

Uji Efektivitas Kombinasi Ekstrak Arang Tempurung Kelapa Dan Jeruk Nipis Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Negatif

Testing the Effectiveness of a Combination of Coconut Shell Charcoal Extract and Lime Juice Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria

Kurniawan^{1*}

Hidayah Anisa Fitri²

Tantri Analisawati
Sudarsono³

Nabila Nurfazria⁴

Selvy Yenitasari⁵

^{1*, 3, 4} Program Studi Teknologi Laboratorium Medik D4, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto, Indonesia

² Program Studi SI Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto, Indonesia

⁵ Program Studi SI Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto, Indonesia

*email: kurniawan@ump.ac.id

Abstrak

Sabun cuci piring dapat dibuat menggunakan alkali, triglycerida dan ditambah dengan berbagai jenis bahan alam yang mengandung senyawa antimikroba seperti ekstrak jeruk nipis dan arang tempurung kelapa. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan kombinasi ekstrak etil asetat jeruk nipis dan ekstrak etil asetat arang tempurung kelapa dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif dan untuk mengetahui konsentrasi kombinasi ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang. Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental yang diawali dengan tahap ekstraksi sampai tahap uji efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etil asetat jeruk nipis dan arang tempurung kelapa efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*S. aureus* dan *B. subtilis*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*) yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram. Kemampuan kombinasi kedua jenis ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji memiliki konsentrasi optimal yang berbeda-beda (P4, P5 dan P2). Kesimpulan dari penelitian ini adalah kombinasi ekstrak etil asetat jeruk nipis dan arang tempurung kelapa efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*S. aureus* dan *B. subtilis*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*) yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram, dan terdapat tiga konsentrasi kombinasi ekstrak etil asetat jeruk nipis dan arang tempurung kelapa yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu konsentrasi 75% jeruk nipis dan 25% arang tempurung kelapa (*S. aureus* dan *B. subtilis*), konsentrasi 100% arang tempurung kelapa (*E. coli*) dan konsentrasi 25% jeruk nipis dan 75% arang tempurung kelapa (*P. aeruginosa*).

Kata Kunci:

Ekstrak etil asetat, arang tempurung kelapa, jeruk nipis, bakteri Gram positif dan negatif

Keywords:

Ethyl acetate extract, coconut shell charcoal, lime, gram positive and negative bacteria

Abstract

*Dishwashing soap can be made using alkali, triglycerides and added with various types of natural ingredients containing antimicrobial compounds such as lime extract and coconut shell charcoal. The purpose of this study was to determine the ability of the combination of lime ethyl acetate extract and coconut shell charcoal ethyl acetate extract in inhibiting the growth of Gram-positive and negative bacteria and to determine the concentration of the combination of lime extract and charcoal extract. This study includes experimental research that begins with the extraction stage to the effectiveness test stage in inhibiting bacterial growth. The results showed that the combination of lime ethyl acetate extract and coconut shell charcoal was effective in inhibiting the growth of Gram-positive bacteria (*S. aureus* and *B. subtilis*) and Gram-negative bacteria (*E. coli* and *P. aeruginosa*) as indicated by the presence of an inhibition zone around the disc paper. The ability of the combination of the two types of extracts to inhibit the growth of test bacteria has different optimal concentrations (P4, P5 and P2). The conclusion of this study is that the combination of ethyl acetate extract of lime and coconut shell charcoal is effective in inhibiting the growth of Gram-positive bacteria (*S. aureus* and *B. subtilis*) and Gram-negative bacteria (*E. coli* and *P. aeruginosa*) as indicated by the presence of an inhibition zone around the disc paper, and there are three concentrations of combinations of ethyl acetate extract of lime and coconut shell charcoal that are effective in inhibiting bacterial growth, namely a concentration of 75% lime and 25% coconut shell charcoal (*S. aureus* and *B. subtilis*), a concentration of 100% coconut shell charcoal (*E. coli*) and a concentration of 25% lime and 75% coconut shell charcoal (*P. aeruginosa*).*

PENDAHULUAN

Kebersihan merupakan salah satu hal yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Dengan menjaga kebersihan, maka manusia dapat menciptakan kondisi lingkungan dan juga kondisi badan agar tetap bersih, sehat, dan terhindar dari berbagai jenis penyakit, baik itu penyakit yang menular maupun penyakit tidak menular. Salah satu kebutuhan manusia yang digunakan untuk menunjang kebersihan diri maupun lingkungan adalah sabun. Sabun merupakan suatu surfaktan atau campuran dari surfaktan yang digunakan untuk membersihkan badan dari lemak atau kotoran dan untuk mencuci pakaian, peralatan makan dan rumah tangga maupun peralatan lainnya dari noda atau kotoran dengan bantuan air (1)

Sebagai suatu surfaktan, sabun tersusun atas beberapa senyawa kimia dengan panjang rantai karbon C12 hingga C16. Sabun terbuat dari campuran alkali (natrium atau kalium hidroksida) dan trigliserida dari asam lemak (2). Sabun dibuat melalui proses saponifikasi, yaitu suatu reaksi kimia antara trigliserida dengan alkali yang akan menghasilkan produk samping berupa gliserol (3)

Sabun pada umumnya terdapat dalam dua bentuk yaitu sabun padat dan sabun cair. Adanya dua bentuk sabun ini disebabkan oleh perbedaan jenis bahan alkali yang digunakan, sabun padat dibuat menggunakan natrium hidroksida atau soda kaustik (NaOH), sedangkan sabun cair dibuat menggunakan kalium hidroksida (KOH) (4). Saat ini, terdapat banyak jenis sabun yang dipasarkan dan digunakan oleh masyarakat. Sabun untuk kebersihan badan terdiri atas sabun mandi (*body wash*), sabun cuci tangan (*hand wash*), sabun wajah (*facial soap*) dan sabun bayi (*baby soap*). Sabun untuk kebersihan lingkungan terdiri atas sabun untuk cuci baju/pakaian, sabun untuk cuci alat makan, maupun sabun untuk mencuci kendaraan (motor atau mobil).

Sabun cuci piring (alat makan) merupakan salah satu jenis sabun yang sangat penting bagi masyarakat mengingat setiap hari, masyarakat selalu menggunakan piring, sendok, garpu dan gelas untuk makan. Sekarang

ini, masyarakat dapat dengan mudah mendapatkan sabun cuci piring yang diperjualbelikan secara bebas di warung, toko, pasar, swalayan dan mall dengan beragam merek, kemasan dan ukuran (volume).

Sabun cuci piring umumnya berbentuk cair karena dengan bentuk ini terdapat beberapa kelebihan atau keunggulan jika dibandingkan dengan sabun yang berbentuk padat atau *cream*. Keunggulan dari sabun cuci piring cair adalah lebih mudah digunakan, mudah larut dan meresap ke dalam peralatan makan yang dibersihkan, dan juga lebih higienis karena tidak tersentuh (bergantian dengan) orang lain, dan dapat disimpan dalam wadah yang tertutup rapat (5)

Sabun cuci piring dapat dibuat menggunakan alkali, trigliserida dan ditambah dengan berbagai jenis bahan alam untuk meningkatkan efektivitasnya dalam membersihkan lemak dan mikroba. Bahan alam tersebut dapat berupa ekstrak tanaman yang memiliki kandungan senyawa aktif berupa senyawa antimikroba (bakteri, jamur, virus). Dua jenis bahan alam dari beragam bahan alam yang potensial untuk digunakan dalam pembuatan sabun cuci piring adalah ekstrak jeruk nipis dan juga ekstrak arang tempurung kelapa.

Tanaman jeruk nipis (*C. aurantifolia*) merupakan tanaman perdu berukuran kecil dengan bau yang khas dan banyak digunakan sebagai bahan obat tradisional. Tanaman ini memiliki aktivitas biologis yang beragam seperti insektisida, larvasida, repellent, antioksidan, antikanker, antimikroba, antiseptik, antikolesterol, diuretik, perangsang nafsu makan, obat sembelit, antiinflamasi, dan analgesik. Berbagai aktivitas biologis tersebut berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada *C. aurantifolia* yang meliputi senyawa alkaloid, kumarin, flavonoid, karotenoid, fenolat, terpen, limonoid, dan minyak atsiri (6)

Hasil penelitian (7) menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah jeruk nipis mengandung senyawa monoterpenoid dari β -pinena yang dikenal sebagai 6,6-Dimetil-2-methylenebicyclo [3.1.1] heptane yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Selain itu,

ekstrak kulit buah jeruk nipis juga mengandung minyak atsiri seperti limonene, linalool, citronellal and citronellol yang terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan *Lactobacillus* sp.

Hasil penelitian (8) menunjukkan bahwa ekstrak arang tempurung kelapa mengandung 731 senyawa aktif dengan 3 senyawa yang dominan yaitu alpha-Santalol (CAS), Eicosane (CAS) dan Santalol (CAS) yang ketiganya bersifat antibakteri terhadap bakteri *Methycillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak arang tempurung kelapa efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *K. pneumoniae* (9). Hasil penelitian (10) menunjukkan bahwa ekstrak arang tempurung kelapa menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap hampir semua bakteri patogen seperti bakteri *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *Pseudomonas* sp. dan *Salmonella* sp.

Pencarian informasi tentang penggunaan kombinasi ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa di internet (jurnal, artikel, laporan penelitian) atau buku-buku referensi/literatur tidak mendapatkan hasil. Hal ini menunjukkan bahwa belum ada peneliti yang melakukan penelitian tentang penggunaan kedua jenis ekstrak ini dalam pembuatan sabun cuci piring.

Selama ini, penelitian dan pemanfaatan ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa masih sendiri-sendiri, bukan dalam bentuk kombinasi. Sebagai dua jenis ekstrak yang berbeda, ada dua kemungkinan yang mungkin terjadi jika kedua jenis ekstrak tersebut digunakan secara bersama-sama dalam bentuk kombinasi, yaitu akan saling melengkapi atau menguatkan (sinergisme), atau akan saling melemahkan atau berlawanan (antagonisme) terkait mekanisme kerja dari masing-masing senyawa aktif yang dikandung oleh kedua jenis ekstrak tersebut. Untuk membuktikan hipotesis tersebut, maka peneliti perlu melakukan penelitian awal (pemula) tentang "Uji Efektivitas Kombinasi Ekstrak Arang Tempurung Kelapa dan Jeruk

Nipis secara *In Vitro* sebagai Kandidat Bahan Baku Pembuatan Sabun Cuci Piring".

Terkait dengan uji efektivitas ini, nantinya akan digunakan dua kelompok bakteri, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Masing-masing kelompok bakteri ini akan diwakili oleh dua jenis bakteri yang berdasarkan studi literatur merupakan jenis bakteri yang biasa ditemukan pada alat makan. Jenis bakteri yang berhasil diisolasi dari alat makan diantaranya adalah bakteri *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typosa* (10), *Escherichia coli* (11), *Alcaligenes faecalis*, *Acinobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Serratia rubidaea*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis* (12), *Staphylococcus aureus* (13), (14), (15), *Bacillus* sp, *Enterobacter hafniae*, *Enterobacter cloacea*, *Acinobacter calcoaceticus*, dan *Klebsiella* sp (16)

Berdasarkan uraian tersebut, maka tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan kombinasi ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, serta untuk mengetahui konsentrasi kombinasi ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia FKIP dan Laboratorium TLM D4 UMP dari bulan April-Desember 2024. Prosedur kerja terdiri atas beberapa tahap yaitu proses ekstraksi Proses ekstraksi buah jeruk nipis menggunakan metode maserasi. Sebanyak 4 kg buah jeruk nipis ditimbang dan dibersihkan dengan air mengalir, selanjutnya diiris atau dipotong kecil-kecil menggunakan pisau kemudian dikeringanginkan. Setelah kering, irisan tersebut ditimbang dan dihancurkan menggunakan blender sehingga berbentuk bubuk (simplisia). Sebanyak 2 kg

simplisia direndam dalam 2000 ml pelarut etil asetat selama 4 hari dengan setiap hari dilakukan pengadukan. Setelah itu, pada hari kelima dilakukan filtrasi sehingga diperoleh filtrat (cair) dan ampas (padat). Untuk memisahkan senyawa aktif dari jeruk nipis dengan pelarut etil asetat, maka filtrat hasil penyaringan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C dan tekanan 175 bar sehingga nantinya akan didapatkan ekstrak kental jeruk nipis. Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke dalam botol salep untuk kemudian ditimbang dan disimpan di dalam refrigerator.

Proses ekstraksi arang tempurung dimulai dengan proses pengeringan menggunakan oven selama ± 2 jam pada suhu 50 °C dan setelah itu dihaluskan menggunakan blender dan disaring dengan dengan saringan lolos 40 mesh sehingga didapatkan ukuran yang seragam. Sebanyak 2 kg serbuk arang dimaserasi dengan pelarut etil asetat sebanyak 2.000 ml (perbandingan 1:1). Proses perendaman berlangsung selama 4 hari dengan setiap hari dilakukan pengadukan. Setelah itu, pada hari kelima dilakukan filtrasi sehingga diperoleh filtrat (cair) dan ampas (padat). Untuk memisahkan senyawa aktif dari arang tempurung kelapa dengan pelarut etil asetat, maka filtrat hasil penyaringan selanjutnya diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C dan tekanan 175 bar sehingga nantinya akan didapatkan ekstrak kental arang tempurung kelapa. Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke dalam botol salep untuk kemudian ditimbang dan disimpan di dalam refrigerator.

Identifikasi senyawa kimia dari ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa dilakukan menggunakan alat GC-MS yang diawali dengan preparasi sampel yaitu sebanyak 5 mL dari masing-masing ekstrak dan ditambahkan dengan 5 mL larutan eter dan kemudian dikocok di dalam corong pemisah selama 5 menit. Setelah didiamkan, fraksi atas (eter) dipisahkan dari fraksi bawah dengan cara fraksi atas ditampung di dalam wadah khusus sedangkan ke dalam fraksi bawah

ditambahkan lagi 5 mL larutan eter, dikocok kembali di dalam corong pemisah sebagaimana cara sebelumnya. Fraksi atas yang dihasilkan pada ekstraksi kedua ini dicampurkan dengan fraksi atas hasil pemisahan pertama. Setelah itu dilakukan pemekatan dengan cara meniupkan gas nitrogen sampai volume yang tersisa sekitar 1 mL. Hasil dari proses ini selanjutnya dideteksi dengan menggunakan alat GC-MS-QP2010S dari Shimadzu sehingga nantinya diperoleh data senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa dalam grafik dan tabel data.

Mengingat penelitian ini menggunakan dua jenis ekstrak yang berbeda dan juga pengujinya dalam bentuk kombinasi, maka peneliti melakukan rancangan penelitian dengan konsentrasi kombinasi seperti tercantum pada tabel I.

Tabel I. Perbandingan konsentrasi kombinasi antara ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa

Perlakuan Kombinasi	Perbandingan Konsentrasi (%)	
	E1	E2
Perlakuan 1 (P1)	0	100
Perlakuan 2 (P2)	25	75
Perlakuan 3 (P3)	50	50
Perlakuan 4 (P4)	75	25
Perlakuan 5 (P5)	100	0
Kontrol negatif (K-)	30 µl	
Kontrol positif (K+)	30 µl	

Keterangan:

E1: Ekstrak jeruk nipis, **E2:** Ekstrak arang tempurung kelapa, **K(-):** Larutan DMSO 5%, **K(+):** Antibiotik kloramfenikol

Disiapkan media *Nutrient Agar* (NA) cawan dengan cara menuangkan sebanyak 15 mL media NA cair ke dalam masing-masing cawan petri yang telah disediakan dan didiamkan beberapa saat sampai media menjadi padat. Selanjutnya suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (kelompok bakteri Gram negatif) dan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* (kelompok bakteri Gram positif) diinokulasikan pada media NA cawan tersebut dengan cara digores (*streak plate*) dengan pola quadran. Setelah itu, semua

media NA cawan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Setelah waktu inkubasi selesai, semua media NA cawan dikeluarkan dari inkubator dan diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni dari keempat jenis bakteri tersebut. Dari setiap media NA cawan, diambil sebanyak 1 koloni bakteri dari masing-masing spesies bakteri untuk kemudian ditumbuhkan pada media TSB dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam. Setelah itu dilakukan penghitungan jumlah sel bakteri dari masing-masing spesies bakteri menggunakan prinsip turbidimetri (berdasarkan kekeruhan media) menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh selanjutnya dikonversi ke jumlah sel menggunakan software OD600 Calculator (<https://www.agilent.com>). Kultur bakteri dengan jumlah sel 10⁸ sel/ml siap digunakan untuk uji efektivitas antibakteri, sedangkan bagi kultur bakteri yang jumlahnya kurang dari 10⁸ sel/ml, maka diinkubasi beberapa jam lagi dan untuk kultur bakteri yang jumlahnya lebih dari 10⁸ sel/ml, maka perlu dilakukan pengenceran.

Uji antibakteri menggunakan teknik difusi kertas cakram (*Kirby Bauer method*). Disiapkan medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) cawan yang sebelumnya telah diinokulasikan dengan 0,1 ml bakteri secara *swab culture* dan dibiarkan beberapa saat sampai kultur bakteri meresap ke dalam media. Selanjutnya diletakkan sebanyak 7 buah kertas cakram steril berdiameter 6 mm yang kemudian ditetes dengan 20 µl kombinasi ekstrak jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa sesuai tabel II. (4 kertas cakram), larutan DMSO (1 kertas cakram) sebagai kontrol negatif, dan antibiotik kloramfenikol (1 kertas cakram) sebagai kontrol positif. Medium MHA cawan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1-2 x 24 jam dan diamati ada tidaknya zona hambat (zona bening) yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Berdasarkan data diameter tersebut dilakukan penghitungan luas zona hambat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$L_{zhaw} : \pi \cdot r_a^2 \quad L_{kc} : \pi \cdot r_b^2 \quad L_{zhak} : L_{zhaw} - L_{kc}$$

Keterangan:

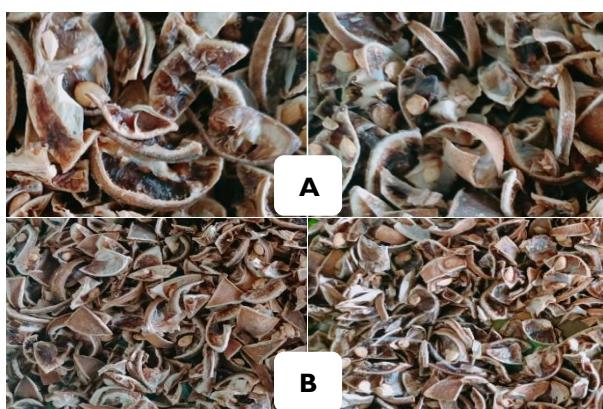
r_a : Jari-jari zona hambat (mm)
 r_b : Jari-jari kertas cakram (mm)
 L_{zhaw} : Luas zona hambat awal (mm²)
 L_{kc} : Luas kertas cakram (mm²)
 L_{zhak} : Luas zona hambat akhir (mm²)

Data penelitian yang diperoleh dari setiap tahapan penelitian dapat berupa angka, grafik, tabel, foto dan data lainnya. Data-data tersebut kemudian dilakukan pencatatan dan pengarsipan secara tertib, urut dan rapi di buku *logbook* penelitian maupun disimpan di komputer/*flashdisk* sesuai dengan urutan tanggal pelaksanaan.

Data penelitian berupa hasil ekstraksi dan juga kandungan senyawa aktif dari kedua ekstrak selanjutnya akan dicocokkan dengan data hasil studi literatur penelitian sebelumnya atau *data library* pada alat GCMS yang digunakan. Untuk data pengukuran luas zona hambat antibakteri dari kombinasi kedua ekstrak tersebut selanjutnya akan dihitung menggunakan rumus yang telah dituliskan di atas. Setelah diketahui luas zona hambat dari masing-masing perlakuan, maka data tersebut akan dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji DMRT. Proses analisis data menggunakan program statistik *open source*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL



Gambar 1. Dua sampel simplisia jeruk nipis. Gambar A: simplisia yang ditumbuhi oleh jamur; Gambar B: simplisia yang baik dan kering sempurna

Tabel II. Lima jenis senyawa aktif hasil analisis GCMS ekstrak etil asetat jeruk nipis & arang tempurung kelapa

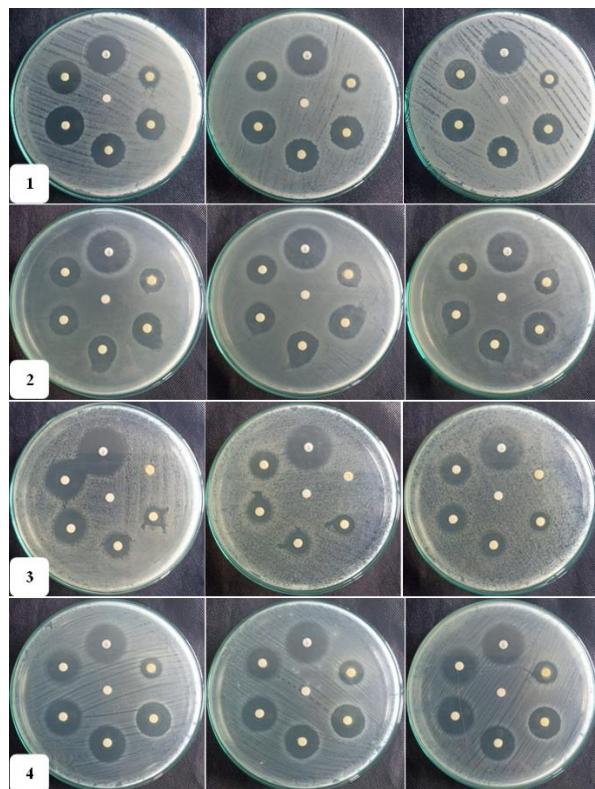
No	Jenis Ekstrak	Nama Senyawa Aktif	Keterangan
1.		• 2,2-Dimethyl-endo-3-(2-hydroxy-pentyl)-norbornane	• Minyak esensial
2.		• 1-Butanol, 2-amino- (CAS)	• Senyawa nitrogen
3.	Ekstrak Jeruk Nipis	• 1,2,3-Propanetriol (CAS)	• Gliserol
4.		• 4'-Chloro-4,4-dimethyl-3-(1-imidazolyl)	• Imidazol
5.		• Uroporphyrinogen-octanitrile (Type I)	• Pemutih
6.		• Ethene, methoxy- (CAS)	• Aseton
7.	Ekstrak arang tempurung kelapa	• Ethanediamidic acid, dihydrazide (CAS)	• Biguanidin
8.		• ETHYLENE-D4	• Acetaldehyde
9.		• 1,2,3-Propanetriol (CAS)	• Gliserol
10.		• Triethylene Tetramine	• Tridentine

Tabel III. Hasil uji sensitivitas ekstrak etil asetat jeruk nipis & arang tempurung kelapa terhadap bakteri uji

Perla kuan	Bakteri Uji & Luas Zona Hambat (mm ²)			
	S. aureus	B. subtilis	E. coli	P. aeruginosa
K (+)	588.50	627.37	557.29	627.37
P1	167.46	116.93	4.63	222.65
P2	393.16	349.61	126.74	363.63
P3	410.05	386.28	148.56	359.90
P4	427.29	470.65	237.80	318.80
P5	341.38	392.44	317.38	360.13
K (-)	0.00	0.00	0.00	0.00

Keterangan:

- K (+) : Chloramphenicol 30 μ U
 P1 : 100% arang, 0% jeruk nipis
 P2 : 75% arang, 25% jeruk nipis
 P3 : 50% arang, 50% jeruk nipis
 P4 : 25% arang, 75% jeruk nipis
 P5 : 0% arang, 100% jeruk nipis
 K (-) : DMSO 5%

**Gambar 2.** Hasil uji sensitivitas kombinasi ekstrak jeruk nipis dan arang tempurung kelapa terhadap bakteri *B. subtilis* (baris 1), *E. coli* (baris 2), *P. aeruginosa* (baris 3) dan *S. aureus* (baris 4)**PEMBAHASAN**

Proses ekstraksi buah jeruk nipis pada awalnya mengalami kendala karena hasil pengeringan dari irisan jeruk nipis menunjukkan irisan tidak merata keringnya di seluruh bagian, kadar air masih tinggi, teksturnya terasa lengket atau berlendir ketika dipegang, warnanya bervariasi mulai dari coklat hingga kehitaman dengan disertai ada bercak-bercak putih (Gambar 1.). Hal ini menandakan bahwa proses pengeringan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari tidak optimal dan diduga irisan jeruk nipis telah ditumbuhi oleh jamur (kapang dan yeast). Pengeringan merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kualitas simplisia dan proses pengeringan yang tidak optimal akan meninggalkan simplisia dengan kandungan air yang tinggi dan mudah ditumbuhi oleh berbagai jenis jamur yang dapat mendegradasi berbagai jenis senyawa aktif yang terkandung di dalam simplisia tersebut. Atas dasar inilah, maka sampel irisan jeruk nipis yang telah

ditumbuhi jamur dibuang dan dilakukan pengulangan pembuatan simplisia jeruk nipis menggunakan sampel buah jeruk nipis yang baru dan proses pengeringan dilakukan menggunakan oven dengan suhu pengeringan yang stabil dan terhindar dari kontaminasi jamur (19). Dari 5 kg jeruk nipis yang digunakan, setelah dikeringkan dan dibuat menjadi simplisia, diperoleh sebanyak 700 g serbuk kering jeruk nipis. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi penyusutan yang cukup besar dan proses pengeringan berlangsung optimal mengingat kandungan air yang tinggi dari jeruk nipis telah hilang. Proses pengeringan akan sangat mempengaruhi kadar air pada simplisia, jika kadar air masih tinggi, maka pada waktu penyimpanan simplisia akan rentan ditumbuhi oleh bakteri dan jamur (20).

Sebanyak 700 g serbuk jeruk nipis kering direndam dalam 1400 ml pelarut etil asetat selama 7 hari dengan setiap hari dilakukan pengadukan. Setelah itu, pada hari ke-8 dilakukan filtrasi (penyaringan) sehingga diperoleh filtrat (cairan) ekstrak kasar jeruk nipis sebanyak 200 ml yang terpisah dari ampas (padatan). Ekstrak kasar selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental jeruk nipis sebanyak 3 ml.

Nilai rendemen dari ekstrak etil asetat jeruk nipis adalah 0,0043% dan dikatakan proses ekstraksi tidak berlangsung optimal. Nilai rendemen diperoleh dari perhitungan persentase perbandingan antara berat (jumlah) ekstrak yang diperoleh dengan berat (jumlah) material (simplisia) yang diekstraksi. Semakin tinggi nilai rendemennya, maka semakin efektif dan efisien proses ekstraksinya, dan semakin tinggi pula kandungan senyawa aktifnya (21).

Proses ekstraksi arang tempurung kelapa dilakukan menggunakan serbuk arang tempurung kelapa kering sebanyak 1 kg yang dilarutkan ke dalam 2 liter pelarut etil asetat (1:2) selama 7 hari dengan setiap hari dilakukan pengadukan. Setelah itu, pada hari ke-8 dilakukan filtrasi sehingga diperoleh filtrat ekstrak kasar arang tempurung kelapa sebanyak 180 ml yang terpisah

dari ampas (padatan). Ekstrak kasar selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan didapatkan ekstrak kental arang tempurung kelapa sebanyak 15 ml. Berdasarkan jumlah ekstrak yang diperoleh, diketahui bahwa nilai rendemen dari ekstrak etil asetat arang tempurung kelapa sebesar 0,015%. Hasil ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi tidak berlangsung secara optimal, mengingat nilai rendemen ekstrak merupakan parameter untuk menentukan efektif tidaknya proses ekstraksi. Semakin tinggi nilai rendemen ekstrak, maka semakin efektif dan efisien proses ekstraksinya. Identifikasi senyawa kimia dari ekstrak etil asetat jeruk nipis dan ekstrak arang tempurung kelapa dilakukan menggunakan alat GC-MS (Tabel I.)

Hasil uji sensitivitas kombinasi ekstrak etil asetat jeruk nipis dan arang tempurung kelapa terhadap empat spesies bakteri yang berbeda menunjukkan hasil yang bervariasi (Tabel II Gambar II). Hal ini menandakan adanya perbedaan kemampuan dan juga perbedaan konsentrasi senyawa aktif yang terkandung pada kombinasi ekstrak yang diujikan.

Pada bakteri *S. aureus* dan *B. subtilis*, zona hambat terbesar dimiliki oleh perlakuan P4 dengan luas zona hambat mencapai 427.29 mm^2 dan 470.65 mm^2 . Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi jeruk nipis 75% dan arang tempurung kelapa 25% mampu bersinergi untuk menghambat pertumbuhan kedua spesies bakteri tersebut.

Kemampuan kombinasi kedua jenis ekstrak ini dalam menghambat kedua spesies bakteri tersebut mungkin berkaitan dengan jenis dan juga konsentrasi senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Ekstrak jeruk nipis mengandung senyawa 4'-Chloro-4,4-dimethyl-3-(1-imidazolyl) yang termasuk dalam kelompok imidazole dan telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian peneliti terdahulu yang menyatakan bahwa imidazol dan turunannya merupakan agen terapeutik yang dapat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap berbagai spesies bakteri (22).

Adanya kandungan minyak atsiri pada ekstrak jeruk nipis juga ikut berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Salah satu keuntungan penting dari minyak atsiri yang diekstrak dari tanaman adalah kemungkinan penerapannya sebagai pengganti agen antimikroba yang potensial untuk meminimalkan proliferasi mikroorganisme pathogen. Minyak atsiri telah terbukti dapat menyembuhkan penyakit kulit menular seperti luka bakar, bisul, luka dalam, dan jerawat yang disebabkan oleh *Cutibacterium acnes* serta folikulitis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (23).

Selain itu, bakteri *S. aureus* dan *B. subtilis* merupakan kelompok bakteri Gram positif yang memiliki komposisi dinding sel yang kaya akan peptidoglikan dan miskin akan lemak. Kemampuan yang tinggi dari kombinasi kedua jenis ekstrak ini diduga berkaitan dengan mekanisme aktivitas antimikroba dengan panjang rantai antara cincin amino dan heteroaromatik yang melekat pada kolestana melalui ikatan N-H (22).

Uji sensitivitas ekstrak jeruk nipis dan arang tempurung kelapa terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa perlakuan 5 (P5) memiliki kemampuan antibakteri yang paling optimal. Perlakuan P5 yang hanya terdiri atas ekstrak arang tempurung kelapa mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji, hal ini mungkin berkaitan dengan senyawa aktif yang dikandung di dalam ekstrak tersebut, dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh $> 1.000 \text{ mM}$ etanol, dan bakteri tersebut tampaknya tidak dapat hidup dalam keberadaan $> 5.000 \text{ mM}$ etanol, meskipun mereka masih menghasilkan asetaldehida (24).

Perlakuan P2 pada uji sensitivitas bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan hasil penghambatan yang paling tinggi, mencapai 363.63 mm^2 . Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dari ekstrak arang tempurung kelapa lebih berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan senyawa aktif dari ekstrak jeruk nipis.

Ekstrak arang tempurung kelapa mengandung senyawa *Ethanediimidic acid, dihydrazide* (CAS) yang termasuk dalam kelompok senyawa *Biguanides* yang berperan sebagai kation. Senyawa ini berperan sebagai antisepsis kulit dan kulit kepala, serta sebagai disinfektan pada permukaan bahan atau peralatan, dan juga kolam renang. Mekanisme yang digunakan oleh senyawa aktif ini adalah dengan cara melakukan interaksi antara daerah hidrofilik yang bermuatan positif dengan permukaan sel yang bermuatan negatif. Setelah itu, daerah hidrofobik akan terbagi ke dalam membrane dan ikatan antarmolekul menjadi terganggu sehingga akan menyebabkan hilangnya isi intraseluler (25).

Jika dibandingkan semua perlakuan mulai dari P1 sampai P5 terhadap keempat spesies bakteri uji, diketahui bahwa perlakuan P1 memiliki daya hambat yang paling kecil yaitu antara $4,63 \text{ mm}^2$ sampai $222,65 \text{ mm}^2$. Perlakuan P1 hanya terdiri atas ekstrak arang tempurung kelapa, hal ini menandakan bahwa penggunaan ekstrak tunggal tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Selain itu, penggunaan kombinasi dari kedua jenis ekstrak memiliki peran yang cukup signifikan dalam meningkatkan keefektifan dalam menghambat bakteri uji, serta kombinasi antara ekstrak jeruk nipis dan arang tempurung kelapa bersifat sinergisme antara satu dengan lainnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan juga pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa kombinasi ekstrak etil asetat jeruk nipis dan arang tempurung kelapa efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*S. aureus* dan *B. subtilis*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*) yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram, dan terdapat tiga konsentrasi kombinasi ekstrak etil asetat jeruk nipis dan arang tempurung kelapa yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu konsentrasi 75% jeruk nipis

dan 25% arang tempurung kelapa (*S. aureus* dan *B. subtilis*), konsentrasi 100% arang tempurung kelapa (*E. coli*) dan konsentrasi 25% jeruk nipis dan 75% arang tempurung kelapa (*P. aeruginosa*).

DAFTAR PUSTAKA

1. Sukeksi L, Sidabutar AJ, Sitorus C. Pembuatan Sabun dengan Menggunakan Kulit Buah Kapuk (*Ceiba petandra*) sebagai Sumber Alkali. *Jurnal Teknik Kimia USU* [Internet]. 2017 Oct 10 [cited 2024 Jun 11];6(3):8–13. Available from: <https://talenta.usu.ac.id/jtk/article/view/1583>
2. Zulkifli M, Estasih T. Sabun dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol 2 No 4 p170-177, Oktober 2014 [Internet]. 2014 Mar 10 [cited 2024 Jun 11];2(4):170–7. Available from: <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/89>
3. Hasibuan R, Adventi F, Parsaulian, Rtg.R. Pengaruh Suhu Reaksi, Pengaruh Suhu Reaksi, Kecepatan Pengadukan dan Waktu Reaksi pada Pembuatan Sabun Padat dari Minyak Kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Jurnal Teknik Kimia USU* [Internet]. 2019 [cited 2024 Jun 11];8(1):11–7. Available from: <https://talenta.usu.ac.id/jtk/article/view/1601>
4. Widyasanti A, Hasna AH. Kajian Pembuatan Sabun Padat Transparan Basis Minyak Kelapa Murni dengan Penambahan Bahan Aktif Ekstrak Teh Putih. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* [Internet]. 2016 Nov 31 [cited 2024 Jun 11];19(2):179–95. Available from: <http://tcrjournal.com/index.php/tcrj/article/view/102>
5. Amalia R, Paramita V, Kusumayanti H, Wahyuningsih, Sembiring M, Rani DE. Produksi Sabun Cuci Piring sebagai Upaya Peningkatkan Efektivitas dan Peluang Wirausaha. *METANA* [Internet]. 2018 Jun 4 [cited 2024 Jun 12];14(1):15–8. Available from: <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/metana/article/view/18657>
6. Indriyani NN, Anshori J.A, Permadi N, Nurjanah S, Julaeha E. Bioactive Components and Their Activities from Different Parts of *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle for Food Development. *Foods* [Internet]. 2023 May 17 [cited 2024 Jun 11];12(10):1–23. Available from: <https://doi.org/10.3390/foods12102036>
7. Julaeha E, Herlina T, Nurzaman M, Mayanti T, Kurnia D, Sari EF. The antibacterial effect of β -pinene derived from *Citrus aurantifolia* against oral *Streptococcus mutans*. *Padjadjaran Journal of Dentistry* [Internet]. 2021 Mar 31 [cited 2024 Jun 11];33(1):88–93. Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-antibacterial-effect-of-%CE%B2-pinene-derived-from-Julaeha-Herlina/f4e655e63e02594394ecef3b08e34c4f8fc11de>
8. Kurniawan K, Rahmah Kamalah S, Yogaswari D, Rosyada AS. Analisis GCMS dan Formulasi Gel Arang Tempurung Kelapa sebagai Kandidat Obat Bagi Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Dunia Farmasi* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jun 11];7(3):185–200. Available from: <https://ejournal.helvetia.ac.id/index.php/jdf/article/view/5787>
9. Kamalah SR, Kurniawan K, Mulyanto A, Dhanti KR. Pembuatan Sediaan Gel Arang Tempurung Kelapa dan Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology (BJMLT)* [Internet]. 2023 Oct 1;6(1):410–9. Available from: <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt>
10. Fadhilah F, Budiman B, Rosnawati R. Identifikasi Bakteri pada Peralatan Makan yang Digunakan oleh Pasien di Rumah Sakit Umum Daerah Tora Belo Kabupaten Sigi. *Jurnal Kolaboratif Sains* [Internet]. 2023 Mar 1;6(3):225–9. Available from: <https://jurnal.unismuhpalu.ac.id/index.php/JKS>
11. Fadhila MF, Wahyuningsih NE, Hanani DY. Hubungan Higiene Sanitasi Dengan Kualitas Bakteriologis Pada Alat Makan Pedagang di Wilayah Sekitar Kampus Undip Tembalang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (e-Journal)* [Internet]. 2015;3(3):769–76. Available from: <http://ejournal-sl.undip.ac.id/index.php/jkm>
12. Gunawan NA. Gambaran Sanitasi Alat Makan dan Keberadaan Bakteri pada Alat Makan (Mangkuk) Pedagang Bakso Gerobak Di Kota Makassar [Internet]. [Makasar]: Universitas Hasanudin; 2019 [cited 2024 Jun 11]. Available from: <https://repository.unhas.ac.id/id/eprint/4861/>
13. JO O, NJ E, OO A. Microbiological Assessment of Cutlerys. *MOJ Bioequivalence & Bioavailability*. 2017 Sep 19;3(6):159–62.
14. Debuission N, Gurevich R, Even R. Bacterial and Viral Contamination of Table Forks, Table Spoons, Dessert Forks and Teaspoons in Restaurants, Coffee Shops, and University/Hospital Cafeteria. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences (IJCMAS)* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jun 11];1–20. Available from: chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://

- //www.accentosullgiene.com/sito/wp-content/uploads/2021/09/IJCMAS-research-paper.pdf
15. Arbole DJA, Boltron DVB, Anne SOB, Duran MO, Tumamak JDR, Lamela NC. Bacterial Contamination in Spoons, Forks, and Plates in Cebu Doctors' University Canteen: Basis for Food Safety [Internet]. [Cebu, Philippines]: College of Arts and Sciences; 2016. Available from: www.tcpdf.org
16. Birawida AB, Selomo M, Ismita UW, Suriah. Environmental Health Hazards Against Bacterial Contamination of Cutlery on The Small Island of Makassar. IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2019 Feb 20 [cited 2024 Jun 11];235(1):1–5. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/235/1/012023>
17. Rosyada AS, Kurniawan K, Mulyanto A, Ritma Dhanti K. Pembuatan Dan Uji Antibakteri Gel Arang Tempurung Kelapa Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Scripta Biologica [Internet]. 2013;10(3):11–7. Available from: <http://scri.bio.unsoed.ac.id>
18. Kurniawan, Yulistiani M. A Production and Activity Test of Anti-Bacterial Compounds of Endophytic Fungi BR-S1 (A) Isolate Extract in Different General Growth Media. Curr Trends Biotechnol Pharm [Internet]. 2020 [cited 2024 Jun 12];14(5):206–12. Available from: <https://www.abap.co.in/index.php/home/issue/view/3/1>
19. Fahmi N, Herdiana I, Rubiyanti R. Pengaruh metode pengeringan terhadap mutu simplisia daun pulutan (*Urena lobata* L.). Media Informasi. 2019;15(2):165–9.
20. Sinaga B, Sondak ES, Ningsih AW. Pengaruh metode pengeringan terhadap kualitas simplisia daun jambu biji merah (*Psidium guajava* L.). In Prosiding Polkesta Seminar Nasional 2024 Sep 27 (Vol. 1, pp. 111-120).
21. Senduk TW, Montolalu LA, Dotulong V, Ratulangi S, Bahu KU. Rendemen ekstrak air rebusan daun tua mangrove *Sonneratia alba*. Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis. 2020;11(1):9-15.
22. Bayar I, Akkoc S. Antibacterial Activities of Imidazole-Based Compounds (A Review). Russian Journal of Organic Chemistry. 2023 Dec;59(Suppl 1): S7-19.
23. Aljaafari MN, Alkhoori MA, Hag-Ali M, Cheng WH, Lim SH, Loh JY, Lai KS. Contribution of aldehydes and their derivatives to antimicrobial and immunomodulatory activities. Molecules. 2022 Jun 2;27(11):3589.
24. Tagaino R, Washio J, Otani H, Sasaki K, Takahashi N. Bifacial biological effects of ethanol: acetaldehyde production by oral *Streptococcus* species and the antibacterial effects of ethanol against these bacteria. Journal of Oral Microbiology. 2021 Jan 1;13(1):1937884.
25. Maillard JY, Pascoe M. Disinfectants and antiseptics: mechanisms of action and resistance. Nature Reviews Microbiology. 2024 Jan;22(1):4-17.