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*, 15(2): 190. doi: 10.24252/teknosains.v15i2.19545.