

UJI AKTIVITAS KRIM ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Elmitra, Yahdian Rasyadi, Naufal Amira
Universitas Peritis Indonesia
elmitrasahman@gmail.com

ABSTRAK

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen penyebab infeksi yang dapat menyebabkan acne dan frunkolosis pada kulit. Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) merupakan tanaman dari suku *Rutaceae*, memiliki kandungan sebagai antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dalam sediaan krim serta menguji aktivitas krim dengan variasi konsentrasi 14% (F1), 16% (F2), dan 18% (F3) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Evaluasi sediaan krim yang dilakukan yaitu : pemeriksaan organoleptis pada setiap formula didapatkan hasil berbentuk setengah padat, berwarna hijau muda, kehijauan, dan hijau pekat. Homogenitas semua formula homogen, pH setiap formula berkisar antara 6,99-6,22. Daya tercuci setiap formula berkisar antara 22,7-28,6 mL. Tipe krim setiap formula yaitu tipe M/A, viskositas setiap formula berkisar antara 4071-4434 cP. Stabilitas setiap formula yaitu stabil. Hasil analisis data menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak dan sediaan krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) mempengaruhi pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan adanya diameter zona hambat pada setiap formula. Pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dengan metode cakram konsentrasi tertinggi yang memberikan diameter daya hambat terbesar adalah 18% (12,73 mm). Dan pada uji aktivitas antibakteri sediaan krim dengan metode sumuran konsentrasi tertinggi yang memberikan diameter daya hambat terbesar adalah 18% (15,64 mm). Berdasarkan hasil analisis statistik ANOVA satu arah ($P < 0,05$) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan ke dalam setiap formula krim maka aktivitas antibakteri akan semakin meningkat.

Kata kunci : Penyakit infeksi, ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC), krim, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Salah satu penyebabnya adalah bakteri (Xie *et al.*, 2015).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang termasuk flora normal pada kulit (Foster *et al.*,

2014). Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit infeksi pada folikel rambut dan kelenjar keringat, bisul, serta infeksi pada luka. Bakteri ini mempunyai kemampuan invasi rendah, terlibat dalam banyak infeksi kulit (Miller *et al.*, 2012). Setiap jaringan yang terinfeksi, biasanya muncul tanda-tanda yang khas seperti peradangan dan pembentukan abses (Zhang *et al.*,

2015).

Sebagai upaya untuk meningkatkan kualitas obat tradisional, proses standarisasi penting dilakukan terhadap ekstrak yang mengandung senyawa aktif. Ekstrak sebagai bahan awal dianalogikan dengan komoditi bahan baku obat yang dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi produk jadi, baik dalam bentuk kapsul, tablet, pil, maupun dalam bentuk sediaan topikal (Pine *et al.*, 2011).

Salah satu bentuk tanaman obat adalah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) didalam jeruk purut terdapat minyak atsiri buah, selain itu bagian daun, kulit buah, dan kulit batang dari tumbuhan jeruk purut mengandung zat aktif flavonoid, fenolik, dan terpenoid (Rahmi *et al.*, 2013).

Bagian kulit jeruk purut banyak mengandung senyawa golongan flavonoid, steroid, saponin dan tanin. Bagian kulit biasanya digunakan sebagai obat bisul, panas dalam, radang kulit, kulit bersisik dan kulit mengelupas (Nurul, 2019). Kulit jeruk purut memiliki kandungan yang menunjukkan aktivitas antimikroba dan juga digunakan sebagai antibakteri dan mampu menghambat pertumbuhan infeksi *Staphylococcus aureus*.

Telah dilakukan penelitian oleh Nurul (2019) yang menunjukkan bahwa ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan konsentrasi 8%, 12%, dan 16% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena dalam kategori daya hambat kuat. Pada penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa pada konsentrasi 16% diperoleh zona hambat sebesar 11,93 mm (kuat), pada konsentrasi 12% diperoleh zona hambat sebesar 10,3 mm (kuat), dan pada konsentrasi 8% diperoleh zona hambat sebesar 9,06 mm (sedang).

Penggunaan ekstrak lebih optimal dengan memformulasikannya dalam bentuk sediaan, salah satunya sediaan krim. Krim lebih banyak digunakan karena praktis, lebih mudah digunakan, mudah dicuci, tidak berlemak, mudah dibersihkan dari kulit, dan tidak lengket seperti salep atau sediaan farmasi lainnya (Ansel, 2011). Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan formulasi dan uji aktivitas krim antibakteri dari ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan kurang lebih selama 3 bulan dari bulan Maret 2021 - Juni 2021. Proses evaporasi ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) di Laboratorium LLDIKTI Wilayah X Padang, formulasi dan evaluasi krim antibakteri dilakukan di Laboratorium Farmasetik Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas (UNAND).

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini ialah pisau, oven (Memmert), timbangan analitik (precisa), blender (Miyako), gelas kimia (Pyrex[®]), batang pengaduk, gelas ukur (Pyrex[®]), corong (Pyrex[®]), kamera, label, hot plate (Velp), inkubator (Memmert), cawan petri (Pyrex[®]), pH meter (Istek), autoklaf (All american), erlenmeyer (Pyrex[®]), tabung reaksi (Pyrex[®]), wadah krim, lumpang dan alu, laminar air flow (Biobase), pipet mikro (Dlab), pot salep, sudip, vortex mixer (Four E's), jangka sorong (Tricle brand), desikator, krus porselen, furnes (Carbolite), jarum ose, pingset,

seperangkat alat maserasi, dan rotary evaporator (ika[®]), alumunium foil (heavy duty).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC), etanol 96%, Muller Hilton Agar (MHA), NaCl fisiologis, asam stearat, TEA, metil paraben, propil paraben, paraffin cair, adeps lanae, aquades, DMSO, bakteri *Staphylococcus aureus*, krim pembanding (*chloramfenikol*), kloroform asetat, serbuk Mg, HCl (p), H₂SO₄ 2N, kloroform amoniak 0,05 N, norit, asam asetat anhidrat.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel diperoleh di daerah Arah Tiga, Kecamatan Lubuk Pinang, Kabupaten Muko-muko, Bengkulu. Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Andalas, Padang.

Penyiapan sampel

Kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dibersihkan dari kotoran, standar pemilihan sampel yaitu kulit jeruk yang segar dan tidak berlobang bekas ulat buah, kemudian dipotong kecil-kecil lalu dirajang halus, setelah itu ditimbang sebanyak 3000 g. Tahap

selanjutnya dilakukan proses ekstraksi sampel.

Ekstraksi sampel

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metoda maserasi. Sebanyak 3000 g kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dipotong kecil-kecil. Setelah itu dimasukkan ke dalam botol, direndam dengan etanol 96% sebanyak 3000 mL. Maserasi dilakukan selama 24 jam sambil sesekali diaduk, kemudian disaring dan filtratnya ditampung. Maserasi dilakukan sampai diperoleh maserat yang jernih, kemudian seluruh filtrat digabung. Filtrat tersebut diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga didapat ekstrak kental kemudian ditimbang beratnya (Putri *et al.*, 2015)

Pemeriksaan Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)

Parameter Spesifik

1. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi bentuk, bau, warna dan rasa ditentukan dengan menggunakan panca indera. (Departemen Kesehatan RI, 2008).

2. Rendemen

Rendemen ekstrak dihitung dengan cara membandingkan berat ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) yang didapat dengan berat

sampel awal (Departemen Kesehatan RI, 2008).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat Sampel awal}} \times 100\%$$

3. Kelarutan

Pemeriksaan kelarutan dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) pada air dan etanol 96%. Sebanyak 1 g ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dimasukkan kedalam erlemeyer, lalu alirkan air dari dalam buret. Lakukan hal yang sama dengan menggunakan alkohol 96% (Djamal, 2010).

4. Pemeriksaan pH

Pemeriksaan ini dilakukan menggunakan alat pH meter. Alat ini dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan dapar pH 4 dan pH 7. Elektroda dibilas dengan air suling dan dikeringkan. Pengukuran pH ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dilakukan dengan cara 1 g ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dilarutkan dengan air suling hingga 10 mL dalam wadah yang cocok. Elektroda dicelupkan dalam wadah tersebut, angka yang ditunjukkan pada pH meter merupakan nilai pH ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus*

hystrix DC) (Departemen Kesehatan RI, 1995).

Parameter Nonspesifik

1. Pemeriksaan Susut Pengerinan

Ekstrak kental ditimbang 1 gram dimasukkan ke dalam krus porselen yang sebelumnya telah ditara, Kemudian masukkan krus porselen yang berisi ekstrak ke dalam oven pada suhu 105°C sampai bobot tetap, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai diperoleh bobot konstan (Departemen Kesehatan RI, 2011). Hitung susut pengeringan dengan rumus :

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A = berat krus kosong (gram)

B=berat krus + sampel sebelum dipanaskan (gram)

C=berat krus + sampel setelah dipanaskan (gram)

2. Penetapan Kadar Abu

Pemeriksaan kadar abu dilakukan dengan cara ekstrak ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijar sebelumnya. Krus didinginkan dalam desikator dan dimasukkan ke dalam furnes suhu 600°C selama 6 jam, hingga

arang habis yang ditandai dengan warna abu-abu. Setelah dingin, ditimbang. (Departemen Kesehatan RI, 2011). Hitung kadar abu dengan rumus :

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat Krus Kosong (gram)

B = Berat Krus + Sampel Sebelum Pemijaran (gram)

C = Berat Krus + Sampel Setelah Pemijaran (gram)

3. Pemeriksaan Kandungan Kimia

1 gram Ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL aquadest dan 5 mL kloroform asetat, dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan kloroform (Harborne, 1987). Dilakukan beberapa pemeriksaan golongan senyawa kimia pada ekstrak kulit jeruk (*Citrus hystrix* DC) antara lain:

1. Uji Flavonoid (Metode “Sianidin Test”)

Diambil lapisan air 1-2 tetes, diteteskan pada plat tetes lalu ditambahkan serbuk Mg dan HCl(p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

2. Uji Alkaloid (Metode “Culvenore – Fitzgerald”)

Diambil sedikit lapisan kloroform ditambahkan 10 mL kloroform amoniak 0,05 N, diaduk perlahan, ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ 2N, kemudian dikocok perlahan, dibiarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih (Harborne, 1987).

3. Uji Saponin

Diambil lapisan air, dikocok kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen ($\pm$ 15 menit) menunjukkan adanya saponin (Harborne, 1987).

4. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode “Simes”)

Diambil sedikit lapisan kloroform, ditambahkan norit, ditambahkan asam asetat anhidrat, ditambahkan H₂SO₄(p), terbentuknya warna biru atau hijau menandakan adanya steroid sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid (Harborne, 1987).

Formula sediaan krim

Formula sediaan krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC)

Tabel 1. Formula sediaan krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC)

Bahan	F0 (%)	FI (%)	FII (%)	FIII (%)
Ekstrak kulit jeruk purut	-	14	16	18
Asam stearate	15	15	15	15
TEA	2	2	2	2
Adeps lanae	2	2	2	2
Parafin cair	12,5	12,5	12,5	12,5
Nipagin	0,05	0,05	0,05	0,05
Nipasol	0,025	0,025	0,025	0,025
Aquadest	Ad 150	Ad 150	Ad 150	Ad 150

Pembuatan krim

Pada penelitian ini dibuat sediaan krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan tiga variasi konsentrasi, yaitu 14%,16% dan 18%. Basis krim tipe M/A yang dibuat terdiri dari dua fase yaitu fase minyak (parafin cair, adeps lanae, asam stearat, nipasol) dan fase air (TEA, nipagin). Fase – fase tersebut dilebur pada suhu 70°C diatas waterbath. Fase minyak dipindahkan kedalam lumpang panas yang telah berisi fase air, kemudian diaduk sampai homogen hingga terbentuk massa krim.

Pembuatan krim ekstrak kulit jeruk purut dengan cara mencampurkan basis krim dengan ekstrak kulit jeruk purut sedikit demi sedikit sesuai dengan konsentrasi. Formulasi krim ekstrak kulit jeruk purut dengan konsentrasi 14%, 16%, 18% (Nurul *et al.*,2019).

Evaluasi Krim Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)

Uji Organoleptis

Pemeriksaan terhadap bentuk, bau dan warna dilihat dengan panca indera pada suhu kamar. Pengamatan dilakukan selama 6 minggu (Departemen kesehatan RI, 1995)

Uji Homogenitas

Sediaan krim ditimbang 0,1 g kemudian dioleskan secara merata dan tipis pada kaca transparan, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan diamati tiap minggu selama 6 minggu (Departemen Kesehatan RI, 1980).

Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan alat pH meter. Alat ini dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan dapar pH 4-7. Pengukuran pH dilakukan dengan cara mengencerkan 1 g krim dengan aquadest hingga 10 mL dalam wadah yang cocok. Elektroda dicelupkan

kedalam wadah tersebut dan dibiarkan angka bergerak sampai posisi konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH krim (Departemen Kesehatan RI, 2014).

Uji Tipe Krim

Pemeriksaan dilakukan dengan cara 0,5 g sediaan dimasukkan ke dalam kaca objek lalu ditetesi dengan metilen blue setelah itu ditutup dengan cover glass, diamati perubahan yang ada pada mikroskop. Metilen blue bersifat larut dalam air dan tidak larut dalam minyak. Bila metilen blue tersebar merata maka krim bertipe M/A, jika tidak tersebar merata maka krim bertipe A/M (Lachman *et al.*,1994).

Uji Daya Tercuci

Pemeriksaan daya tercuci dari krim antibakteri dilakukan dengan cara mengoleskan 1 g krim antibakteri diatas telapak tangan manusia lalu dicuci dengan sejumlah volume air. Air dilewatkan dari buret dengan perlahan-lahan, diamati visual sampai tidak ada sisa krim yang tersisa pada telapak tangan, lalu dicatat volume air yang terpakai (Jellinek, 1970).

Uji Viskositas

Penentuan viskositas bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan

kekentalan pada tiap formula krim. Alat yang digunakan adalah viscometer stormer. Sediaan krim dimasukkan kedalam beaker sebanyak 500 mL. Pengukuran dilakukan dengan viscometer stormer dengan cara, spindle dicelupkan kedalam sediaan sampai garis tanda batas yang ada pada spindle, kemudian alat dinyalakan (Lachman *et al.*, 1994).

Uji Stabilitas

Uji stabilitas sediaan krim dilakukan dengan metode uji pemisahan fase dengan metode freeze dan thaw caranya : Sediaan krim untuk masing-masing formula ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam vial yang tertutup rapat. Sebanyak 4 vial digunakan sebagai kontrol, disimpan pada suhu kamar dan 4 vial digunakan untuk siklus freeze dan thaw dengan penyimpanan suhu 4°C pada 24 jam pertama dan suhu 40°C pada 24 jam berikutnya (1 siklus). Pengujian dilakukan sebanyak 6 siklus. Pengamatan dilakukan pada akhir setiap siklus dengan mengamati perubahan organoleptis. Sediaan dikatakan stabil bila telah melewati 6 siklus tidak terjadi perubahan organoleptis sediaan secara nyata. kemudian diamati perubahan fisik yang terjadi (apakah ada pemisahan).

Penyimpanan sampel krim pada suhu tinggi 40°C (Rieger M, 2000).

Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas (ANDA) Padang.

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri ini, disterilkan terlebih dahulu sebelum dipakai. Alat-alat gelas disterilkan didalam oven pada suhu 170°C selama 1 jam. Media disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose dan pinset dengan lampu bunsen (Lay, 1994).

2. Pembuatan media MHA (Mueller Hinton Agar)

Ditimbang 3,8 gram Muller Hinton Agar (38 g/L) dengan komposisi medium (*Beef Infusion* 300 gr, *Casamino acid* 17,5 g, Agar 17 g) kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquadest. Dipanaskan hingga mendidih, disterilkan Pembuatan selama 15 menit dengan autoklaf dengan tekanan udara 1 atm suhu 121°C. (Ramadanti, 2008).

3. Pembuatan (Larutan Mc.Farland)
Sebanyak 99,5 mL larutan asam sulfat 1% v/v dan 0,5 mL larutan Barium Klorida 1,175% b/v, dicampurkan kedua larutan di atas dalam tabung reaksi dan divortex sampai homogen. Sehingga diperoleh suspensi dengan tingkat kekeruhan yang dikenal dengan kekeruhan Mc. Farland. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji sama dengan kekeruhan suspensi Mc. Farland, maka konsentrasi suspensi bakteri uji adalah 10^8 CFU/mL (Victor, 1980).
4. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji
Bakteri yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 2 mL larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc.Farland (Mplia, 2012)
5. Persiapan Kontrol Negatif
Untuk kontrol negatif terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* digunakan DMSO.
6. Pewarnaan Gram
Bakteri difiksasi di atas preparat object glass dan diwarnai dengan Kristal violet selama 1 menit, lalu dicuci dan dibilas, ditambahkan larutan lugol, didiamkan selama 1 menit lalu dicuci dengan alkohol 96 % selama 15-30 detik dan diwarnai dengan larutan safranin (Marier dkk, 2014).
7. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)
Uji aktivitas antibakteri ekstrak dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (paper disc), uji dilakukan secara triplo. Kertas cakram dicelupkan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan konsentrasi 14%, 16%, dan 18%, kemudian diletakan di atas media MHA yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Inkubasi dilakukan dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram (Waluyo, 2010).
8. Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)
Bakteri yang diencerkan dengan mencampur 1 ose suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl dan telah di

standarisasi sesuai konsentrasi 0,5% Mc Farland. Bakteri tadi di oleskan ke dalam MHA. Buat lubang di media yang telah diinokulasikan bakteri menggunakan boorprof. Kemudian masukan sediaan krim dengan konsentrasi 14%, 16%, dan 18% menggunakan mikropipet ke dalam setiap lubang di media MHA. Diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati dan ukur diameter zona terang (clear zone) yang terbentuk di sekitar lubang dengan jangka sorong (Prayoga, 2013).

Analisa Data.

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap *Staphylococcus aureus* diolah secara statistik dengan ANOVA satu arah menggunakan SPSS 25 dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil yang didapat akan berarti bila perbandingan daya hambat pada setiap formula memberikan perbedaan yang nyata dan bermakna secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Parameter Spesifik Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)

No	Pemeriksaan	Pengamatan
1.	Organoleptis • Bentuk • Warna • Bau	Cairan Kental Kehijauan Khas Jeruk Purut
2.	Kelarutan • Dalam Air • Dalam Etanol 96%	Larut (1:18 mL) Larut (1:8 mL)
3.	Rendemen	16,81 %
4.	pH	4,79

Hasil rendemen pada penelitian ini diperoleh sebesar 16,81%. Dan pH diperoleh sebesar 4,79.

tabel 3. Hasil Pemeriksaan Parameter Nonspesifik Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)

N o	Pemeriksaan	Farmakope Herbal Indonesia edisi II (Kementerian Kesehatan RI, 2017)	Pengamatan ± SD
1.	Susut Penguapan	Tidak lebih dari 10 %	6,64 % ± 0,0041
2.	Kadar Abu	Tidak lebih dari 6,6 %	1,98 % ± 0,0085

Hasil susut pengeringan diperoleh sebesar 6,64% dan hasil kadar abu diperoleh sebesar 1,98%.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan uji fitokimia

N o	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Kesimpulan
1.	Flavonoid	Logam Mg + HCL (P)	Terbentuk Warna Merah	+
2.	Alkaloid	Kloroform Amoniak + H ₂ SO ₄	Terbentuk Kabut Putih	+
3.	Terpenoid	As.asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	Terbentuk Warna merah Keunguan	-
4.	Steroid	As.asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	Terbentuk Warna Hijau	+
5.	Saponin	Lapisan Air Dikocok	Terbentuk Busa	-

Pemeriksaan skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif metabolit sekunder pada kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC). Skrining fitokimia dilakukan terhadap senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid/steroid. Hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan steroid sedangkan pada

pemeriksaan saponin memberikan hasil negatif.

Tabel 5. Hasil Rekapitulasi Hasil Pemeriksaan Sediaan Krim Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)

N o	Evaluasi	Pengamatan				
		F0	F1	F2	F3	P
1.	Organoleptis Bentuk Bau Warna	SP T B P	SP KJ P H M	SP KJ P K	SP KJ P HP	SP A P
2.	Homogenitas	H	H	H	H	H
3.	Uji pH	6,75	6,72	6,65	6,61	5,52
4.	Uji Tipe Krim	M/A	M/A	M/A	M/A	M/A
5.	Uji Daya Tercuci (mL)	22,3	26,1	27,3	29	19,4
6.	Uji Viskositas (centipoise)	4092	4244	4334	4454	3922
7.	Uji Stabilitas Fisika	T M	T M	T M	T M	T M
8.	Aktivitas Antibakteri (mm)	8,20	13,24	14,79	15,89	38,29

Pemeriksaan organoleptis

Penelitian dilakukan dengan mengamati sediaan krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) secara visual meliputi bentuk, warna, dan bau (Solichin, *et al.*, 2014). Hasil pemeriksaan

diperoleh bahwa F0 berbentuk setengah padat, berwarna putih, dan tidak berbau. F1 berbentuk setengah padat, berwarna hijau muda, dan berbau khas jeruk purut. F2 berbentuk setengah padat, berwarna kehijauan, dan berbau khas jeruk purut. F3 berbentuk setengah padat, berwarna hijau pekat, dan berbau khas jeruk purut. Dan krim pembanding berbentuk setengah padat, berwarna putih, dan berbau asam. Terdapat perbedaan konsentrasi ekstrak yang ditambahkan pada F1, F2 dan F3 dimana jumlah ekstrak yang ditambahkan semakin besar sehingga warna sediaan menjadi semakin pekat dan baunya semakin tercium khas jeruk purut. Dari hasil evaluasi organoleptis krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) yang dilakukan selama 6 minggu tidak terjadi perubahan selama penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) stabil selama penyimpanan secara fisika.

Pemeriksaan homogenitas

Sediaan dikatakan homogen bila terdapat persamaan warna dan tidak adanya partikel atau bahan kasar yang dapat diraba (Syamsuni, 2005). Pemeriksaan ini dilakukan setiap minggu selama 6 minggu dan dalam

jangka waktu tersebut krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) tetap menunjukkan susunan yang homogen, hal ini menunjukkan bahwa bahan-bahan dalam krim dapat bercampur sempurna secara homogen. Pemeriksaan homogenitas merupakan salah satu syarat dari sediaan krim yang baik, dimana bahan obat dan basis krim harus mudah larut atau terdispersi dalam air atau pelarut yang cocok sehingga pembagian dosis sesuai dengan tujuan terapi yang diharapkan (Lieberman dkk, 1998).

Pemeriksaan pH

Syarat pada pemeriksaan pH yaitu setiap formula harus sesuai dengan pH kulit agar tidak menimbulkan iritasi dan kerusakan pada kulit ketika proses pemakaian. Perubahan pH kulit menjadi lebih basa atau lebih asam pada saat kontak dengan suatu zat dapat menimbulkan iritasi pada kulit (Wasitaatmadja, 1997). Oleh karena itu dilakukan evaluasi pH krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) yang diamati selama 6 minggu. Hasilnya menunjukkan pH sediaan berubah-ubah setiap minggunya. Hal ini disebabkan oleh faktor lingkungan seperti suhu dan penyimpanan yang kurang baik sehingga mempengaruhi

pH dari setiap sediaan, rata-rata pH sediaan yaitu : F0 = 6,75 pada F1 = 6,72, pada F2 = 6,65, pada F3 = 6,61 dan pH sediaan pembanding = 5,52. Sediaan mengalami penurunan pH setelah ditambahkan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC). Hal ini disebabkan karena ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) mempunyai pH yang asam yaitu 4,79. Dari data yang telah didapatkan bahwa pH masih berada dalam kisaran pH krim yaitu 4 – 7,5. Sediaan krim memenuhi persyaratan pH kulit menurut SNI 16-4399-1996 dalam (Astikah, 2015)

Pemeriksaan Tipe Krim

Pemeriksaan Tipe krim bertujuan untuk melihat apakah sediaan krim antibakteri termasuk kedalam tipe krim M/A atau A/M. Didapatkan hasil sediaan krim antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) merupakan tipe krim M/A, dimana metilen blue tersebar merata.

Pemeriksaan daya tercuci

Pemeriksaan daya tercuci krim antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) bertujuan untuk melihat apakah krim mudah dicuci setelah pemakaian, mengingat kelebihan dari krim yaitu mudah dicuci. Semakin dikit air yang

digunakan maka daya tercuci krimnya semakin baik (Amaliah, 2016). Dari hasil yang didapatkan bahwa nilai rata-rata daya tercuci pada setiap formula yaitu F0 sebanyak 22,3 mL, F1 sebanyak 26,1 mL, F2 sebanyak 27,3 mL, F3 sebanyak 29 mL, dan Pembanding sebanyak 19,4 mL. Dari semua Formula F3 yang paling lama tercuci, dikarenakan ekstrak yang terkandung didalam sediaan lebih banyak. Kemampuan daya tercuci krim dapat dipengaruhi oleh sifat fisika dan kimia zat berkhasiat, macam dan sifat dasar krim sebagai pembawa, daerah pemakaian, sifat kondisi kulit si pemakai (Jellinek, 1970).

Pemeriksaan Viskositas

Pemeriksaan viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Stormer. Persyaratan viskositas yang baik pada sediaan semisolid adalah sebesar 4000-40.000 cP (Wasitaatmadja, 1997). Hasil perhitungan viskositas menunjukkan bahwa nilai rata-rata viskositas formula krim antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) pada F0=4092 cP, F1= 4244 cP, F2= 4334 cP, F3=4454 cP, dan Pembanding = 3922. Dari hasil pemeriksaan viskositas krim antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC)

semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan semakin kental viskositas sediaan yang didapatkan.

Pemeriksaan kestabilan

Pemeriksaan kestabilan sediaan krim antibakteri ekstrak kulit jeruk (*Citrus hystrix* DC) dilakukan untuk melihat kestabilan dari sediaan setelah disimpan dalam dua suhu yang berbeda yaitu pada suhu ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam dilakukan sebanyak 6 siklus. Hasil pemeriksaan (Tabel 21-22) menunjukkan bahwa sediaan stabil selama penyimpanan dimana tidak ada nya pemisahan serta tidak terjadi perubahan fisik sampai siklus ke-6 sehingga dapat disimpulkan bahwa sediaan krim antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) stabil dalam waktu penyimpanan.

Setelah dilakukan evaluasi terhadap krim antibakteri, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk purut dan sediaan krim antibakteri.

uji aktivitas bakteri

Pada uji aktivitas bakteri bertujuan untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak

kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap *Staphylococcus aureus* dilakukan menggunakan metode kertas cakram. Metode ini dipilih karena pengerjaannya sederhana, mudah dan dapat dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*). *Clear zone* tersebut merupakan petunjuk adanya respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Hermawan *et al.*, 2007).

Aktivitas ekstrak kulit jeruk purut sebagai antibakteri menggunakan kertas cakram sebagai media perlekatan ekstrak kulit jeruk purut, diameter kertas cakram 7 mm. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang telah dicelupkan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan konsentrasi 14%, 16%, 18%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin luas diameter zona hambat yang dihasilkan, sebagai kontrol negatif digunakan DMSO (Dimetilsulfoksida). Menurut (Natheer *et al.*, 2012) menyebutkan bahwa zat yang digunakan sebagai kontrol negatif adalah pelarut yang digunakan sebagai pengencer dari senyawa yang akan diuji.

Kertas cakram yang telah dicelupkan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) diletakkan di atas permukaan media MHA yang dihomogenkan dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah memadat. Selanjutnya media tersebut diinkubasi dalam incubator selama 24 jam pada suhu 37°C dengan posisi cawan petri terbalik. Diameter zona hambat antibakteri pada ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan konsentrasi 14% sebesar $10,68 \pm 0,3218$; 16% sebesar $11,85 \pm 0,2538$; dan pada 18% sebesar $12,92 \pm 0,5653$. Adanya area bening yang memberikan diameter daya hambat menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk purut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pada kontrol negatif menggunakan DMSO (Dimetilsulfoksida) menunjukkan tidak ada zona bening di sekitar kertas cakram yang berarti bahwa DMSO tidak mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dilakukan sebagai uji perbandingan antara ekstrak dan sediaannya. Uji ini dilakukan

bertujuan untuk melihat bagaimana hasil daya hambat sebelum dilakukan formulasi dalam sediaan krim. Pengujian aktivitas antibakteri sediaan krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) menggunakan metode difusi sumuran. Pada aktivitas antibakteri menunjukkan semakin tinggi konsentrasi pada setiap formula maka semakin tinggi juga diameter zona hambat yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan pada sediaan krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter hambat F0 sebesar $8,20 \pm 0,28$ F1 sebesar $13,24 \pm 0,8947$; F2 sebesar $14,79 \pm 0,2730$; dan pada F3 sebesar $15,89 \pm 0,3421$. Sebagai kontrol positif digunakan krim pembanding, pada krim pembanding sebesar $38,29 \pm 0,1700$. Pada F0 tidak ditambahkan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC), namun juga memberikan respon daya hambat. Hal ini disebabkan karena pengawet yang ditambahkan yaitu metil paraben dan propil paraben yang juga bersifat sebagai antimikroba.

Analisis uji aktivitas antibakteri pada setiap formulasi dan ekstrak kulit

jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) diuji dengan statistik ANOVA satu arah menggunakan SPSS 25 didapatkan nilai signifikan nilainya $<0,05$, maka dilanjutkan dengan uji Duncan sehingga terlihat pada ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan konsentrasi 14%, 16%, 18% dan kontrol (-) didapatkan hasil bahwa adanya perbedaan nyata. Pada formula krim terlihat pada Formula F0 – Formula F3 dan pembanding (kontrol +) didapatkan hasil bahwa adanya perbedaan nyata. Hasil ANOVA menunjukkan perbedaan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap krim antibakteri menyebabkan perbedaan nyata daya hambat yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan konsentrasi 14%, 16% dan 18% dapat diformulasi dalam bentuk sediaan krim sebagai antibakteri.
2. Uji aktivitas antibakteri krim ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan konsentrasi 14%, 16% dan 18% didapatkan rata-rata diamteter daya hambat F0

sebesar $8,20 \pm 0,2802$; F1 sebesar $13,24 \pm 0,8947$; F2 sebesar $14,79 \pm 0,2730$; F3 sebesar $15,89 \pm 0,3421$; dan krim pembanding sebesar $38,29 \pm 0,1700$. Data tersebut diuji dengan statistik ANOVA satu arah didapatkan nilai signifikan $<0,05$. Maka data yang diperoleh bahwa adanya perbedaan nyata antara F0-F3 dan krim pembanding.

SARAN

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap bakteri patogen lainnya yang ada pada kulit dan juga disarankan untuk memformulasikan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dalam bentuk sediaan farmasi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, H. C. 2011. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Ed IV*. Alih bahasa Ibrahim, F. Jakarta : UI Press.
- Amaliah., H. 2016. *Formulasi dan Evaluasi Sediaan Krim Ekstrak Daun Bandotan (Ageratum Conyzoides Linn)*. Akademi Farmasi ISFI : Banjarmasin.
- Astikah, R. 2015. *Optimasi Formula Krim Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis*. UMS : Surakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1980. *Materia Medika*

- Ed IV. Jakarta : Departemen Kesehatan RI
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Farmakope Indonesia Edisi V*, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djamal, R. 2010. *Kimia Bahan Alam : Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Padang: Universitas Baiturrahmah.
- Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K., Höök, M. 2014. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Microbiology*, 12 (1), 49-62.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tetumbuhan*. Bandung : ITB.
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Skripsi. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Jellinek, JS. 1970. *Formularium dan Function of Cosmetic*. London : Wiley Interscience New York.
- Lachman, L., & Lieberman, H. A.1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Edisi Kedua, 1091-1098. Jakarta : UI Press.
- Lay,B.W. 1994 . *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Jakarta : Raja Grafindo Persada. J
- Marier, L. M., Siders, J. A dan Allen, S. D. 2014. *Atlas Pewarnaan Gram*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Miller, L.G., Eells, S.J., Taylor, A.R., David, M.Z., Ortiz, N., Zychowski, D., Kumar, N., Cruz, D.,Boyle-Vavra, S., dan Daum, R.S. 2012. *Staphylococcus aureus* colonization among household contacts of patients with skin infections: risk factors, strain discordance, and complex ecology. *Clinical Infectious Diseases*, 54 (11), 1523-1558.
- Mpila. D. A., Fatimawali, Wiyono, W. I. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (Coleus atropurpureus (L) Benth. Terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli Dan Pseudomonas aeruginosa Secara In-Vitro*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Manado : UNSRAT.
- Natheer., S.E. et al., 2012. "Evaluation of Antibacterial Activity of *Morindacitrifolia*, *Vilextrifolia*,

- and Chromolaena odorata,” *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 6, no. 11, pp. 783- 788
- Nurul,S.M., Paulina.V.YY.,Gayatri.C. 2019. *Formulasi dan Uji Efektivitas Krim Antibakteri Ekstrak Daun Nangka (Artocarpus heterophyllus Lam) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Manado : Universitas Sam Ratulangi.
- Pine, A.T., Alam, G., dan Attamim, F., 2011. *Standardisasi mutu ekstrak daun gedi(Abelmoschus manihot (L.) Medik) dan uji efek antioksidan dengan metode DPPH*. Tesis, Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makasar.
- Prayoga, E. 2013. *Perbandingan efek ekstrak daun sirih hijau (Piper betle L.) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus*. Laporan Penelitian. Jakarta : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Rahmi U, Yunazar M., dan Adlis S. 2013. *Profil Fitokimia Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Jeruk Purut (Citrus histrix DC) dan Jeruk Bali (Citrus maxima (Burm.f.) Merr)*. *Jurnal Kimia Unand* (ISSN No. 2303-3401), hal : 109-114.
- Ramadanti, I. 2008. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum Linn) terhadap Bakteri Escherichia coli in vitro*. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro.
- Rieger, M. 2000. 10. *Harry's Cosmeticology (8 Edition)*. New York: Chemical Publishing Co Inc.
- Sulaiman, T.N. 2008. *Teknologi dan Formulasi Sediaan Semi Padat*. Yogyakarta: UGM Press
- Syamsuni. 2012 . *Farmasetika Dasar Dan Hitungan Farmasi*. Jakarta : Buku Kedokteran EGC
- Victor, L. 1980. *Antibiotics in Laboratory Test*. USA: The Williams and Wilkins Company. Hal 125.
- Waluyo, L. 2010. *Teknik dan Metode dasar dalam mikrobiologi*. Malang : UMM Press.
- Wasitaatmadja.1997. *Penuntun Kosmetik Medik*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., Ren, L. 2015. Antibacterial Activities of Flavonoids: structureactivity relationship and mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22 (1), 132-181.
- Zhang, L.J., Guerrero-Juarez, C.F., Hata, T.,Bapat, S.P., Ramos, R., Plikus, M.V., Gallo,R.L., 2015. *Dermal adipocytes protect against invasive Staphylococcus aureus skin infection*. *Science*, 347 (6217), 67-71.

