

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

Sukma Uswatun Niswah^{1*}, Ana Indrayati¹, Ghani Nurfiana Fadma Sari¹

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta, Indonesia

ABSTRAK

Penyakit infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diobati dengan menggunakan antibiotik. Resistensi bakteri sering terjadi pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Kekebalan bakteri terhadap antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat. Daun jeruk purut dan daun kemangi mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Daun jeruk purut dan daun kemangi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dilakukan identifikasi golongan senyawa. Ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi dilakukan uji antibakteri dengan metode dilusi. Hasil konsentrasi bunuh minimal dikombinasi dengan perbandingan konsentrasi (1:1), (1:2), dan (2:1). Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dan penentuan efek kombinasi menggunakan metode pita kertas. Data dianalisa secara statistik dengan uji Shapiro-wilk, homogenitas Levene, dilanjutkan uji One-Way ANOVA dan uji Least Significant Difference. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Kombinasi ekstrak paling efektif ditunjukkan pada perbandingan konsentrasi 1:2 dengan rata-rata diameter zona hambat 27,21±0,47 mm dan memberikan efek kombinasi sinergis terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kata Kunci :

Antibakteri, daun jeruk purut, daun kemangi, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab tingginya angka kematian penduduk di negara berkembang, penyakit infeksi dapat menular dari satu orang ke orang yang lain atau dari hewan ke manusia yang disebabkan beberapa mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur (1). Bakteri Gram positif yang paling sering menyebabkan penyakit infeksi salah satunya yaitu *Staphylococcus aureus* (2). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi dengan frekuensi tertinggi yang menjangkit manusia, yang hidup sebagai saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran usus. Gejala yang sering ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* yaitu demam, mual, muntah, diare, dan ruam pada kulit (3).

Salah satu cara efektif yang digunakan dalam pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri adalah dengan pemberian antibiotik (4). Kekebalan bakteri terhadap antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat, sedangkan penurunan infeksi oleh bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian sulit dicapai, selain itu cara pengobatan yang menggunakan kombinasi berbagai antibiotik juga dapat menimbulkan masalah resistensi (5). Laporan dari Badan Kesehatan Dunia World Health Organization (WHO) dalam Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance menunjukkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik di

dunia (6). Hal tersebut mendorong penemuan sumber obat-obatan dari bahan alam yang dapat berperan sebagai antibakteri yang poten dan relatif lebih murah (5).

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) mengandung senyawa kimia yang berperan sebagai antibakteri antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan tanin (7). Ekstrak etanol daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat dikategorikan sedang hingga kuat, yaitu pada konsentrasi 8% (10,2 mm), 10% (11 mm), 20% (11,3 mm), 40% (11,8 mm), dan 60% (12,2 mm) (8). Tanaman obat tradisional lain yang banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia yaitu daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.). Daun kemangi memiliki senyawa aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, tannin dan fenol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella pneumonia* (9). Ekstrak etanol daun kemangi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20% (10 mm), 40% (14 mm), 60% (18 mm), dan 80% (23 mm) sehingga zona hambat tersebut dikategorikan zona hambat kuat hingga sangat kuat (10).

Kombinasi tanaman yang bersifat antibakteri akan saling mempengaruhi kerja dari masing-masing senyawa aktif didalamnya, sehingga

Masuk 08-06-2023

Revisi 17-06-2023

Diterima 22-10-2023

DOI: 10.20956/mff.v27i3.27092

Korespondensi

Sukma Uswatun Niswah

02216736a@mhs.setiabudi.ac.id

Copyright

© 2023 Majalah Farmasi
Farmakologi Fakultas Farmasi -
Makassar

Diterbitkan tanggal

30 Desember 2023

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



meningkatkan aktivitas antibakteri. Kombinasi ekstrak dari beberapa tanaman yang disatukan memiliki daya hambat antibakteri yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal (11). Ekstrak daun jeruk purut yang dikombinasikan dengan ekstrak daun kelor mampu menghambat *Staphylococcus aureus* dengan kategori kuat, namun belum banyak terdapat penelitian aktivitas antibakteri terhadap tanaman daun jeruk purut dalam bentuk kombinasi 2 tanaman atau lebih (12). Berdasarkan uraian di atas mendorong peneliti untuk melakukan uji aktivitas antibakteri serta efek kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diharapkan dengan mengkombinasikan 2 tanaman tersebut akan menghasilkan efek yang sinergis.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bejana maserasi, cawan petri (pyrex), batang pengaduk, botol semprot, aluminium foil, kertas timbang, kertas saring, timbangan analitik (Mettler Toledo AL204, d = 0,0001g, Columbus: Ohio), timbangan digital (Precisa XB620C, d=0,01g, Moosmattstrasse: Swiss), alat-alat gelas (Pyrex, Singapura), oven, inkubator (Mammert IN30, Mammert: Jerman), Laminar Air Flow (LAF), autoklaf (All American 75x), corong Buchner, rotary evaporator (DP IKA RV 10), bunsen, ose bulat, paper disk, botol vial, pinset, pipet tetes, mikropipet, ayakan no.60 dan kertas whatmann no.1.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun jeruk purut, daun kemangi, etanol 96%, Bakteri *S. aureus* ATCC 25923, medium *Nutrient Agar* (NA), medium *Mueller Hinton Agar* (MHA), medium *Vogel Jhonson Agar* (VJA), Medium *Manitol Salt Agar* (MSA), Medium *Brain-heart Infusion Broth* (BHI), NaCl 0,9%, klindamisin disk, larutan DMSO, kalium telurite, asam asetat, aquadest steril.

Pembuatan Serbuk Simplisia

Sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dan daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) diambil dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa tengah. Sampel yang telah dikumpulkan dilakukan sortasi basah, lalu dicuci bersih terlebih dahulu. Setelah dirajang, sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa paparan sinar matahari langsung, kemudian dioven pada suhu 40°C (13). Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam simplisia dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga dapat mencegah pembusukan yang diakibatkan oleh mikroorganisme. Setelah kering, sampel dilakukan sortasi kering dan diserbukkan dengan alat penyerbuk (blender) kemudian diayak dengan ayakan nomor 60 sehingga diperoleh serbuk simplisia yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen (14). Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat.

Penetapan Kadar Air Serbuk

Penetapan kadar air serbuk daun jeruk purut dan daun kemangi dilakukan dengan metode destilasi azeotropi menggunakan alat sterling-bidwell. Sebanyak 20 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan toluen 200 ml yang telah dijenuhkan dengan air sebanyak 10 ml, proses pemanasan dihentikan apabila air sudah tidak menetes pada tabung berskala. Kadar air dapat dilihat dari volume air yang terukur pada alat dan ditetapkan dalam satuan persen sebagai kadar air sampel (15). Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut dan Daun Kemangi

Ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi masing-masing dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia dimasukkan dalam botol gelap, kemudian ditambahkan 5000 ml etanol 96%, kemudian didiamkan selama 6 jam pertama. Pada saat perendaman, larutan sesekali diaduk agar serbuk simplisia dan pelarut dapat tercampur secara homogen dan mempercepat kontak antara serbuk simplisia dan pelarut guna menarik senyawa aktif dengan sempurna. Selanjutnya didiamkan selama 18 jam, kemudian maserat disaring dengan kain flannel dan kertas saring menggunakan corong Buchner untuk memisahkan cairan etanol dengan residu. Residu hasil maserasi dilakukan remaserasi menggunakan 50 bagian pelarut pada maserasi pertama selama 24 jam, kemudian disaring kembali. Maserat dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer bulat lalu diuapkan dengan rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental (15).

Penetapan Susut Pengeringan Serbuk dan Ekstrak

Penetapan susut pengeringan masing-masing serbuk dan ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi dilakukan menggunakan alat Moisture balance. Ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi masing-masing ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian serbuk diukur persentase susut pengeringannya pada alat Moisture balance dengan suhu 105°C selama 30 menit atau hingga bobot tetap yang ditandai dengan bunyi pada alat (16). Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Penetapan Presentase Rendemen

Rendemen ekstrak dapat dihitung dengan cara jumlah bobot ekstrak yang diperoleh (gram) terhadap jumlah bobot simplisia awal (gram) yang hasilnya dinyatakan dengan persen (%) (Depkes RI, 2000). Persyaratan hasil rendemen harus sesuai dengan masing-masing monografi ekstrak (15). Rendemen ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = (\text{Berat ekstrak kental (gram)}) / (\text{Berat simplisia (gram)}) \times 100\%$$

Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Daun Jeruk Purut dan Daun Kemangi

Identifikasi Flavonoid

Sejumlah 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan menggunakan aquadest panas sebanyak 4 ml lalu tambahkan 0,1 g serbuk Mg, 2ml larutan alkohol: asam klorida (1:1) serta 2 ml amil alkohol, digojog serta didiamkan terurai atau memisah. Reaksi positif flavonoid bila terbentuk warna merah kuning jingga pada lapisan amil alkohol (17).

Identifikasi Alkaloid

Sejumlah 0,5 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan menggunakan aquadest panas sebanyak 4 ml lalu ditambah 1,5 ml HCl 2%. Setelah itu dibagi dalam 4 tabung reaksi dengan sama banyak. Tabung reaksi pertama sebagai pembanding, tabung reaksi yang kedua ditambahkan reagen dragendorff 3 tetes. Reaksi positif alkaloid ditandai adanya keruh atau endapan warna coklat. Tabung reaksi yang ketiga ditambahkan reagen mayer sebanyak 3 tetes, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan putih kekuningan. Tabung reaksi yang keempat ditambahkan pereaksi Bouchardat sebanyak 3 tetes, reaksi positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat kehitaman (17).

Identifikasi Saponin

Sejumlah 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan menggunakan aquadest panas sebanyak 4 ml, lalu ditambahkan lagi aquadest panas sebanyak 10 ml, dinginkan kemudian digojog kuat selama 10 detik sampai terbentuknya buih yang mantap selama < 10 menit. Reaksi positif saponin ditandai dengan buih tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2N (17).

Identifikasi Tanin

Sejumlah 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan menggunakan aquadest panas sebanyak 4 ml lalu ditambah 3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Reaksi positif tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua (17).

Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Peremajaan Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diremajakan dengan menggoreskan biakan dari stok bakteri ke media NA miring secara aseptik, digoreskan menggunakan jarum ose steril sebanyak 1-2 ose. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan tersebut merupakan aktivitas awal dari stok bakteri yang kemudian disimpan pada suhu 4-5°C.

Identifikasi Pada Media Mannitol Salt Agar (MSA)

Identifikasi ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan *Staphylococcus aureus* dalam memfermentasi mannitol. Biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasikan secara gores pada media MSA dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditandai dengan koloni yang dihasilkan berwarna putih serta perubahan warna media dari warna merah menjadi kuning (18).

Identifikasi Pada Media Vogel Jhonson Agar (MSA)

Media Vogel Jhonson Agar (VJA) steril yang telah ditambah 2 tetes kalium tellurite 1% dimasukkan dalam cawan petri dan didiamkan pada suhu ruang hingga menjadi padat. Bakteri uji digoreskan menggunakan jarum ose pada media VJA yang telah ditambahkan 2 tetes kalium tellurite 1%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian diamati pertumbuhan bakteri. Hasil positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditandai dengan koloni yang dihasilkan berwarna hitam serta perubahan warna media di sekitar koloni menjadi warna kuning (19).

Identifikasi Pewarnaan Gram

Bakteri diambil 1 ose digores tipis pada preparat dan difiksasi diatas api kemudian ditetaskan pewarna Gram A dibiarkan 1 menit, dibilas dengan air mengalir, ditetaskan Gram B dibiarkan 1 menit, dicuci dengan Gram C dan dikeringkan, kemudian ditetaskan pewarna Gram D sebagai cat lawan atau penutup dibiarkan 1 menit, dibilas kembali dengan air lalu dikeringkan, hasil diamati dibawah mikroskop. Bakteri Gram positif akan mempertahankan zat warna kristal violet sehingga akan berwarna ungu. Hasil positif ditunjukkan dengan koloni bentuk bulat bergerombol seperti anggur dan berwarna ungu saat diamati dibawah mikroskop (20).

Identifikasi Biokimia dengan Uji Katalase dan Uji Koagulase

Uji Katalase dilakukan dengan meneteskan 2 tetes hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada gelas obyek yang bersih, kemudian biakan bakteri uji diambil sebanyak 1 ose dan dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida. Hasil positif genus *Staphylococcus* ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung gas (O₂) (21).

Uji Koagulase dilakukan dengan menyiapkan 1 lembar karton hitam kecap air khusus untuk uji koagulase dari ramel, kemudian ditetaskan larutan *Staphaurex* (latex koagulase) sebanyak 1 tetes ke atas kertas karton hitam tersebut. Setelah itu diambil 1 ose biakan bakteri dan diletakkan di atas larutan *Staphaurex*, kemudian kertas karton hitam digoyangkan selama 30-60 detik. Uji koagulase positif jika terbentuk endapan seperti pasir-pasir kecil berwarna putih ke abu-abuan pada kertas karton hitam (22).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah diremajakan dengan media NA miring diambil sebanyak 1-2 ose, selanjutnya diinokulasikan ke dalam media BHI sejumlah 2 ml pada tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C±2°C selama 18-24 jam. Pada metode difusi, suspensi yang diperoleh diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 2 ml, kemudian dihomogenkan dengan vortex, kemudian suspensi disesuaikan dengan standar kekeruhan Mc Farland 0,5 yang setara dengan 1,5x10⁸ CFU/ml. Pada metode dilusi, digunakan suspensi bakteri dengan standar kekeruhan 1,5x10⁵ CFU/ml (23).

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi

Ekstrak tunggal daun jeruk purut dan daun kemangi diuji aktivitas antibakterinya dengan metode dilusi untuk mengetahui KHM dan KBM dari masing-masing ekstrak. Uji ini menggunakan 10 tabung reaksi yang telah disterilkan. Seri konsentrasi pengenceran dari masing-masing ekstrak yang digunakan adalah 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; dan 0,78%. Tabung ke 3 sampai 9 ditambahkan 1 ml media BHI. Tabung kedua ditambahkan 2 ml sampel, kemudian dari tabung kedua diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung ketiga, dan dari tabung ketiga diambil 1 ml untuk dimasukkan ke dalam tabung keempat begitu seterusnya sampai tabung kesembilan, sedangkan pada tabung kesembilan diambil 1 ml dan dibuang. Suspensi bakteri dipipet sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2 sampai 9 dan dihomogenkan.

Tabung pertama sebagai kontrol negatif diisi 2 ml sampel dan tabung ke sepuluh diisi 2 ml suspensi bakteri yang digunakan sebagai kontrol positif. Seluruh tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati hambatan pertumbuhan bakteri dengan membandingkan kekeruhan tiap tabung dengan kontrol positif. Seri konsentrasi pengenceran dari masing-masing ekstrak pada konsentrasi terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KHM. Konsentrasi yang ditetapkan sebagai KHM dikultur ulang pada media selektif MSA tanpa penambahan mikroba uji maupun zat antibakteri dengan cara digoreskan menggunakan jarum ose pada media MSA yang telah memadat, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada media MSA jika tidak terdapat koloni bakteri setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM. Pengujian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi secara kombinasi. Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik klindamisin dan kontrol negatif yang digunakan yaitu larutan DMSO 10%. Metode yang digunakan yaitu metode difusi dengan kertas cakram (paper disk). Suspensi bakteri terstandar Mc Farland 0,5 diambil menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali dioleskan pada cawan petri yang berisi media MHA (Mueller Hinton Agar) dan diamkan sekitar 5 menit atau hingga memadat pada suhu ruang.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk uji difusi yaitu hasil konsentrasi bunuh minimal (KBM) pada masing-masing

ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi dengan metode dilusi. Masing-masing konsentrasi kemudian dikombinasi dan dibuat variasi konsentrasi dengan perbandingan 1:1; 1:2 dan 2:1. Media MHA yang telah memadat di bagian permukaannya diletakkan kertas cakram dan ditetesi menggunakan mikropipette sebanyak 20 μ L larutan ekstrak. Cakram diletakkan pada permukaan media MHA dengan pinset, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi diamati zona hambat yang terbentuk disekeliling kertas cakram dan diukur diameternya. Pengujian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Daerah bening menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (24). Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong dengan mengukur diameter secara keseluruhan dari 3 sisi yang berbeda, kemudian hasil akhir merupakan hasil rata-rata dari pengukuran ketiga sisi tersebut (25). Selanjutnya diameter zona hambat dikategorikan sesuai dengan kriteria kekuatan daya antibakteri. Jika semakin luas zona bening maka semakin besar suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri (26).

Uji Efek Kombinasi Antibakteri dengan Metode Pita Kertas

Pengujian sifat kombinasi dilakukan dengan metode pita kertas pada perbandingan konsentrasi kombinasi paling efektif dari ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi. Pita kertas dibuat dengan memotong kertas whatman nomor 1 menjadi ukuran 0,5x4 cm (27). Masing-masing larutan ekstrak dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 50 μ L, kemudian pita kertas direndam di dalam cawan yang telah terisi larutan ekstrak hingga seluruh permukaan terbasahi. Kedua pita kertas direndam dan diangkat pada waktu yang bersamaan, kemudian diletakkan diatas media MHA yang telah dioleskan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan pinset. Pita kertas diletakkan tegak lurus dengan bagian pita saling tindih membentuk sudut 90°. Kemudian cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pola daerah jernih yang terbentuk disekeliling pita kertas digunakan dalam menentukan sifat kombinasi (28).

Analisis Data

Data yang telah diperoleh dari uji difusi dianalisis secara statistik menggunakan IBM SPSS Statistic 26. Data dianalisis menggunakan Saphiro Wilk untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak. Jika data terdistribusi normal maka dilanjutkan uji One-Way ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%, kemudian dilanjut dengan uji LSD (Least Significant Difference) (data yang homogen) dan uji Games-Howell (data tidak homogen) untuk mengetahui perbedaan signifikansinya. Data tidak terdistribusi normal diuji secara non-parametrik menggunakan Kruskal Wallis H, jika nilai signifikansi $p < 0,05$ maka dilanjutkan uji Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan signifikansi antar kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyerbukan simplisia bertujuan untuk memperbesar luas permukaan serbuk simplisia, sehingga dapat mempercepat kontak antara serbuk simplisia dengan pelarut (29). Hasil rendemen didapatkan bobot kering daun jeruk purut yaitu 1.438,33 gram dan daun kemangi sebesar 945,37 gram sehingga diperoleh nilai rendemen sebesar 28,78% dan 18,91%. Hasil proses pengeringan sampel akan menurunkan bobot simplisia kering dari daun jeruk purut dan daun

kemangi. Penurunan berat sampel ini berkaitan dengan adanya proses penguapan air serta senyawa yang mudah menguap di dalam daun jeruk purut dan daun kemangi yang terjadi selama proses pengeringan (30).

Hasil rendemen didapatkan bobot kering daun jeruk purut dan daun kemangi masing-masing sebesar 1.438,33 gram dan 945,37 gram kemudian diblender menjadi serbuk halus dan diperoleh hasil bobot serbuk daun jeruk purut dan daun kemangi masing-masing sebesar 1.282 gram dan 795 gram. Dari data tersebut kemudian dihitung nilai rendemen dan dihasilkan rendemen serbuk daun jeruk purut yaitu 89,13% dan daun kemangi sebesar 84,09%. Nilai rendemen tersebut menunjukkan bahwa pada simplisia daun jeruk purut setelah diserbuk berkurang sebanyak 10,87% dan pada simplisia daun kemangi sebanyak 15,91%. Hal tersebut dapat terjadi karena beberapa faktor diantaranya serbuk yang menempel pada alat penyerbuk, serbuk terbang karena angin, dan serbuk yang tidak lolos ayakan karena ukuran yang besar serta tulang daun yang tidak dapat hancur.

Tabel 1. Penetapan kadar air serbuk daun jeruk purut dan daun kemangi

Sampel	Replikasi	Volume air (ml)	Kadar air (%)	Rata-rata \pm SD
Serbuk daun jeruk purut	1	1,5	7,5	7,33 \pm 0,29
	2	1,4	7,0	
	3	1,5	7,5	
Serbuk daun kemangi	1	1,6	8,0	8,5 \pm 0,5
	2	1,8	9,0	
	3	1,7	8,5	

Penetapan kadar air serbuk daun jeruk purut dan daun kemangi dilakukan dengan metode destilasi azeotropi menggunakan alat sterling-bidwell. Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui batasan maksimal kandungan air pada simplisia, sehingga dapat mendukung kualitas simplisia untuk disimpan dalam waktu yang lama, karena kadar air yang tinggi atau lebih dari 10% dapat memungkinkan simplisia ditumbuhi oleh jamur yang dapat merusak dan mempengaruhi kualitas simplisia (31). Hasil rata-rata kadar air serbuk daun jeruk purut yaitu 7,33 \pm 0,29, sedangkan rata-rata kadar air serbuk daun kemangi yaitu sebesar 8,5 \pm 0,5. Kadar air pada serbuk daun jeruk purut dan daun kemangi yang didapatkan memenuhi syarat karena menurut Farmakope Herbal Indonesia yaitu kadar air pada suatu serbuk tidak lebih dari 10% (32). Hasil dari uji kadar air serbuk disajikan pada tabel 1.

Tabel 2. Rendemen ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi

Sampel	Bobot sampel (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%) b/b
Daun jeruk purut	500	81,68	16,3%
Daun kemangi	500	73,00	14,6%

Pembuatan ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Tujuan ekstraksi yaitu menarik senyawa kimia dalam daun jeruk purut dan daun kemangi. Rendemen ekstrak daun jeruk purut yang diperoleh yaitu sebesar 16,3%, sedangkan rendemen yang diperoleh ekstrak daun kemangi yaitu sebesar 14,6%. Pada penelitian (33) yang mengekstraksi daun jeruk purut dengan etanol 96% didapatkan hasil rendemen ekstrak kental sebesar 13,10%. Hasil rendemen ekstrak daun kemangi dalam penelitian ini memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan yaitu tidak kurang dari 5,6% (15). Hasil rendemen ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi disajikan pada tabel 2.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jeruk purut dan daun kemangi

Sampel	Replikasi	Bobot serbuk (gram)
Daun jeruk purut	1	2
	2	2
	3	2
Daun kemangi	1	2
	2	2
	3	2

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jeruk purut dan daun kemangi

Sampel	Replikasi	Bobot Ekstrak (gram)	Susut pengeringan (%)	Rata-rata \pm SD
Daun jeruk purut	1	2	2,5	2,83 \pm 0,29
	2	2	3,0	
	3	2	3,0	
Daun kemangi	1	2	4,5	4,17 \pm 0,29
	2	2	4,0	
	3	2	4,0	

Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi ditetapkan menggunakan alat moisture balance. Susut pengeringan merupakan prosedur yang digunakan untuk melakukan penetapan jumlah semua jenis bahan yang mudah menguap dan hilang pada kondisi tertentu. Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi bertujuan untuk mengetahui batas maksimal besarnya kandungan kelembapan yang dimiliki serbuk dan ekstrak. Hal ini dapat menggambarkan bahwa susut pengeringan mencakup kadar air dan kadar bahan lainnya yang dapat menguap (32). Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Berdasarkan tabel 3 dan 4, rata-rata hasil susut pengeringan serbuk daun jeruk purut yaitu 6,17% dan daun kemangi sebesar 8,23%, sedangkan rata-rata susut pengeringan ekstrak daun jeruk purut yaitu 2,83% dan daun kemangi yaitu 4,17%. Hasil tersebut telah sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan yaitu tidak lebih dari 10% (15). Hasil susut pengeringan serbuk daun jeruk purut dan daun kemangi berkaitan dengan proses pengeringan. Faktor-faktor yang berpengaruh dalam proses pengeringan antara lain adalah suhu, kelembaban, dan waktu. Semakin besar perbedaan suhu, kelembaban, dan waktu pengeringan maka akan semakin cepat proses pindah panas berlangsung sehingga mengakibatkan proses penguapan semakin cepat pula (34).

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi

No	Kandungan kimia	Hasil	Pustaka	Keterangan	
				Daun Jeruk Purut	Daun Kemangi
1.	Flavonoid	Terbentuk warna merah, jingga	Reaksi positif ditandai dengan terbentuk warna merah kekuningan pada lapisan amil alkohol (17).	+	+
2.	Alkaloid	a. Reagen dragendorff: terbentuk endapan coklat	a. Reagen dragendorff: Reaksi positif ditandai dengan adanya keruhan atau endapan berwarna coklat (35).	+	+
		b. Reagen mayer: terbentuk endapan putih kekuningan	b. Reagen mayer: Reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih kekuningan (17).	+	+
		c. Reagen bouchardat: terbentuk endapan coklat kehitaman	c. Reagen bouchardat: Reaksi positif ditandai dengan terbentuk endapan coklat kehitaman (36).	+	+
3.	Saponin	Terbentuk buih	Reaksi positif ditandai dengan buih tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2N (17).	+	+
4.	Tannin	Terbentuk warna hijau kehitaman	Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua (17).	+	+

Keterangan:

(+): Positif mengandung golongan senyawa kimia

(-): Negatif mengandung golongan senyawa kimia

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak jeruk purut dan daun kemangi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Identifikasi kandungan senyawa pada penelitian ini menggunakan uji tabung yang

dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam kedua ekstrak untuk mencegah pemalsuan zat aktif. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak disajikan dalam tabel 5.



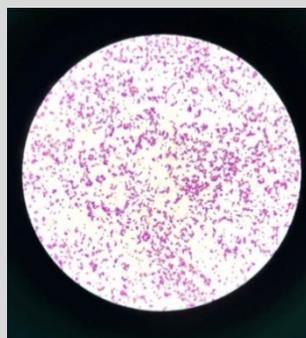
Gambar 1. Hasil identifikasi pada media MSA

Pengujian identifikasi bakteri *S. aureus* menggunakan media uji selektif yaitu MSA (Mannitol Salt Agar). Media ini digunakan karena tingginya kandungan garam NaCl pada media ini tidak dapat menumbuhkan bakteri selain genus *Staphylococcus*. Hasil positif *S. aureus* ditandai dengan perubahan warna media dari merah muda menjadi kuning dengan koloni bakteri berwarna putih. Hal ini disebabkan oleh adanya fermentasi mannitol, yaitu asam yang dihasilkan, menyebabkan perubahan phenol red pada agar yang berubah dari merah menjadi berwarna kuning (18).



Gambar 2. Hasil identifikasi pada media VJA

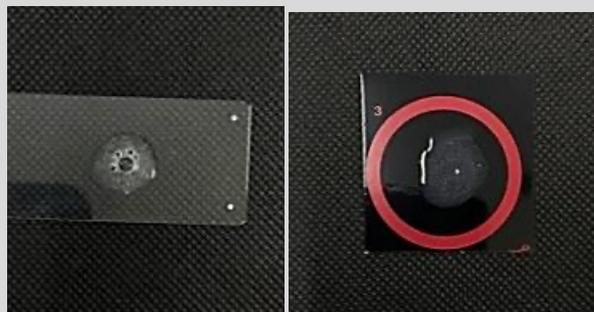
Uji identifikasi pada media VJA dilakukan dengan menggoreskan bakteri menggunakan jarum ose pada media VJA yang telah diberikan kalium tellurit 1%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Hasil identifikasi *S. aureus* pada media VJA menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya koloni berwarna hitam serta perubahan warna menjadi kuning di sekitar koloni. Adanya koloni hitam tersebut terjadi karena *S. aureus* mampu mereduksi potassium tellurite yang ditambahkan pada media menjadi logam tellurium dan membuat koloni berwarna hitam, sedangkan warna kuning di sekitar koloni terjadi karena reaksi fermentasi mannitol yang menyebabkan suasana menjadi asam sehingga phenol red dalam media berubah menjadi warna kuning (37).



Gambar 3. Hasil uji pewarnaan Gram

Tujuan dari pewarnaan Gram untuk mempermudah melihat bakteri secara mikroskopik, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, melihat struktur dalam bakteri dan menghasilkan sifat-sifat fisik serta kimia dari bakteri dengan zat warna (38). Hasil pewarnaan gram yang diamati menggunakan mikroskop perbesaran 100x menunjukkan jenis bakteri gram

positif yaitu *S. aureus* dengan ciri morfologi koloni berbentuk coccus, berwarna ungu, dan bergerombol seperti anggur. Bakteri gram positif menghasilkan warna ungu karena mampu mempertahankan cat utama yang berisi kristal violet selama proses pewarnaan gram karena dinding selnya mempunyai kandungan peptidoglikan yang tebal (39).



Gambar 4. Hasil uji katalase (kiri) dan uji koagulase (kanan)

Uji katalase pada bakteri yang berbentuk kokus berfungsi untuk memisahkan antara staphylococcus dan streptococcus, dimana katalase positif menunjukkan kelompok staphylococcus. Enzim katalase merupakan hemoprotein yang memiliki 4 gugus heme, dimana gugus ini dapat bereaksi dengan H₂O₂ yang dihasilkan oleh bakteri. Enzim katalase dapat mengkatalis pemecahan hidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂. Katalase positif ditunjukkan dengan adanya gelembung gas O₂ yang dihasilkan oleh genus staphylococcus (40). Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil positif ditunjukkan dengan adanya gelembung udara yang muncul setelah 4 detik diberikan larutan uji.

Uji koagulase pada penelitian ini dilakukan menggunakan Staphaurex Latex Agglutination Test Kit, dimana reagen Staphaurex mengandung latex yang dilapisi dengan fibrinogen manusia serta Fc Immunoglobulin G (Ig G). Ketika reagen dicampur dengan suspensi *S. aureus*, terjadi reaksi faktor penggumpalan fibrinogen dengan IgG yang menyebabkan aglutinasi partikel latexes secara cepat dan kuat (41). *S. aureus* apabila direaksikan dengan reagensia staphaurex akan memberikan reaksi adanya gumpalan berwarna putih. Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa didapatkan hasil positif ditunjukkan dengan adanya gumpalan berwarna putih yang terbentuk setelah 32 detik.

Tabel 6. Hasil konsentrasi hambat minimal ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi

Konsentrasi	Ekstrak daun jeruk purut			Konsentrasi	Ekstrak daun kemangi		
	I	II	III		I	II	III
Kontrol (-)	-	-	-	Kontrol (-)	-	-	-
100%	-	-	-	100%	-	-	-
50%	-	-	-	50%	-	-	-
25%	-	-	-	25%	-	-	-
12,5%	+	+	+	12,5%	-	-	-
6,25%	+	+	+	6,25%	+	+	+
3,12%	+	+	+	3,12%	+	+	+
1,56%	+	+	+	1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+	0,78%	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan:

(+): terdapat pertumbuhan bakteri

(-): tidak terdapat pertumbuhan bakteri

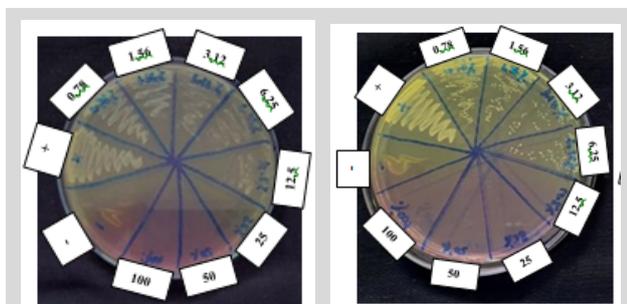
Kontrol (+): suspensi bakteri

Kontrol (-): ekstrak

Metode dilusi atau disebut juga metode pengenceran bertujuan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) dari ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi. Seri pengenceran ekstrak untuk uji dilusi pada penelitian ini dimulai dari konsentrasi tertinggi yaitu 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; dan 0,78%. Kontrol positif yang digunakan yaitu suspensi bakteri dan kontrol negatif yang digunakan yaitu ekstrak dengan konsentrasi 100%. Pada penelitian ini, konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun jeruk purut dan daun

kemangi terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tidak dapat ditentukan karena pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% hingga konsentrasi terendah yaitu 0,78% ekstrak masih bersifat keruh.

Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media MSA yang telah disubkultur dengan ekstrak dan telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai KBM yang diperoleh dari ekstrak daun jeruk purut yaitu 25% dan daun kemangi sebesar 12,5% yang artinya pada ekstrak daun jeruk purut konsentrasi 25% dan daun kemangi pada konsentrasi 12,5% baru memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Perbedaan hasil KBM pada daun jeruk purut dan daun kemangi dikarenakan perbedaan jenis minyak atsiri yang terkandung dalam kedua ekstrak tersebut. Menurut penelitian (42), minyak atsiri daun jeruk purut mengandung senyawa sitronellal dan minyak atsiri daun kemangi mengandung komponen senyawa linalool. Kandungan senyawa dalam minyak atsiri tersebut memiliki potensi antibakteri yang berbeda (43).



Gambar 5. Hasil konsentrasi bunuh minimal (KBM) ekstrak daun jeruk purut (kiri) dan daun kemangi (kanan)

Tabel 7. Hasil uji difusi cakram ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi secara tunggal dan kombinasi sebanyak 3 kali replikasi

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± SD	Kategori
	I	II	III		
Ekstrak daun jeruk purut 25%	12,47	11,93	12,56	12,32 ± 0,34 ^a	Kuat
Ekstrak daun kemangi 12,5%	20,74	21,51	21,63	21,29 ± 0,48 ^a	Sangat Kuat
EDJP:EDK (1:1)	22,48	22,62	22,97	22,69 ± 0,25 ^a	Sangat Kuat
EDJP:EDK (1:2)	26,73	27,23	27,68	27,21 ± 0,47 ^a	Sangat Kuat
EDJP:EDK (2:1)	25,52	25,36	25,49	25,45 ± 0,08 ^a	Sangat Kuat
Kontrol (+)	35,23	34,54	34,67	34,81 ± 0,37 ^a	Sangat Kuat
Kontrol (-)	0	0	0	0 ± 0 ^b	-

Keterangan:

Kontrol (+) : Klindamisin

Kontrol (-) : DMSO 10%

EDJP:EDK (1:1) : Ekstrak daun jeruk purut 25% : Ekstrak daun kemangi 12,5%

EDJP:EDK (1:2) : Ekstrak daun jeruk purut 25% : Ekstrak daun kemangi 25%

EDJP:EDK (2:1) : Ekstrak daun jeruk purut 50% : Ekstrak daun kemangi 12,5%

a : Tidak berbeda secara nyata

b : Berbeda secara nyata dengan kontrol negatif

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Prinsip dari metode ini yaitu sampel yang akan diuji diserapkan pada kertas cakram dan ditempelkan pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri kemudian diinkubasi sampai terlihat zona hambat didaerah sekitar cakram (44). Uji difusi dengan metode cakram bertujuan untuk mengetahui daya hambat bakteri dari ekstrak tunggal dan efektivitas perbandingan kombinasi

ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Konsentrasi ekstrak tunggal yang digunakan merupakan konsentrasi dari

hasil KBM pada uji dilusi, yaitu daun jeruk purut sebesar 25% dan daun kemangi sebesar 12,5%, sedangkan perbandingan konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 1:1 yang merupakan kombinasi 25% EDJP (ekstrak daun jeruk purut) dan 12,5% EDK (ekstrak daun kemangi), perbandingan 1:2 yaitu kombinasi 25% EDJP dan 25% EDK, serta perbandingan 2:1 yaitu kombinasi 50% EDJP dan 12,5% EDK.



Gambar 6. Hasil uji difusi ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi secara tunggal dan kombinasi

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi baik secara tunggal maupun kombinasi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Pada ekstrak tunggal daun jeruk purut, rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu 12,32 ± 0,34 mm, yang artinya ekstrak daun jeruk purut secara tunggal memberikan daya hambat yang kuat, sedangkan pada ekstrak daun kemangi memberikan daya hambat sangat kuat dengan rata-rata diameter zona hambat 21,29 ± 0,48 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:2 memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dalam menghambat *S. aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 27,21 ± 0,47 mm jika dibandingkan dengan perbandingan 1:1 dan 2:1 yang memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 22,69 ± 0,25 mm dan 25,45 ± 0,08 mm. Pada kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:1, 1:2, maupun 2:1 menghasilkan daya hambat pada kategori sangat kuat. Kontrol positif klindamisin disk memberikan daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* pada kategori sangat kuat dengan rata-rata zona hambat 34,81 ± 0,37 mm. Hal ini disebabkan pada ekstrak tunggal maupun kombinasi merupakan senyawa kompleks, sedangkan pada klindamisin mengandung senyawa kimia yang murni.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi secara tunggal dan kombinasi dianalisis secara statistik. Pada uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk didapatkan nilai $P > 0,05$ sehingga data terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji One-Way ANOVA untuk uji homogenitas Levene didapatkan nilai (sig) 0,061 > 0,05 sehingga data terdistribusi secara homogen. Pada uji One-Way ANOVA dihasilkan nilai (sig) 0,00 < 0,05 maka dari data tersebut terdapat perbedaan yang signifikan antara zona hambat ekstrak tunggal maupun kombinasi, sehingga perlu dilakukan uji lanjutan yaitu uji Post-Hoc pada uji LSD untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang memiliki perbedaan signifikan. Dari uji tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun jeruk purut, ekstrak daun kemangi, serta kombinasi EDJP:EDK perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan dengan kontrol negatif. Dari hasil statistik menunjukkan bahwa kombinasi EDJP:EDK (1:2) berbeda signifikan terhadap kombinasi EDJP:EDK (1:1) dan (2:1) serta dilihat pada tabel Homogenous Subsets menunjukkan bahwa perbandingan kombinasi EDJP:EDK (1:2) merupakan perbandingan kombinasi ekstrak yang paling mendekati kontrol positif, sehingga perbandingan kombinasi EDJP:EDK (1:2) merupakan perbandingan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabel 8. Hasil uji efek kombinasi dengan metode pita kertas

Replikasi	Perbandingan	Ekstrak	Sifat kombinasi
-----------	--------------	---------	-----------------

1	1:2	EDJP:EDK	Sinergis
2	1:2	EDJP:EDK	Sinergis
3	1:2	EDJP:EDK	Sinergis

Keterangan:
EDJP:EDK : Ekstrak daun jeruk purut 25% : Ekstrak daun kemangi 25%

Uji efek kombinasi antibakteri dengan metode pita kertas bertujuan untuk mengetahui sifat interaksi antara ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi. Pada pengujian kombinasi ini, ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi yang digunakan yaitu perbandingan 1:2 karena perbandingan tersebut adalah perbandingan kombinasi ekstrak yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pada hasil uji kombinasi ekstrak menunjukkan bahwa pada pita kertas yang telah direndam larutan kombinasi ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi terdapat adanya daya hambat secara melebar yang menghubungkan antara pita kertas yang saling tumpang tindih pada sudut 90°. Pada uji tersebut dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi bersifat sinergis yang ditandai dengan bentuk pola zona hambat yang melebar dan membentuk setengah lingkaran diantara pita kertas yang saling tumpang tindih pada sudut 90° (27). Efek sinergis merupakan efek hasil dari dua atau lebih komponen kimia yang memiliki potensi serupa serta meningkatkan satu sama lain.



Gambar 7. Hasil uji efek kombinasi ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi dengan metode pita kertas

Efek sinergis yang dihasilkan kombinasi ekstrak daun jeruk purut dan daun kemangi dikarenakan kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang memiliki mekanisme kerja antibakteri yang berbeda. Kandungan senyawa yang berbeda dalam masing-masing ekstrak akan saling berinteraksi satu sama lain, sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan akan saling menguatkan dan menghasilkan efek sinergis (11). Kandungan minyak atsiri yang terdapat pada daun jeruk purut dan daun kemangi juga dapat meningkatkan antibakteri. Minyak atsiri dengan kandungan komponen kimia yang kompleks serta gugus fungsi yang spesifik memiliki aktivitas antibakteri yang baik (45).

Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (46). Selain itu, senyawa flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, diantaranya menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi dari bakteri (47). Mekanisme kerja senyawa alkaloid yaitu dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga menyebabkan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan terjadi kematian sel (48). Senyawa saponin bekerja dengan mengganggu stabilitas membran sel yang mengakibatkan terjadinya kerusakan pada membran dan menyebabkan keluarnya komponen penting dalam sel bakteri (49). Senyawa tanin yang memiliki kemampuan membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen, jika terbentuk ikatan antara tanin dan protein maka akan

menyebabkan protein terdenaturasi sehingga metabolisme bakteri menjadi terganggu (50).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dan daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) mengandung beberapa golongan senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menghasilkan rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun jeruk purut pada konsentrasi 25% sebesar 12,32±0,34 mm dan ekstrak daun kemangi pada konsentrasi 12,5% sebesar 21,29±0,48 mm. Kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kemangi perbandingan 1:2 merupakan perbandingan yang paling efektif dan bersifat sinergis dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan rata-rata diameter zona hambat 27,21±0,47 mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan fasilitas untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Muhtadi, M., Ambarwati, R., dan Yuliani, R. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Kulit Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus epidermidis* Beserta Bioautografinya. *Biomedika*, 4(2).
- Widiastuti, D., dan Pramestuti, N. 2018. Uji Antimikroba Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 5 (2) : 43- 49.
- Nurwahdianti, 2014. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol 70% Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dengan Metode Bioautografi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Guay, D. R. P. 2007. Topical Clindamycin in The Management of Acne Vulgaris. *Pharmacother*, 8(15) : 2625-2664.
- Wijayakusuma, H., dan Dalimartha, S. 2006. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Jakarta : Penerbit Swadaya.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Penggunaan Antibiotika Bijak dan Rasional Kurangi Beban Penyakit Infeksi*. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Dhavesia, V. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Yogyakarta: Universitas Atmajaya.
- Karlina, V.R., dan Nasution, H.M. 2022. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Journal of Health and Medical Science*, 1 (2) : 131-139.
- Hadipoenyanti, E., dan Wahyuni, S. 2008. Keragaman Selasih (*Ocimum Spp.*) Berdasarkan Karakter Morfologi, Produksi dan Mutu Herba, halaman 141- 148.
- Khashan, A.A., Chyad, A., dan Aref, M.A. 2015. Study of Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* Against *Staphylococcus aureus* in Vitro. *J. of University of Anbar for pure science*, 9 (2) : 8-12.
- Otieno, J. N, K. M. M. Hosea, H. V. Lyaruu, and R. L. A. Mahunnah. 2008. Multi-Plant or Single-Plant Extracts, Which is the Most Effective for Local Healing in Tanzania. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(2): 165-172.
- Nurjannah, I., Mustariani, B.A.A., dan Suryani, N. 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif pada Sabun Antibakteri. *Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4 (1) : 23-36.
- Ningsih, D.R., Zufahair, Z., Kartika, D. 2016. Identification of Secondary Metabolites Compounds and Antibacterial Activities on The Extract of Soursop Leaf. *Molekul: Jurnal Ilmiah Kimia*, 11(1):101-111.
- Anam, C. 2010. Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) Kajian dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu. *Jurnal Pertanian MAPETA*, 12 (2) :72 - 144.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Safrina, D., dan M.B. Supriadi. 2019. Efektivitas metode blansir terhadap peningkatan kualitas simplisia temu manga (*Curcuma manga* Val) setelah masa simpan. *Jurnal Penelitian Pasca panen*, 16 (1) : 25-30.
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., dan R. Rasyid. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun (*Eugenia Cumini* Merr). *Jurnal Sains Tek Far*, 11(2) : 88-93.

18. Toelle, N.N., dan Lenda, V. 2014. Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus* Sp. Dan *Streptococcus* Sp. dari Inveksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial. *Jurnal Ilmu Ternak*, 1 (7) : 32-37.
19. Agustine, L., Okfrianti, Y., dan Jum, J. 2018. Identifikasi Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Yoghurt dengan Variasi Sukrosa dan Susu Skim. *Jurnal Dunia Gizi*, 1(2), 79-83.
20. Volk, W., & Wheeler, F. M. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. (S. Adisoemarto, Ed.) (Edisi 5). Jakarta: Erlangga.
21. Hadioetomo, R.S. 1990. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta : Penerbit PT Gramedia.
22. Erikawati D., Santosaningsih D., Santoso, S. 2016. Tingginya Prevalensi MRSA pada Isolat Klinik Periode 2010-2014 di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, Indonesia. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29 (2), 149-156.
23. CLSI. 2012. *Method For Dilution Antimicrobial Susceptibility Test For Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standards-Nineth Edition*. Wayne, PA Clinical and Laboratory Standards Institute. p.12.
24. Rahmawati, N., Sudjarwo, E., dan Widodo, E. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24 (3) : 24-31.
25. Dima, L.R., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Pharmacon*, 5.
26. Putra, I.M.A.S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annonae muricata* L.) dengan Metode Difusi Agar Cakram Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 1 (1) : 15-19.
27. Lorian, V. 2005. *Antibiotics in laboratory medicine 5th Edition*. New York : Albert Einstein College of Medicine.
28. Kurniati, N.F., Garmana, A.N., dan Aziz, N. 2017. Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Ekstrak Etanol Akar, Bunga, dan Daun Turi (*Sesbania Grandiflora* L. Poir). *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 42 (1) : 1-8.
29. Agoes G. 2009. *Teknologi Bahan Alam Serial Farmasi Industri 2 Edisi Revisi*. Bandung: Penerbit ITB.
30. Wiraguna, I.G.N.P., Wartini, N.M., dan Yoga, G.S. 2015. Pengaruh metode dan lama curing terhadap karakteritik daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian*, 3 (2) :109-119.
31. Hermawan, D.S., Lukmayani, Y., dan Dasuki, U.A. 2016. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak dan Fraksi yang Berasal dari Buah Berenuk (*Crescentia cujete* L.). *Prosiding Farmasi*, 2 (2) : 253-259.
32. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta : Depkes RI.
33. Nabilla, I.I., dan Indrayudha, P. 2019. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol, Etil-Asetat, dan Heksana Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 16 (1) : 11-17.
34. Rahayuningtyas, A., dan Kuala, S.I. 2016. Pengaruh Suhu dan Kelembaban Udara pada Proses Pengeringan Singkong (Studi Kasus : Pengering Tipe Rak). *Ethos: Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*, 4 (1) : 99-104.
35. Setyowati, W.A.E., Sri, R.D.A., Mulyani, B., Cici, P.R., dan Ashadi. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibthinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia V1271*.
36. Nafisah, M., Tukiran., Suyanto., Nurul, H. 2014. Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform, Dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*). *Jurusan FMIPA, Prosiding Seminar Nasional Kimia Surabaya : Universitas Negeri Surabaya*.
37. Karim. 2006. Sintesis Dekil Kloro Asetat dari 1-Dekanol dengan Asam Kloro Asetat menurut Metode Fischer. *Jurnal Matematika dan Sains*, 2 (11) : 99-105.
38. Jawetz, Melnick dan Adelberg's. 2016. *Medical Microbiology 27th ed*. New York: Mcgraw-Hill Education.
39. Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
40. Nurhidayati, S., Faturrahman, dan Ghazali, M. 2015. Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*, 1 (2) : 24-30.
41. Essers, L. and Radebold, K. (1980). Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. *J. clin. Microbiol.*, 12, 641.
42. Rukmana, F.J., Harjanti, R., dan Wibawa, D.A.A. 2019. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* D.C.) terhadap *Escherichia Coli* ATCC 25922. *Jurnal Biomedika*, 12(2) : 158-166.
43. Ramesh, B., dan Satakopan, V. N. 2010. In Vitro Antioxidant Activities of *Ocimum* Species: *Ocimum basilicum* and *Ocimum sanctum*. *Journal of Cell and Tissue Research*, 10 (1) : 2145-2150.
44. Novita, W. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper bettle* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Secara in Vitro. *Jambi Medical Journal*, 4 (2) : 140-155.
45. Aldoghaim, F., Flematti, G., dan Hammer, K. 2018. Antimicrobial Activity of Several Cineole-Rich Western Australian *Eucalyptus* Essential Oils. *Microorganisms*, 6(4), 122.
46. Angelina, M., Turnip, M., dan Khotimah, S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont*, 4 (1) : 184-189.
47. Manik, D.F., Hertiani, T., dan Anshory, H. 2014. Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah*, 6 (2) : 1-11.
48. Maharani, D., Prahari dan Purwanto. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans*. <http://respository.unej.ac.id/handle/123456789/59327>.
49. Darsana, I.G.O. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordofolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1 (3) L 337-351.
50. Suryan, D. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air dan ekstrak Etanol 95% Daun Sukun Terhadap Bakteri *E.coli*. Karya Tulis Ilmiah (KTI). Palangkaraya : Universitas Palangkaraya.

Sitasi artikel ini: Niswah SU, Indrayati A, Sari GN. 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 *MFF 2023;27(3):110-118*