

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Tujuan dilakukannya penelitian eksperimental ini adalah untuk mengetahui adanya efek antimikroba ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii* secara *In Vitro*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Metode tersebut digunakan untuk dapat menentukan pada konsentrasi berapa ekstrak kulit jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan *Acinetobacter baumannii*. Hal tersebut dilakukan dengan cara mengukur zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Zona hambat yang terlihat bening tersebut menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri uji.

Penghambatan pertumbuhan bakteri tidak selalu menandakan bahwa terjadi kematian bakteri karena metode difusi tidak bisa membedakan suatu bahan antimikroba bersifat bakteriosidal atau bakteriostatik. Selain itu, metode difusi juga tidak dapat digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) karena sulit untuk menghitung kuantitas antimikroba yang terdifusi ke medium. Untuk mengetahui efek bakteriosidal atau bakteriostatik suatu bahan antimikroba dapat dilakukan dengan menggunakan metode dilusi tabung untuk menentukan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Balouiri *et al.*, 2016). Namun, pada penelitian ini tidak dapat dilakukan penentuan KHM dan KBM karena hasil yang didapatkan pada penelitian pendahuluan dengan metode dilusi tabung tidak konsisten.

Sampel bakteri yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang. Langkah awal dalam penelitian ini adalah melakukan uji identifikasi bakteri terlebih dahulu untuk memastikan bakteri yang akan digunakan. Uji identifikasi yang dilakukan meliputi pengecatan Gram, pembiakan bakteri pada media agar *MacConkey*, tes oksidase, dan uji biokimia dengan *Microbact 12A/12E*. Hasil dari uji indentifikasi menunjukkan bakteri yang digunakan adalah *Acinetobacter baumannii*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang sudah melalui proses ekstraksi metode maserasi dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Banyaknya bubuk kulit jeruk nipis yang digunakan adalah 100 gram, sedangkan hasil ekstrak cairnya sebanyak 60 mL. Ekstrak kulit jeruk nipis sendiri memiliki bahan aktif seperti alkaloid, saponin, tannin, dan flavonoid yang dapat digunakan sebagai antimikroba (Nogota *et al.*, 2006).

Konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 100%, dan 0% sebagai kontrol kuman. Konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan.

Langkah penelitian selanjutnya adalah menguji aktivitas antimikroba ekstrak kulit jeruk nipis terhadap *Acinetobacter baumannii*. Pengamatan kuantitatif dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran yang diberi ekstrak. Pengukuran diameter zona hambat tersebut menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm). Hasil dari uji tersebut

menunjukkan bahwa zona hambat terbentuk disekitar lubang sumuran pada konsentrasi 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, dan 100%. Diameter terkecil terbentuk pada konsentrasi 10% sebesar 7,3 mm yang menunjukkan bahwa terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri uji.

Bahan aktif dalam ekstrak kulit jeruk nipis seperti alkaloid, tannin, flavonoid, dan saponin memiliki efek antimikroba yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*. Alkaloid dapat menurunkan sintesis asam nukleat bakteri dengan menghambat enzim topoisomerase I dan II. Selain itu, alkaloid juga memiliki kemampuan untuk mengganggu regulasi gen dan mengganggu fimbriae dan adhesin bakteri sehingga dapat membunuh bakteri (Cushnie *et al.*, 2014).

Tannin sebagai antimikroba bekerja dengan melarutkan lapisan lipid dinding bakteri sehingga menyebabkan kebocoran sel dan bakteri menjadi hancur. Selain itu, tannin juga merubah susunan ikatan hidrogen dan membentuk kompleks dengan nitrogen dari asam amino pada sel bakteri sehingga sehingga menyebabkan kebocoran sel dan mati. (Al-Ani *et al.*, 2008).

Flavonoid bekerja dengan menghambat enzim DNA girase, fungsi membran sitoplasmik, dan metabolisme energi. Hal tersebut mengakibatkan bakteri kehilangan fungsi vitalnya dan mati (Cushnie *and* Lamb, 2005).

Aktivitas antimikroba saponin berhubungan dengan kemampuannya merubah fungsi glikoprotein membran plasma dan membentuk kompleks saponin-kolesterol. Hal tersebut mengakibatkan organisasi membran fosfolipid terganggu dan menyebabkan bakteri lisis (Hassan, 2008). Dari penjelasan tersebut dapat disimpulkan bahwa kandungan alkaloid, tannin, flavonoid, dan saponin yang ada

pada ekstrak kulit jeruk nipis memiliki efek antimikroba, sehingga kulit jeruk nipis dapat digunakan sebagai obat yang bersifat antimikroba atau antibakteri.

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa pada setiap pemberian konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis terdapat perbedaan efek yang bermakna terhadap diameter zona hambat yang terbentuk.

Uji analisis kedua yang dilakukan adalah uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah perbedaan antarkonsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis memberikan pengaruh yang bermakna atau tidak. Hasil menunjukkan bahwa antara konsentrasi satu dengan yang lain memiliki perbedaan yang bermakna kecuali antara konsentrasi 14% dengan 16% dan konsentrasi 16% dengan 18%.

Uji analisis ketiga yang digunakan adalah uji korelasi *Spearman* untuk mengetahui keeratan hubungan antara konsentrasi pemberian ekstrak kulit jeruk nipis dengan diameter zona hambat yang terbentuk. Hasil menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna yang kuat antara pemberian ekstrak dengan diameter zona hambat. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, disimpulkan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis memiliki efek antimikroba terhadap *Acinetobacter baumannii* secara *In Vitro*. Zona hambat terbentuk di sekitar lubang sumuran pada konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis sebesar 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, dan

100%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis yang digunakan, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Efek penambahan konsentrasi ekstrak tersebut berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*. Dari penjelasan diatas, maka ekstrak kulit jeruk nipis, sesuai dengan hipotesa, dapat digunakan sebagai antimikroba.

Beberapa ekstrak herbal lain juga telah diteliti mengenai efek antimikroba terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii*. Salah satunya, penelitian yang dilakukan oleh Andriana tentang pengaruh ekstrak daun petai cina (*Leucaena leucocphala* L.) terhadap *Acinetobacter baumannii* dengan metode difusi cakram. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun petai cina pada konsentrasi 25% menghasilkan zona hambat rata-rata sebesar 8,4 mm (Andriana, 2011).

Penelitian lain yang meneliti tentang pengaruh ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan metode difusi agar menunjukkan hasil zona hambat sebesar 6,0 mm (Intorasoot *et al.*, 2017). Jika dibandingkan kedua penelitian tersebut, ekstrak kulit jeruk nipis tampak lebih baik sebagai antimikroba karena dengan konsentrasi yang lebih rendah mampu menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar. Pada ekstrak kulit jeruk nipis yang digunakan untuk penelitian, konsentrasi 14% menghasilkan zona hambat sebesar 8,7 mm. Hal tersebut mungkin dikarenakan metode yang digunakan berbeda.

Penelitian lain mengenai efek antimikroba dari ekstrak kulit jeruk nipis pernah dilakukan sebelumnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro* menggunakan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis memiliki efek antimikroba pada *Staphylococcus aureus*

dengan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70%. Rata-rata zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi tersebut secara berurutan adalah sebesar 9,25 mm, 13,50 mm, 15,37 mm, 20,00 mm, dan 20,25 mm (Vajriana, 2013).

Selain itu, ekstrak kulit jeruk nipis sebagai antimikroba juga pernah diuji dengan bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode dilusi tabung. Hasil penelitian tersebut menunjukkan ekstrak kulit jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, dan 100%. Kadar Hambat Minimal (KHM) antimikroba didapatkan sebesar 75% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 100% (Valencia, 2015).

Ekstrak kulit jeruk nipis dengan konsentrasi 50% juga dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis juga memiliki efek antijamur (Putri, 2014).

Menurut Prakoso, dkk, tingkat sensitivitas ekstrak antimikroba dapat dikategorikan berdasar zona hambat yang terbentuk menjadi kuat, sedang, dan lemah. Suatu antimikroba herbal dikatakan berefek yang kuat bila diameter zona hambat yang terbentuk adalah 10-20 mm, berefek sedang bila diameter 5-10 mm, dan berefek lemah bila diameter <5 mm (Prakoso dkk, 2016). Rata-rata zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini adalah berkisar 7,3 mm sampai dengan 16,6 mm. Ekstrak kulit jeruk nipis dengan konsentrasi 10%, 12%, 14%, 16%, dan 18% memiliki efek antimikroba dengan kategori sedang, sedangkan konsentrasi 100% memiliki efek antimikroba yang kuat.

Penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan, seperti tidak diketahui secara pasti kandungan dan seberapa banyak bahan aktif yang ada dalam ekstrak kulit jeruk nipis. Selain itu, juga tidak diketahui bahan aktif mana yang paling

berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*. Penelitian dengan metode sumuran ini juga tidak bisa menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak kulit jeruk nipis terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii*, sehingga diperlukan uji dengan metode yang lain untuk menentukan KHM dan KBM, seperti dilusi tabung. Metode dilusi tabung sebelumnya telah dikerjakan pada penelitian pendahuluan, tetapi tidak dapat dijadikan patokan karena hasil dari campuran ekstrak 100% dengan bakteri terlihat lebih gelap dibandingkan dengan kontrol bakteri.

Uji lebih lanjut untuk meneliti efek toksik, efek samping, farmakodinamik, dan farmakokinetik dari ekstrak kulit jeruk nipis masih perlu dilakukan. Dengan kata lain, masih diperlukan penelitian lanjut agar ekstrak kulit jeruk nipis bisa diaplikasikan secara klinis sebagai obat pada manusia.