

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jeruk Purut (*Citrus hystrix*)

Jeruk purut (*Citrus hystrix*) merupakan tanaman perdu jenis citrus. Masyarakat mengenal tanaman jeruk purut pada daun dan buahnya ini sebagai rempah. Bagian daun dan buah dapat digunakan sebagai *flavouring* makanan. Potensi lain yaitu bagian daun untuk produksi minyak atsiri (Wulandari & Mustofa, 2017).

2.1.1 Klasifikasi



Gambar 2.1 Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) (Agouillal *et al.*, 2017)

Berikut ini merupakan klasifikasi dari Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Viridiplantae</i>
Infrakingdom	: <i>Streptophyta</i>
Superdivision	: <i>Embryophyta</i>
Division	: <i>Tracheophyta</i>
Subdivision	: <i>Spermatophytina</i>

Class : *Magnoliopsida*
Superorder : *Rosanae*
Order : *Sapindales*
Family : *Rutaceae*
Genus : *Citrus L.*
Spesies : *Citrus hystrix DC* (Itis.gov, 2020).



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 2.2 (a) Buah, (b) Biji, (c) Bunga, dan (c) Daun
(Agouillal *et al.*, 2017).

2.1.2 Morfologi Tanaman

2.1.2.1 Daun

Daun jeruk purut majemuk menyirip beranak satu. Tangkai melebar menyerupai anak daun. Helainan anak daun bulat telur sampai lonjong, pangkalnya membundar atau tumpul, ujungnya tumpul hingga meruncing, tepi beringgit, panjang 8-15 cm, dengan lebar 2-6 cm, permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih, permukaan berwarna hijau tua agak mengilap, permukaan bawah hijau muda atau hijau kekuningan, buram, jika daunnya diremas akan mengeluarkan bau yang wangi. Ciri khas daunnya terdapat dua bagian, dengan lekukan ditengah (Susilo, 2013).

2.1.2.2 Bunga

Pembungaan pada jeruk terjadi setiap tahun mencapai 3-4 kali. Ciri-ciri pada bunga yaitu berbentuk dalam satu tangkai, bunga dapat muncul dari ketiak daun atau pada pucuk ranting yang masih muda, setelah pucuk daun tumbuh, kemudian putik bunga akan muncul, bunga pada jeruk purut berwarna kemerahan hingga keunguan dan memiliki aroma wangi karena banyak mengandung madu (Susilo, 2013).

2.1.2.3 Buah

Buah jeruk purut berbentuk bulat, oval, dan lonjong sedikit memanjang. Tangkai buah berbentuk besar dan pendek. Pada kulit buah tebal dan keras, tetapi ada juga yang tipis dan tidak keras. Pada jeruk memiliki dinding kulit berpori-pori dan terdapat kelenjar-kelenjar yang berisi pektin. Daging buah jeruk purut yaitu berwarna hijau keputihan. Di dalam daging buah jeruk purut terdapat cukup banyak biji (Susilo, 2013).

2.1.3 Nama Daerah

Jeruk Purut mempunyai sebutan yang berbeda-beda setiap daerah, yaitu pada daerah Batak bisa disebut dengan unte pangir, Lampung yaitu lemau sarakan, Minangkabau yaitu lemao puruik, Nias yaitu dema kafalo, Sunda yaitu jeruk wangi atau limau purut, Bali yaitu jeruk linglang atau jeruk purut, Flores yaitu mude nelu, Bugis yaitu lemo puru dan pada daerah Ambon bisa disebut dengan usi ela (Susilo, 2013).

2.1.4 Nama Umum

Indonesia bisa disebut dengan jeruk purut, Inggris yaitu *caffir lime*, Melayu yaitu limau purut, Thailand yaitu luuk makruut, Pilipina yaitu kabuyaw atau kulubut, China yaitu ma feng cheng, Jepang yaitu kobu mikan, Kamboja yaitu krauch soeuch, Laos yaitu khi hout, Burma yaitu shouk-pote dan pada daerah vietnam bisa disebut dengan truc (Susilo, 2013).

2.2 Kandungan Kimia Jeruk Purut

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan famili polifenol yang larut dalam air (Arifin & Ibrahim, 2018). Flavonoid merupakan produk alami tanaman, terutama fenol, dalam kondisi bebas maupun sebagai glikosida yang berikatan. Flavonoid di alam sebagai flavon, flavonon, flavonol, isoflavon dan antosianidin. Flavonoid menunjukkan aktivitas di alam sebagai bahan antimikroba (Kar, 2013).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016). Flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi karena dapat menghambat aktivitas bakteri (Arum *et al.*, 2012)

2.2.2 Fenol

Fenol memiliki cincin aromatik dan satu atau dua gugus hidroksil. Fenol merupakan golongan senyawa aromatik (Hanani, 2015). Fenol memiliki gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi ortho dan para pada gugus –OH dan –OR (Regina *et al.*, 2008). Fenol sederhana yaitu orsinol, katekol, pirogalol dan floroglusinol yang keberadaannya lebih terbatas. Senyawa fenol juga mengandung gugus karboksilat yang disebut asam fenolat. Fungsinya sebagai pembentukan dinding sel, pigmen bunga dan enzim (Hanani, 2015). Manfaatnya sebagai antioksidan untuk mencegah dan sebagai pengobatan penyakit degeneratif, kanker, penuaan dini dan gangguan sistem imun tubuh (Apsari & Susanti, 2011). Fenol tersebar luas pada tanaman, terutama pada tanaman yang memiliki senyawa aromatik. Strukturnya sederhana satu cincin aromatik hingga kompleks merupakan polimer, contohnya yaitu tanin dan lignin (Hanani, 2015).

2.2.3 Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan hasil penyulingan dengan uap dari bagian tanaman. Minyak atsiri mudah menguap dan dapat dihasilkan dari tanaman seperti akar, daun, buah, batang maupun bunga. Penggunaannya tersebar luas mulai dari bidang industri seperti industri kosmetik yang membuat sabun, pasta gigi, bedak maupun sampo, dalam bidang makanan sebagai penyedap, sedangkan dalam industri farmasi digunakan sebagai antiinfeksi, antinyeri dan sebagai antibakteri (Susilo, 2013).

2.2.4 Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat pada akar, kulit, daun, biji, dan buah yang berfungsi sebagai sistem pertahanan. Ciri saponin yaitu pahit, terbentuknya busa yang stabil pada larutan cair dan mampu membentuk molekul dengan kolesterol. Saponin terdiri dari gula yang mengandung glukosa, galaktosa, asam

glukoronat, xylosa, rhamnosa atau methylpentosa yang berikatan dengan hydrophobic aglycone (sapogenin) yaitu triterpenoid atau steroid membentuk glikosida (Hidayah, 2016).

2.2.5 Alkaloid

Alkaloid dapat sebagai anti diare, anti diabetes, anti mikroba dan anti malaria. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Alkaloid dapat dijumpai pada bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang. Fungsi alkaloid pada tanaman sebagai racun yang melindungi dari serangga dan herbivore (Ningrum *et al.*, 2016).

2.2.6 Tanin

Tanin merupakan metabolit sekunder yang dapat sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Malanggi, *et al.*, 2012). Senyawa tanin terdapat pada bagian tanaman yaitu kulit kayu, batang, daun dan buah (Amelia, 2015).

2.2.7 Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen, atau karbon, hidrogen dan oksigen yang bersifat aromatis, sebagian terpenoid mengandung atom karbon yang jumlahnya merupakan kelipatan lima. Senyawa terpenoid dapat digunakan sebagai obat anti tumor karena efek sitotoksiknya dan juga mempunyai aktifitas antivirus. Terpenoid umumnya terdapat dalam sel tumbuhan (Lubis, 2011).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat aktif pada tanaman. Tujuannya untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan. Proses ekstraksi merupakan perpindahan zat padat ke dalam pelarut. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut (Marjoni, 2017).

Metode ekstraksi dilakukan berdasarkan sifat dan tujuannya. Sampel yang dapat digunakan bisa berbentuk segar maupun sampel kering. Dalam ekstraksi ada beberapa hal yang harus diperhatikan yaitu jumlah simplisia, kehalusan simplisia, jenis pelarut, waktu ekstraksi, metode ekstraksi dan kondisi proses ekstraksi (Marjoni, 2017).

2.3.2 Macam-macam Ekstraksi

Ekstraksi dapat dibedakan berdasarkan wujud bahannya yaitu :

2.3.2.1 Ekstraksi padat cair

Proses ini banyak digunakan untuk mengisolasi suatu substansi yang terdapat pada tumbuhan. Ekstraksi ini melibatkan zat berbentuk padat dan membutuhkan waktu yang lama untuk pelarut dan zat padat. Kesempurnaannya sangat ditentukan dari bahan yang akan diekstraksi (Marjoni, 2017).

2.3.2.2 Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi ini dilakukan jika substansi yang akan diekstraksi berbentuk cairan di dalam campurannya (Marjoni, 2017).

2.3.3 Ekstraksi Cara Dingin

2.3.3.1 Maserasi

Maserasi merupakan ekstraksi cara dingin. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Metode ini dilakukan untuk mengekstrak kandungan senyawa yang belum diketahui dan bersifat tidak tahan pemanasan (Novita, 2016). Kelebihannya peralatannya sederhana, teknik pengerjaannya mudah, biaya murah, dan dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan pemanasan. Kerugiannya adalah memerlukan waktu yang lama, penyariaannya kurang sempurna, pelarut yang digunakan cukup banyak, kemungkinan besar ada beberapa senyawa yang hilang dan beberapa senyawa yang sulit diekstraksi pada suhu kamar (Marjoni, 2017).

2.3.3.2 Perkolasi

Ekstraksi dengan cara dingin tetapi memerlukan alat khusus yaitu perkolator. Keuntungannya dapat menyari lebih sempurna dibandingkan metode maserasi namun memerlukan pelarut cukup banyak dan membutuhkan waktu (Verawati *et al.*, 2017). Metode ini menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan cara mengalirkan pelarut melalui simplisia sehingga tersari sempurna (Hanani, 2015).

2.3.4 Ekstraksi Cara Panas

2.3.4.1 Seduhan

Metode paling sederhana dengan cara penambahan air panas ke dalam suatu bahan (Susilowati *et al.*, 2016).

2.3.4.2 Infusa

Infusa merupakan ekstraksi menggunakan pelarut air dan pada suhu 96-98⁰ selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu mencapai 96⁰) (Hanani, 2015).

2.3.4.3 Destilasi

Metode pemisahan untuk menarik senyawa yang ikut menguap dengan air sebagai pelarutnya. Pada proses pendinginan, senyawa dan uap air akan terkondensasi dan terpisah menjadi destilat air dan senyawa yang diekstraksi. Cara ini digunakan untuk menyari minyak atsiri dari tumbuhan (Hanani, 2015).

2.3.4.4 Refluks

Ekstraksi dengan cara pemanasan sehingga menguap dan uap tersebut dikondensasikan oleh pendingin balik. (Susanty & Bachmid, 2016).

2.3.4.5 Soxhletasi

Metode ini digunakan untuk mengekstrak senyawa yang memiliki kelarutan terbatas sehingga diperlukan pemilihan pelarut yang tepat. Pelarut yang digunakan harus memiliki daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan berhubungan dengan kepolaran pelarut (Yurleni, 2018).

2.4 Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat bakteri dan membunuh bakteri. Mekanisme senyawa antibakteri secara umum merusak dinding sel, mengubah permeabilitas sel, mengubah molekul protein dan asam nukleat, dan dapat menghambat kerja enzim (Susilo, 2013). Senyawa yang dapat merusak dinding sel yaitu fenol, flavonoid, dan alkaloid. Senyawa fitokimia tersebut berpotensi sebagai antibakteri alami pada bakteri patogen terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Septiani *et al.*, 2017).

Faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri yaitu kandungan antibakteri, jenis bakteri yang di hambat, waktu inkubasi, pelarut ekstrak , dan konsentrasi ekstrak (Indarto *et al.*, 2019).

2.5 Uji Daya Hambat Antibakteri

Macam-macam metode uji antibakteri yaitu :

2.5.1 Metode Difusi

Metode yang umum digunakan adalah metode *disc diffusion (tes Kirby & Bauer)*. Metode ini dapat menentukan aktivitas agen mikroba. Piringan berisi agen mikroba diletakkan pada media Agar yang ditanami dengan mikroorganisme yang akan berdifusi pada media tersebut. Area jernih menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar (Pratiwi, 2008). Metode difusi sering digunakan karena teknis pemeriksaan lebih mudah.

2.5.1.1 Difusi Cakram

Merupakan zona hambat daerah jernih di sekitar kertas cakram yang mengandung zat antibakteri yang dapat menunjukkan sensitifitas bakteri terhadap antibakteri. Zona hambat digunakan sebagai dasar penentuan tingkat resistensi. Tingkat resistensi bakteri dibedakan menjadi tiga yaitu sensitif jika terbentuk zona bening pada saat pengujian, intermediet jika terbentuk zona bening pada saat di uji dengan diameter yang kecil dan resisten jika tidak terbentuk zona hambat sama sekali pada saat dilakukannya pengujian (Pratiwi, 2008)

2.5.1.2 Difusi Sumuran

Metode sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk

melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Kusmiyati & Agustini, 2006). Kelebihannya yaitu mudah mengukur luas zona hambat di permukaan agar sampai bawah (Retnaningsih *et al.*, 2019).

2.5.2 Metode Dilusi

2.5.2.1 Metode dilusi cair (*broth dilution test*)

Metode ini dapat mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration* atau kadar hambat minimum, KHM) dan MBC (*minimum bactericidal concentration* atau kadar bunuh minimum, KBM). Metode ini dibuat dengan seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan mikroba uji. Hasil kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa pertumbuhan mikroba uji dapat ditetapkan sebagai KHM. Kemudian larutan KHM tersebut dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008)

2.5.2.2 Metode dilusi padat (*solid dilution test*)

Metode ini mirip dengan metode dilusi cair namun pada metode ini menggunakan media padat (solid). Keuntungannya adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008)

2.6 Zona Hambat dan Ketentuan Daya Hambat Antibakteri

2.6.1 Zona Hambat

Uji sensitivitas bakteri merupakan cara untuk mengetahui produk alam yang berpotensi sebagai bahan antibakteri serta mempunyai kemampuan untuk menghambat atau membunuh bakteri (Haryati *et al.*, 2017).

Tabel 2.1 Tingkat Resistensi

No	Tingkat resistensi	Zona Hambat
1.	Sensitif	Zona bening
2.	Intermediet	Zona bening berdiameter kecil
3.	Resisten	Tidak ada zona bening

(Pratiwi, 2008)

2.6.2 Ketentuan Daya Hambat Antibakteri

Ketentuan kekuatan daya hambat antibakteri yaitu daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm termasuk kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm termasuk kategori sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah (Alana *et al.*, 2017).

2.7 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat dan berdiameter 0,8-1,0 μm seperti bergerombol tidak beraturan, kadang-kadang dapat terlihat seperti untaian buah anggur. *Staphylococcus aureus* adalah mikroorganisme normal yang terdapat pada kulit, hidung, tenggorokan dan saluran pencernaan manusia. Bakteri ini sering terdapat di selaput hidung, kulit dan kantung rambut (Rollando, 2019).

2.7.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Firmicutes*

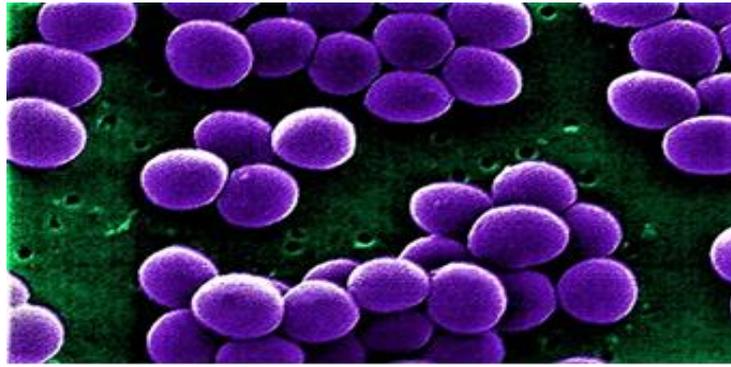
Class : *Bacilli*

Order : *Bacillales*

Famili : *Staphylococcaceae*

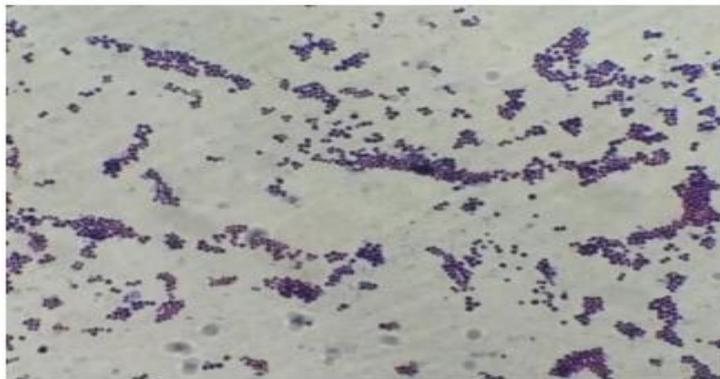
Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Itis.gov, 2020)



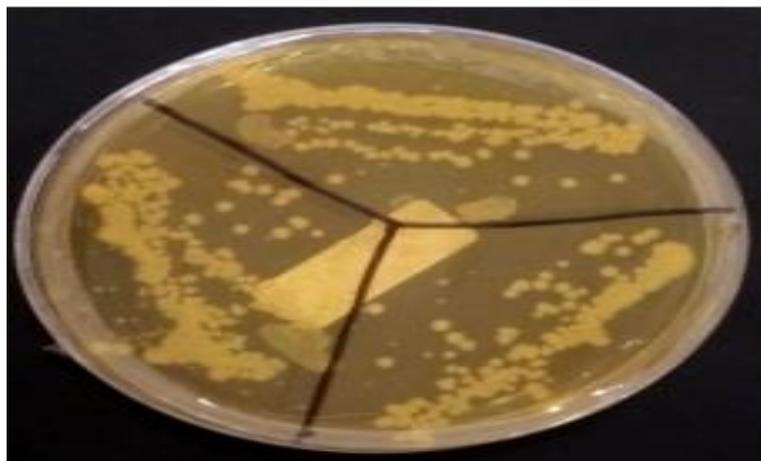
Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus* (<https://apic.Org/monthlyalerts/staphylococcus-aureus/> diakses pada 5 Maret 2020).

2.7.2 Pengecatan Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.4 Pengecatan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diamati pada mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x (Hayati *et al.*, 2019).

2.7.3 Isolasi Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.5 Isolasi pada *Staphylococcus aureus* media MSA dengan suhu 37°C selama 24 jam (Hayati *et al.*, 2019).

2.8 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif kelompok *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini berbentuk batang dengan susunan sel tunggal, ukuran sel sekitar 2 µm dengan diameter 0,5 µm. *Escherichia coli* hidup dengan suhu 20-40°C suhu optimumnya 37°C. Bakteri ini patogen yang banyak ditemukan pada usus besar manusia (Rollando, 2019). *Escherichia coli* merupakan penyebab infeksi bakteri umum seperti kolesistitis, bakteremia, kolangitis, infeksi saluran kemih, diare dan infeksi klinik yaitu meningitis pada bayi dan pneumonia (Yuliani *et al.*, 2011).

2.8.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

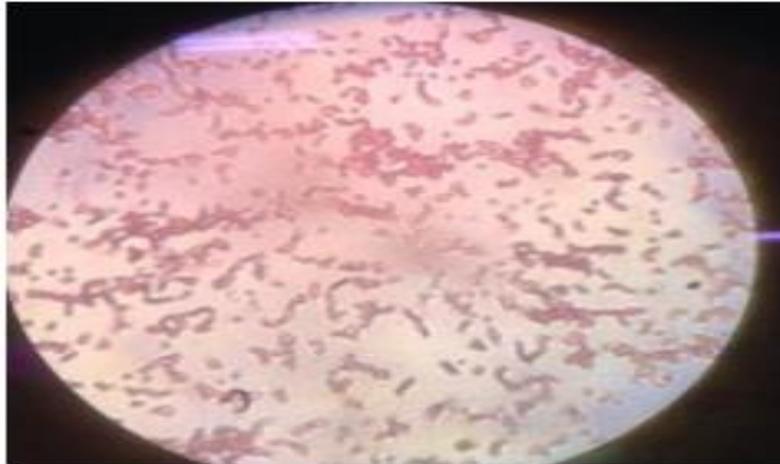
Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Negibacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Itis.gov, 2020)



Gambar 2.6 Bakteri *Escherichia coli* ([https:// www .inquirer .com/health/ecoli-explained-outbreak-romaine-fda-cdc-20191125.html](https://www.inquirer.com/health/ecoli-explained-outbreak-romaine-fda-cdc-20191125.html) diakses pada 17 Maret 2020).

2.8.2 Pengecatan Bakteri *Escherichia coli*



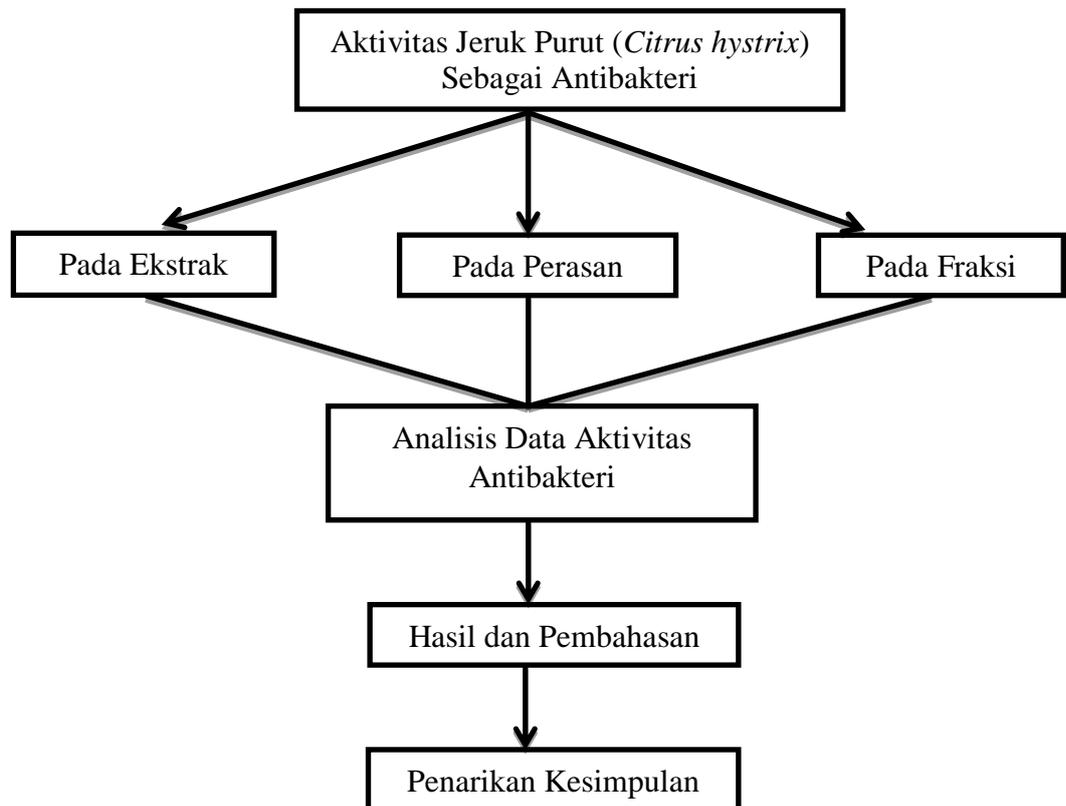
Gambar 2.7 Pengecatan bakteri *Escherichia coli* yang diamati pada mikroskop (Ariyanti, 2016).

2.8.3 Isolasi Bakteri *Escherichia coli*



Gambar 2.8 Isolasi pada *Escherichia coli* media NA dengan suhu 37°C selama 24 jam (Ariyanti, 2016).

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2.9 Diagram Kerangka Konsep