

ABSTRAK

Tanaman jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk) Osche) merupakan salah satu jenis jeruk yang mengandung minyak atsiri pada kulitnya dan merupakan buah sekaligus perasa dan pengharum pada makanan yang mudah ditemukan di Kalimantan Barat. Selain minyak atsiri, tanaman ini juga mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, polifenol dan alkaloid. Dengan adanya kandungan senyawa tersebut memberikan kandungan aktivitas antioksidan dan alkaloid, dimana ketiga senyawa tersebut memberikan aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri *facial cleansing oil* fraksi etil asetat kulit buah jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk) Osche) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Simplisia kulit jeruk sambal dimaserasi menggunakan etanol 96%, kemudian dipartisi berturut-turut menggunakan n-heksana dan etil asetat (rasio 1:1). Fraksi etil asetat yang didapatkan kemudian diformulasikan kedalam *facial cleansing oil* dengan variasi konsentrasi 0,20% (FI), 0,35% (FII) , dan 0,50% (FIII). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode *tuang*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan diameter daya hambat pada bakteri *staphylococcus aureus* pada masing-masing F1 sebesar 10,44 mm, F2 12,12 mm, dan F3 10,33 mm yang digolongkan dalam kategori sedang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga formula *facial cleansing oil* memiliki aktivitas antibakteri.

Kata Kunci : *facial cleansing oil*, ekstrak kulit buah jeruk sambal, antibakteri.

ABSTRACT

The chili sauce orange plant (Citrus amblycarpa (Hassk) Osche) is a type of orange that contains essential oils in the peel and is a fruit as well as a flavoring and fragrance in food that is easy to find in West Kalimantan. In addition to essential oils, this plant also contains secondary metabolite compounds of flavonoids, polyphenols and alkaloids. With the content of these compounds, it provides antioxidant and alkaloid activity, where the three compounds provide antibacterial activity. This study aims to determine the antibacterial activity of facial cleansing oil ethyl acetate fraction of citrus chili peel (Citrus amblycarpa (Hassk) Osche) on the growth of Staphylococcus aureus bacteria. The simplicia of chili orange peel was macerated using 96% ethanol, then partitioned successively using n-hexane and ethyl acetate (ratio 1:1). The ethyl acetate fraction obtained by the mud is formulated into a facial cleansing oil with a concentration variation of 0.20% (F1), 0.35% (FII), and 0.50% (FIII). The antibacterial activity test was carried out using the pour method. The results of this study showed that the diameter of the inhibitory force in staphylococcus aureus bacteria in F1 was 10.44 mm, F2 12.12 mm, and F3 10.33 mm, respectively, which was classified in the medium category. The results showed that all three facial cleansing oil formulas had antibacterial activity.

Keywords: *facial cleansing oil chili citrus peel, extract antibacterial.*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan lapisan pelindung tubuh terdapat pengaruh luar, baik pengaruh fisik maupun pengaruh kimia kulit dapat mendukung penampilan seseorang agar terlihat lebih menarik. Penampilan kulit biasanya mudah terganggu dengan adanya rangsangan sentuhan dan pengaruh dari luar, seperti polusi dan penggunaan kosmetik rias (*makeup*). Gangguan tersebut dapat menyebabkan terjadinya masalah, seperti jerawat (Wasitaatmadja, 2008).

Jerawat biasanya muncul pada permukaan kulit wajah, leher, punggung dan dada. Jerawat timbul akibat tersumbatnya pori-pori kulit oleh lemak dan minyak berlebih. Jika terinfeksi bakteri, maka dapat menimbulkan peradangan. Bakteri yang umumnya menginfeksi jerawat adalah *staphylococcus epidermis*, *staphylococcus aureus* dan *propionibacterium acne* (Djajadisastra et al., 2009). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit, diantaranya impetigo, jerawat, bisul dan lesi di permukaan kulit yang tampak seperti lepuhan. (Dewi Handayani, Nurhamidah, 2021).

Permasalahan kulit di atas memerlukan perawatan menggunakan kosmetik pembersih. Salah satu kosmetik pembersih kulit adalah *facial cleansing oil* (Tranggono dan Latifah, 2007). *Facial cleansing oil* atau pembersih wajah berbasis minyak adalah kosmetik pembersih yang diformulasikan untuk membersihkan kotoran, residu minyak dan lemak serta sisa *makeup* pada wajah dan leher (Schrader and Domsch, 2005). Sebanyak 43,3% wanita Indonesia menggunakan

makeup pertama kali sebelum usia 13 tahun. 1 dari 5 wanita Indonesia selalu menggunakan *makeup* selama 1 minggu penuh (22,2%). Itu artinya, mereka tetap menggunakan *makeup* walaupun sedang tidak melakukan aktivitas di hari kerja (Markplus, 2020). Dengan ini, maka penggunaan pembersih wajah yang tepat sangat dibutuhkan. *Facial cleansing oil* juga berperan penting sebagai emolien dan dapat melarutkan sediaan kosmetik (Raknam *et al.*, 2020). Keunggulan *facial cleansing oil* adalah lebih efektif dalam membersihkan kotoran yang larut dalam minyak, seperti sisa *makeup* serta menurunkan resiko kulit kering dan pecah-pecah (Tranggono dan Latifah, 2007). Sediaan ini dapat mengandung vitamin dan senyawa berhasiat lainnya baik dalam bentuk sintetis maupun bahan alami (Schrader and Domsch, 2005).

Jeruk sambal yang merupakan salah satu jenis jeruk di Kalimantan Barat. Kulit buah jeruk sambal memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berkhasiat terhadap kesehatan. Ekstrak etil asetat kulit buah jeruk sambal mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, polifenol dan alkaloid (Wulandari *et al.*, 2013). Senyawa tersebut memberikan aktivitas antibakteri pada bakteri gram positif, yaitu *staphylococcus aureus* (Widyasari, dkk., 2018). Menurut penelitian Amiliah, dkk (2021) ekstrak etanol pada kulit buah jeruk sambal, pada konsentrasi 40% memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 10 mm (kategori sedang) sementara itu pada minyak atsiri pada konsenterasi 20% memberikan diameter zona hambat sebesar 12,7 mm (kategori kuat) (Amiliah dkk., 2021). Selain itu, ekstrak etil asetat kulit buah jeruk sambal juga menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan nilai nilai IC50 sebesar 134,02 µg/mL (kategori antioksidan kuat sedang) (Wulandari *et al.*, 2013)\

Berdasarkan penelusuran literatur, belum dilakukan uji aktivitas antibakteri pada ekstrak maupun fraksi etil asetat terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. Dengan adanya kandungan senyawa flavonoid, polifenol yang memberikan aktivitas antioksidan serta alkaloid, dimana ketiga senyawa tersebut memberikan aktivitas antibakteri, maka tanaman ini berpotensi untuk diaplikasikan pada sediaan *facial cleansing oil* dan dapat diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah aktivitas antibakteri *facial cleansing oil* fraksi etil asetat kulit buah jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri *facial cleansing oil* fraksi etil asetat kulit buah jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini memberikan manfaat sebagai data ilmiah manfaat dari kulit buah jeruk sambal sebagai zat aktif *facial cleansing oil* yang memberikan aktivitas antibakteri yang memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.
2. Memicu para peneliti untuk terus melakukan penelitian lebih lanjut terkait pemanfaatan kulit buah jeruk sambal dibidang lainnya.

3. Menambah wawasan pengetahuan terhadap tumbuhan jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*) yang merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat serta berkhasiat sebagai kosmetik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Buah Jeruk Sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche)

Tanaman buah jeruk sambal pertama kali banyak ditemukan di India, Asia Selatan dan Asia Tenggara seperti Malaysia dan Indonesia (Yanti, R. S. A *et al.*, 2021). Buah Jeruk sambal banyak dikenal luas oleh masyarakat Kalimantan Barat. Morfologi bunga dari jeruk sambal berwarna putih dan mempunyai 5 buah kelopak yang berbentuk lonjong (Morte & Acero, 2017). Daunnya yang memiliki warna hijau tua dan berbentuk bulat atau lonjong dengan panjang diameter antara 2,5–6,8 cm dan tebal 2–3 cm (Othman,dkk 2016). Buah dari jeruk sambal berwarna kuning bila matang, bentuknya hampir bulat, diameter 2-3,5 cm, bersel 6-7, dan memiliki kulit tipis.



Gambar 1. Tanaman Buah Jeruk Sambal

(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2023)

Klasifikasi tanaman buah jeruk sambal sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida (dicots)</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Species	: <i>Citrus Amblycarpa</i> . (Untan, 2023 & Lipi, 2021)

2.2 Kandungan dan Manfaat Jeruk Sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche)

Pada buah jeruk sambal adalah buah yang di ketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid dan polifenol (Widyasari & Handayani, 2020). Pada kulit buah jeruk sambal 0,5% ekstrak etanol kulit dapat memberikan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dengan % inhibisi sebesar 89% (Barluado *et al.*, 2016). Anti oksidan terbagi menjadi tiga kategori yaitu mulai dari, 162,16 µg/ml untuk antioksidan kategori lemah sedangkan 134,02µg/ml untuk antioksidan kategori sedang dan 94,01 µg/ml adalah untuk antioksidan kategori kuat (Wulandari *et al.*, 2013). Jeruk sambal memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia karena mengandung senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakterial yaitu minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan minyak yang berasal dari tanaman yang bersifat mudah menguap, biasanya digunakan untuk membuat parfum karena mempunyai bau yang khas. Menurut Agusta (2000), kulit buah jeruk sambal segar mengandung minyak atsiri yang merupakan senyawa antibakterial (Nareswari & Kuncoro, 2017)

Menurut (Husni, Ismed and Afriyandi, 2020) ekstrak kulit buah jeruk sambal memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* pada konsentrasi 15% dan 20% dengan diameter daya hambat masing-masing sebesar 0,36 mm dan 0,72 mm. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah jeruk terhadap *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* pada konsentrasi 40% dengan daya hambat masing-masing sebesar 10 mm dan 7,2 mm. (Handayani dan Nurhamidah, 2021).

2.3 Facial Cleansing Oil

Pembersih wajah berbasis minyak (*facial cleansing oil*) adalah kosmetik pembersih yang diformulasikan sebagai penghapus riasan untuk rutinitas sehari-hari. *Facial cleansing oil* tidak hanya berfungsi sebagai penghilang riasan, *facial cleansing oil* juga berperan penting sebagai emolien dan dapat mudah melarutkan sediaan kosmetik. Penggunaan *facial cleansing oil* lebih baik dibandingkan pembersih wajah yang lain karena *facial cleansing oil* dapat membersihkan kulit wajah tanpa merusak keseimbangan minyak alami pada kulit. Pemilihan minyak alami pada pembersih wajah ini lebih baik daripada menggunakan minyak sintetis. Minyak alami memiliki manfaat lebih banyak sedangkan minyak sintetis dapat menyebabkan alergi dan timbulnya jerawat (Rachmadani, 2022)

2.4 Kulit

Kulit terdiri dari 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang terdapat pada ektoderm, sedangkan dermis merupakan jaringan ikat pada mesoderm yang sedikit padat. Terdapat selapis jaringan ikat longgar di bagian bawah dermis yang disebut dengan hipodermis, terdiri dari jaringan lemak (Kalangi & Sonny, 2013). Pada epidermis kulit terdapat lapisan tanduk yang pada permukaannya di lindungi oleh mantel asam kulit. Penggunaan kosmetik di ushakan sedekat mungkin pHnya dengan pH psikologis yaitu 4,5-6,5. Adapun fungsi kulit adalah sebagai barrier terhadap racun dari luar, mencegah penguapan air berlebih, mencegah pertumbuhan bakteri, dan mengatur temperatur tubuh. (Tranggono dan Latifah, 2007).

2.5 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipakai sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga atau yang baru mengalami proses setengah jadi, seperti pengeringan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Widaryanto, 1989). Simplisia merujuk pada bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat tanpa mengalami pengolahan apapun atau hanya telah menjalani proses setengah jadi, seperti pengeringan. Simplisia dapat berasal dari tumbuhan (simplisia nabati), hewan (simplisia hewani), atau bahan mineral (simplisia pelican). Prasetyo, 2014).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa kimia yang dapat larut dari suatu bahan, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil dari ekstraksi adalah ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau sebagian pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, yaitu perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Saputra *et al.*, 2020).

2.7 Fraksinasi

Ekstrak awal adalah campuran dari berbagai senyawa yang sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena

itu, diperlukan pemisahan ekstrak awal menjadi fraksi-fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang serupa. Proses fraksinasi dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai metode, termasuk ekstraksi cair-cair, kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), size-exclusion chromatography (SEC), dan solid-phase extraction (SPE) (Sari *et al.*, 2018).

2.8 Tinjauan Tentang *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi tersering di dunia. Tingkat keparahan infeksi pun bervariasi, mulai dari infeksi minor di kulit (*furunkulosis* dan *impetigo*), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi mata dan *Central Nervous System* (CNS) (Septiani *et al.*, 2017).

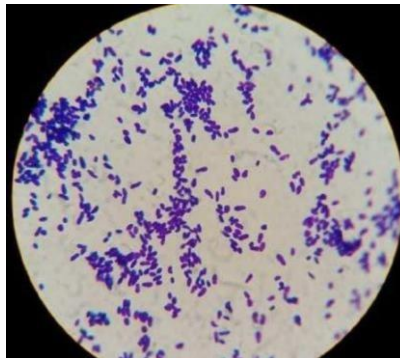
2.8.1 Defenisi *Staphylococcus aureus*

Sifat khas *Staphylococcus aureus* yang digunakan untuk membedakan dari *staphylococcus aureus* lain adalah dapat memfermentasi manitol, mampu menghasilkan enzim koagulase dan endokulase serta menghasilkan enterotoksin, sedangkan yang lain tidak. *staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologik dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37° C, tapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C). Koloni *S. aureus* pada pembenihan padat berbentuk bulat halus menonjol berkilau-kilauan, membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawetz *et al.*, 1991).

2.8.2 Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi ilmiah bakteri genus *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (soedarto, 2015) :

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus*

(Sumber: <https://repository.unimus.ac.id>)

2.8.3 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif (Gram+) berbentuk bulat. *Staphylococcus aureus* berdiameter 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, dan tidak berspora. Koloni mikroskopik *staphylococcus aureus* berbentuk menyerupai buah anggur. Uji enzim katalase bersifat katalase positif. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni besar berwarna agak kuning dalam media yang baik. *Staphylococcus aureus* biasanya bersifat hemolitik pada agar darah. *Staphylococcus aureus* bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh karena melakukan respirasi aerob atau fermentasi dengan asam laktat. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 15-45 °C (Radji, 2010).

Koloni *Staphylococcus aureus* berwarna kuning karena adanya pigmen staphyloxanthin yang bersifat sebagai faktor virulensi. Pada Mannitol Salt Agar (MSA) fermentasi mannitol oleh *staphylococcus aureus* menghasilkan produk sampingan bersifat asam yang menurunkan pH medium yang menyebabkan indikator pH, merah fenol, berubah menjadi kuning. *Staphylococcus aureus* yang dibiakkan di medium Columbia agar dengan 5% darah domba defibrinasi pada suhu 37 °C pada penyinaran menunjukkan terjadinya zona hemolisis beta yang lebar disekeliling koloni (Soedarto, 2015).

2.8.4 Patogenitas *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit pada manusia melalui invasi jaringan dan atau karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi dimulai dari tempat koloni patogen pada tubuh, lalu ditularkan melalui tangan ke tempat bakteri dapat memasuki tubuh, misalnya di luka yang ada di kulit, tempat insisi pembedahan, tempat masuk kateter vaskuler, atau tempat lain yang lemah pertahanannya misalnya lokasi eksim. Pada infeksi kulit *staphylococcus aureus* akan terbentuk abses atau bisul. Dari ini organisme akan menyebar secara hematogen. Dengan adanya enzim proteolitik *staphylococcus aureus* dapat menimbulkan pneumonia, infeksi tulang dan sendi, maupun endokarditis. Pada hospes yang mengalami gangguan sistem imun misalnya penderita kanker yang mengalami neutropeni, terapi intravena yang dilakukan dapat menyebabkan komplikasi berat misalnya sepsis yang fatal akibat bakteremi *staphylococcus aureus*. Pada penderita dengan fibrosis kistik, adanya *staphylococcus aureus* yang menetap, dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap antibiotika (Soedarto, 2015).

2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode, yaitu metode dilusi, metode difusi agar, dan metode difusi dilusi. Metode difusi adalah metode yang sering digunakan untuk analisis aktivitas antibakteri. Ada 3 cara dari metode difusi yang dapat dilakukan yaitu metode sumuran, metode silinder, dan metode cakram. (Pratiwi, 2008). Uji aktivitas dengan metode cakram kertas metode kertas cakram merupakan metode yang di gunakan untuk menguji aktivitas anti mikroba. Kepekaan mikro organisme pathogen maupun non pathogen terhadap zat uji terlihat dari ukuran zona bening yang terbentuk. Kertas cakram yang di gunakan adalah kertas cakram saring yang mengandung zat anti mikroba tertentu. Hasil yang di dapat dari uji ini berupa zona hambat (diameter zona hambat yang menunjukkan kemampuan uji dalam menghambat pertumbuhan mikro organisme (Ariani, dkk., 2018).

2.10 Metode Aktivitas Antibakteri

Beberapa metode yang bisa dilakukan dalam pengukuran daya antibakteri untuk zona hambat pada suatu sediaan adalah sebagai berikut:

1. Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (Brooks, 2007).

Pada metode difusi dapat dilakukan dengan 3 metode:

a. Metode Cakram (*Disk*)

Cara ini merupakan yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada metode ini, digunakan suatu cakram kertas saring yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Kelebihannya adalah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah, sedangkan kelemahannya adalah tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode *cakram disk* biasanya sulit untuk diinterpretasikan (Maradona, 2013). Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit (Maradona, 2013).

Tabel 1. Kategori diameter zona hambat

Diameter zona hambat	Aktivitas antibakteri
≤ 5 mm	Lemah
6 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

(Sumber: Permadani dan Surjowardojo 2012)

b. Cara Parit (Ditch)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit (Maradona, 2013).

c. Cara Sumuran (Hole/cup)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang (Maradona, 2013).

2. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan prinsip pengenceran antibakteri sehingga diperoleh beberapa konsentrasi obat yang ditambah suspensi bakteri dalam

media. Pada metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, jika ada diamati tingkat kesuburan dari pertumbuhan bakteri dengan cara menghitung jumlah koloni (Hasibuan, 2016). Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yang diuji (Brooks *et al.*, 2007).

Metode dilusi dapat dibedakan menjadi dua, yaitu:

a. Metode dilusi cair (Broth Dilution Test)

Metode ini digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibakteri, dan diinkubasi selama 18 –24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Hasibuan, 2016).

b. Metode dilusi padat (Solid Dilution Test)

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Pada dilusi padat tiap konsentrasin obat dicampurkan dengan media agar lalu ditanami bakteri dan diinkubasi. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji (Hasibuan, 2016).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan penelitian ini adalah bejana maserasi, timbangan analitik, *rotary evaporator*, *inkubator*, pH meter, blender, cawan petri steril, jarum ose, autoklaf, oven, spatel, kertas cakram, pinset, bunsen, tabung reaksi steril, jangka sorong, gelas ukur, beaker.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan penelitian ini adalah kulit buah jeruk sambal, etanol 96%, etil asetat, petrolatum, asam stearate, isopropil palmitat, *butylated hydroxytoluene* (BHT), oleum lemon, dan mineral oil, *staphylococcus aureus*.

3.3 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2023 – Mei 2024. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Yarsi Pontianak dan Uji Aktivitas Antibakteri *Facial Cleansing Oil* Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk) Osche) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Akademi Farmasi Yarsi Pontianak.

3.4. Pengolahan Sampel

1. Pembuatan Simplisia Kulit Buah Jeruk Sambal

Sampel kulit buah Jeruk Sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche) ini didapatkan di kebun buah jeruk yang berada di Jalan Martalaya, Kec. Sungai Ambawang, Kab. Kubu Raya. Bagian yang digunakan adalah kulit yang masih segar. Langkah pertama yaitu disortasi kulit jeruk sambal

yang sudah dikumpulkan untuk memisahkan bagian yang rusak, kemudian dicuci sampai bersih dengan air mengalir. Kulit jeruk sambal yang telah dibersihkan kemudian dirajang menjadi ukuran yang lebih kecil untuk selanjutnya dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan cara dijemur secara tidak langsung, yaitu dikeringkan di ruangan dan ditutup dengan kain hitam. Kulit jeruk sambal yang sudah kering selanjutnya dibuat serbuk dengan cara diblender hingga menjadi serbuk simplisia (Sari, Sanitasari, dan Widyasari 2022).

$$\text{Rendemen simplisia} = \frac{\text{bobot simplisia (akhir)}}{\text{bobot bahan baku (awal)}} \times 100\%$$

2. Ekstraksi Kulit Buah Jeruk Sambal

Serbuk simplisia kulit jeruk sambal diekstraksi dengan metode maserasi selama 3 hari menggunakan pelarut etanol 96%. Proses ekstraksi dilakukan selama 1 x 24 jam dengan sesekali diaduk. Maserat ditampung dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator (Astuti, Lestari, dan Nurviana 2021).

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{ekstrak kental}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3. Fraksinasi

Ekstrak pekat etanol langsung di fraksinasi dengan etil asetat (rasio 1:1). (Sari dkk 2018).

3.4.1 Rancangan Formula *Facial Cleansing Oil* Fraksi Etil Asetat

Tabel 2. formulasi *facial cleansing oil* fraksi etil asetat kulit buah jeruk sambal

Nama bahan	Konsentrasi (%)			Range (%)	Fungsi
	F1	F2	F3		
Fraksi etil asetat kulit buah jeruk sambal	0,2	0,35	0,5	-	Zat Aktif
Petrolatum	40	40	40	100%	Emolien
Asam stearate	6	6	6	1-20%	<i>Solubilizer</i>
Isopropil palmitat	10	10	10	1-10%	Skin Penetrant
Butylated Hydroxytoluene (BHT)	0,1	0,1	0,1	0,0075- 0,1%	Antioksidan
Oleum elmon	0,03	0,03	0,03	-	Parfum
Mineral oil	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100%	Pelarut dan basis

3.4.2 Sterilisasi Alat

Seluruh alat-alat gelas terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan dan alat yang akan digunakan selanjutnya disterilkan dalam oven yaitu pada suhu 160°C selama 45 menit. Jarum ose disterilkan dengan dipijarkan menggunakan nyala Bunsen. Untuk cawan petri dan pipet tetes disterilkan menggunakan larutan etanol 96%. (Dewi Handayani, Nurhamidah, 2021). Sudip dan pipet tetes direndam dengan etanol 96%, jarum ose dan pinset disterilkan dengan dipijarkan menggunakan nyala Bunsen. Media disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. (Misra dan Misra, 2012).

3.4.3 Pembuatan Media NA

Media pembenihan Nutrient Agar (NA) dibuat dengan melarutkan 4 gram NA ke dalam 200 mL aquades dan dipanaskan hingga larut. Selanjutnya disterilkan didalam *inkubator* selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. (Handayani dan Nurhamidah, 2021)

3.4.4 Peremajaan Bakteri

Diambil 1 ose bakteri uji *staphylococcus aureus* kemudian digoreskan kedalam media NA miring dan diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C. (Handayani dan Nurhamidah, 2021)

3.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan larutan suspensi dibuat dengan diambil dengan 1 ose bakteri, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologi 0,9%, dengan biakan murni didalam tabung reaksi dan dikocok sampai homogen (Misna dan Khusnul, 2016).

3.4.6 Penyiapan *Cakram Disk*

Kertas *cakram disk* dengan diameter 1 cm disiapkan kemudian direndam kedalam formula masing-masing larutan sampel yang akan digunakan dan direndam selama 15 menit, dilakukan secara aseptik kemudian setelah direndam didalam larutan sampel dan kertas *cakram disk* siap digunakan diletakkan pada media yang digunakan untuk siap dilakukan uji (Husnani & Rizki, 2018).

3.4.7 Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode *Cakram Disk*

Larutan bakteri dioleskan pada media pertumbuhan NA. Cakram uji kosong yang telah direndam selama 15 menit di dalam masing-masing formula *facial cleansing oil* diletakkan di atas permukaan NA secara aseptis di dalam laminar air flow. Setelah itu, diinkubasi ke dalam *inkubator* pada suhu 37°C selama 24 jam.

Keesokan harinya, diukur diameter zona bening (*clear zone*) yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. (Prayoga, 2013)

3.4.8 Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat/Bunuh

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat/bunuh. Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong dengan cara diukur diameter total zona bening/keruh cakram. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan. (Lalamentik *et al.*, 2017).

3.5 Analisis Data

Data hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dibuat dalam bentuk table dicococokkan dengan kategori zona hambat (Tabel 1) lalu di *deskripsikan*.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa *facial cleansing oil* fraksi etil asetat kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*) (Hassk Osche) memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan daya hambat terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat F1 10,44 mm (sedang), F2 12,12 mm (kuat) dan F3 10,33 mm (sedang) (Dikategorikan sedang)

5.2 Saran

Bedasarkan dari hasil penelitian dapat disarankan pada penelitian selanjutnya untuk melakukan uji aktivitas pada bakteri *Propionobacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiliah, A., Nurhamidah, N., & Handayani, D. (2021). Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Alotrop*, 5(1), 92–105.
- Ariani, N., Febrianti, D. R., & Niah, R. (2020). Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Pharmascience*, 7(1), 107.
- Ayu Desi Rachmadani, Sucia Rahmadani Nurlaila, K. H. (2022). Formulasi Dan Uji Stabilitas Sediaan Pembersih Wajah (Cleansing Oil) Berbahan Dasar Minyak Jarak (*Ricinus Communis*). *Journal Farmasi Klinik Dan Sains*, 1(2), 104–118.
- Dina Yuspita Sari, Sanitasari, R. W. (2022). Aktivitas Mukolitik Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Ochse) Secara In Vitro. *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional Volume 2, Nomor 2, Desember 2022 ISSN 2798-8740 Aktivitas*, 10(1), 1–52.
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197.
- Hudaya, A., Radiastuti, N., Sukandar, D., & Djajanegara, I. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Biologi*, 7(1), 9–15.
- Husnani, H., & Rizki, F. S. (2018). Pengaruh Pembentuk Film Pva Pada Sediaan Masker Gel Peel-Off Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherina Palmifolia* (L.) Merr) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Jerawat. *Jiffk : Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 15(2), 24.
- Inorah., P. &. (2013). *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)* (p. 155).
- Kalangi, & Sonny, J. R. (2013). Histofisiologi Kulit. Bagaian Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal Biomedik (JBM)*, 5(3), 12–20.
- Lalamentik, G. J., Wewengkang, D. S., & Rotinsulu, H. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Klyxum* sp. yang Diperoleh dari Teluk Manado. *Pharmacon*, 6(3), 46–56.
- Nareswari, N., & Kuncoro, A. (2017). Pembuatan salep minyak atsiri daun jeruk limau (*Citrus amblycarpa*) dan uji stabilitas terhadap tipe basis yang digunakan. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 14(2), 63–68.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128.
- Pelen, S., Wullur, A., & Citraningtyas, G. (2016). Formulasi Sediaan Gel

- Antijerawat Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanii*) Dan Uji Aktivitas Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon UNSRAT*, 5(4), 159245.
- Prayoga, E. (2013). Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*, 1–46.
- Saputra, A., Arfi, F., & Yulian, M. (2020). Literature Review: Analisis Fitokimia dan Manfaat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Amina*, 2(3), 114–119.
- Sari, D. Y., Widiyantoro, A., & Alimuddin, A. H. (2018). Isolasi Brazilin Dari Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) dan Formulasinya Untuk Lipstik Batang. *Jurnal Ilmu Dan Terapan Kimia*, 3(1), 1–15.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). RENDEMEN EKSTRAK AIR REBUSAN DAUN TUA MANGROVE *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9.
- Sptiani Et Al. *Klasifikasi Bakteri Staphylococcus aureus Tlm-2019-1534035-Chapter2*. 13–42.
- Widyasari, R., & Handayani, S. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol Kulit Jeruk Sambal Secara Spektrofotometri Uv-Visibel. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(2), 111–118.
- Widyasari, R., Yuspitasari, D., Wildaniah, W., & Cahayuni, R. (2018). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) Terhadap Larva *Artemia salina L.* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 3(1), 51–58.
- Wulandari, M., Idiawati, N., & Gusrizal. (2013). Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat Dan Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus Microcarpa Bunge*). *Jkk*, 2(2), 90–94.
- Yanti, R. S. A, S. N., Chandra, V. E., & -, V.-. (2021). Kajian Metabolit Sekunder dalam Air Perasan Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) yang Berasal dari Desa Kalimas, Kalimantan Barat. *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 4(2), 105–110.