

**EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIBAKTERI DAUN  
JERUK KINGKIT (*Triphasia trifolia*) TERHADAP *Vibrio sp.***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Yosua Musada Sagala  
2014051022**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIBAKTERI DAUN JERUK KINGKIT (*Triphasia trifolia*) TERHADAP *Vibrio sp.*

OLEH

YOSUA MUSADA SAGALA

Kingkit orange (*Triphasia trifolia*) is one of several types of plants popular among many people as traditional medicine. The kingkit orange, particularly its leaves, is known to have various uses, one of which is as an antibacterial agent. The most common bacteria found in marine waters is *Vibrio sp.* This study aims to identify the antibacterial compounds in the ethanol extract of kingkit orange leaves and to determine the inhibitory effect of the ethanol extract on *Vibrio sp.* The research was conducted with three repetitions and five different concentration levels: D1 (5%), D2 (10%), D3 (15%), D4 (20%), and D5 (25%). The observational data were analyzed using a Completely Randomized Design (CRD) analysis of variance, followed by the Least Significant Difference (LSD) test at a 5% significance level. Phytochemical screening analysis showed that the ethanol extract of kingkit orange leaves contained antibacterial compounds such as steroids, tannins, alkaloids, flavonoids, and phenolics. UV-Vis spectrophotometry analysis indicated that the ethanol extract of kingkit orange leaves had absorption at wavelengths of 202 nm, 211 nm, 228 nm, 253 nm, 270 nm, and 323 nm. FTIR analysis showed that the ethanol extract of kingkit orange leaves contained seven functional groups: O-H, C-H alkanes, -C≡N, C=O, C=C, C-O esters, C-O ethers, and C-H alkenes. The inhibitory test also demonstrated that the ethanol extract of kingkit orange leaves could inhibit the growth of *Vibrio sp.*, with inhibition zone diameters formed at each concentration of D1 (5%), D2 (10%), D3 (15%), D4 (20%), and D5 (25%) being 7.280 mm, 7.640 mm, 7.713 mm, 8.027 mm, and 8.070 mm, respectively.

Keywords :*inhibitory, kingkit, leaf extract, Vibrio sp.*

## ABSTRAK

### EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIBAKTERI DAUN JERUK KINGKIT (*Triphasia trifolia*) TERHADAP *Vibrio sp.*

OLEH

YOSUA MUSADA SAGALA

Jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) adalah satu dari sejumlah jenis tumbuhan yang populer di banyak kalangan sebagai obat tradisional. Jeruk kingkit terutama bagian daun diketahui memiliki beragam kegunaan, satu diantaranya ialah bisa dimanfaatkan sebagai antibakteri. Bakteri yang paling umum ditemukan disekitaran perairan laut adalah bakteri *vibrio sp.* Penelitian ini memiliki tujuan guna mengetahui senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak etanol daun jeruk kingkit dan mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun jeruk kingkit terhadap *vibrio sp.* Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan dan lima taraf konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi yang digunakan yaitu konsentrasi D1(5%), D2(10%), D3(15%), D4(20%), dan D5(25%). Data hasil pengamatan dianalisis dengan analisis sidik ragam RAL dan dilakukan uji lanjut menggunakan uji BNT pada taraf nyata 5%. Hasil analisis skiring fitokimia menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol daun jeruk kingkit terdapat senyawa antibakteri berupa steroid, tanin, alkaloid, flavonoid dan fenolik. Hasil analisis spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk kingkit berada pada panjang gelombang panjang gelombang 202 nm, 211 nm, 228 nm, 253 nm, 270 nm, dan 323 nm. Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol daun jeruk kingkit terdapat 7 gugus fungsi yaitu; gugus fungsi O-H, C-H Alkana,  $-C\equiv N$ , C=O, C=C, C-O ester, C-O eter, dan C-H Alkena. Uji daya hambat juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk kingkit dapat menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio sp.* dengan diameter daerah daya hambat yang terbentuk pada masing masing konsentrasi D1(5%), D2(10%), D3(15%), D4(20%) dan D5(25%) sebesar 7,280 mm, 7,640 mm, 7,713 mm, 8,027 mm, dan 8,070 mm.

Kata Kunci: *Daya Hambat, Kingkit, Ekstrak Daun, Vibrio sp.*

**EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIBAKTERI DAUN  
JERUK KINGKIT (*Triphasia trifolia*) TERHADAP *Vibrio sp.***

Oleh

Yosua Musada Sagala

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar  
SARJANA TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

Pada

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024

Judul Skripsi

**:EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS  
SENYAWA ANTIBAKTERI DAUN  
JERUK KINGKIT (*Triphasia trifolia*)  
TERHADAP *Vibrio sp.***

Nama Mahasiswa

**: Yôsua Musada Sagala**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2014051022

Program Studi

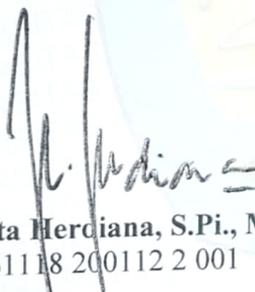
: Teknologi Hasil Pertanian

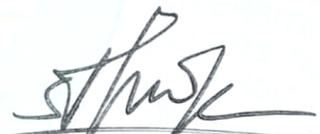
Fakultas

: Pertanian

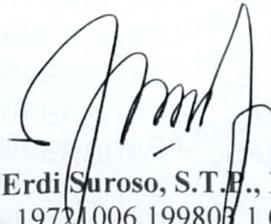
**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

  
**Dr. Novita Herdiana, S.Pi., M.Si.**  
NIP.19761118 200112 2 001

  
**Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si.**  
NIP. 19690225 199403 1 002

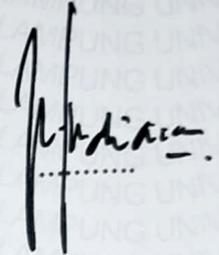
**2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian**

  
**Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.**  
NIP. 19721006 199803 1 005

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

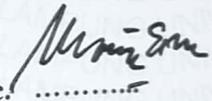
Ketua : Dr. Novita Herdiana, S.Pi., M.Si.



Sekretaris : Dr. Ir Samsul Rizal M.Si.



Penguji  
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Pertanian



**Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.**  
NIP. 19641118-198902 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 13 Juni 2024

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Yosua Musada Sagala NPM 2014051022

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil dari plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabiladikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 13 Juni 2024  
Yang membuat pernyataan



Yosua Musada Sagala  
NPM. 20114051022

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Huta Buntul, tanggal 26 April 2002 sebagai anak bungsu dari empat bersaudara dari pasangan Bapak A. Sagala dan Ibu D. Simamora. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD 037146 Lae Hole pada tahun 2014, Sekolah Menengah Pertama di SMPN 1 Parbuluan pada tahun 2017, dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 1 Parbuluan pada tahun 2020. Pada tahun 2020, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Penulis mengikuti pembelajaran secara online dari semester 1–3 yang disebabkan oleh pandemi covid-19 dan pembelajaran secara hybrid (offline-online) pada semester 4–5 dan secara offline pada semester 6 - 8.

Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Januari–Februari 2023 di Desa Tanjung Raya, Kecamatan Sukau, Kabupaten Lampung Barat. Penulis juga telah melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Phillips Seafood Indonesia pada bulan Juli–Agustus 2023 dengan judul “Mempelajari Proses Pengemasan Pada Produksi *Crab Cake Mini* Di PT. Phillips Seafood Indonesia”. Selama menjalani kehidupan sebagai mahasiswa, penulis mengikuti beberapa organisasi yaitu Anggota HMJ THP FP UNILA, Anggota IMADALA (Ikatan Mahasiswa Dairi Lampung), Anggota Pomperta (Persekutuan Oikumene Mahasiswa Kristen Pertanian Unila). Motto hidup penulis adalah “Saat yang paling indah dari sebuah kapal adalah ketika ditambatkan di dermaga. Dia cantik sekali bermandikan cahaya, tapi jangan pernah lupa, kapal tidak pernah dibuat untuk ditambatkan di dermaga. Kapal dibuat untuk menghajar gelombang, membelah lautan.”(*Benazir Buto*).

## SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “*Ekstraksi dan Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Daun Jeruk Kingkit (Triphasia Trifolia) Terhadap Vibrio sp.*” Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini telah mendapat begitu banyak arahan, bimbingan dan nasihat baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Novita Herdiana, S.Pi., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Pertama yang telah memberikan kesempatan, bimbingan, izin penelitian, saran, nasihat, dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
4. Bapak Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Kedua, yang telah memberikan banyak bimbingan, arahan, masukan, saran, nasihat, dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
5. Ibu Prof Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati M.Sc., selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan arahan, nasihat, saran serta masukan terhadap skripsi penulis.
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staf dan karyawan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, atas ilmu, kebaikan, dan pengalaman yang diberikan selama menjalani perkuliahan dan membantu penulis dalam menyelesaikan administrasi akademik.

7. Kedua orang tua penulis, Bapak A. Sagala dan Ibu D. Simamora, serta ketiga saudara saya Rollis Sagala, Aris Sagala, Yury Sagala dan seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan dan motivasi serta selalu menyertai penulis dalam doanya untuk melaksanakan dan menyelesaikan skripsi.
8. Teman-teman bimbingan akademik dan Tim Kingkit (Agnya, Arini, Ayu, Dekatina dan Retha) yang menjadi sahabat dan tim kerja yang selalu memberikan bantuan dan dukungan serta motivasi kepada penulis selama penyusunan skripsi.
9. Sahabat-sahabatku dalam grup PB Indonesia Maju yang selalu berbagi cerita seperti keluarga, selalu bersama saat suka maupun duka, selalu mendukung, mendoakan, dan memberi semangat, serta tempat penulis berkeluh kesah.
10. Teman-teman seperjuangan Coky Habeahan, Rafael Pandiangan, Ronang Rumapea, Derby Kaloko, Yuda Manik selaku keluarga dan teman penulis selama berkuliah di tanah perantauan ini.
11. Teman-teman di Pomperta dan juga Imadala yang menjadi rumah baru sekaligus rumah kedua penulis dalam menjalankan kehidupan sebagai mahasiswa.
12. Teman – teman Jurusan Teknologi Hasil Pertanian angkatan 2020, yang selalu saling mengingatkan, membantu, dan memberikan semangat dalam melaksanakan dan menyelesaikan perkuliahan. Terima kasih atas perjalanan dan kebersamaan sertaseluruh cerita suka maupun dukanya selama ini.

Penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas kebaikan yang telah kalian berikan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi penulis dan banyak pihak.

Bandar Lampung, 13 Juni 2024  
Penulis,

**Yosua Musada Sagala**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan .....	3
1.3 Kerangka Pemikiran.....	3
1.4 Hipotesis .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Vibrio sp.....	5
2.2 Maserasi .....	7
2.3 Pelarut Etanol.....	7
2.4 Antibakteri .....	8
2.5 Metode Pengujian Daya Antibakteri.....	9
2.6 Jeruk Kingkit.....	10
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>13</b>
3.1 Tempat dan Waktu .....	13
3.2 Bahan dan Alat.....	13
3.3 Metode Penelitian .....	13
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	14
3.4.1 Preparasi Sampel dan Pembuatan Ekstrak.....	14
3.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	16
3.5 Pengamatan .....	18
3.5.1 Skrining Fitokimia .....	18
3.5.3 Analisis FTIR.....	20
3.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri .....	20

<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1 Hasil Skrining Fitokimia.....	23
4.2 Analisis spektrofotometer UV-Vis .....	25
4.3 Analisis FTIR.....	26
4.4 Aktivitas Antibakteri.....	27
4.4.1 Zona Bening Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kingkit .....	27
4.4.2 Daya Hambat Ekstrak Daun Jeruk Kingkit.....	28
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>33</b>
5.1 Kesimpulan .....	33
5.2 Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>40</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Formulasi sediaan ekstrak etanol daun jeruk kingkit (5mL).....	21
2. Hasil uji skrining fitokimia .....	23
3. Bilangan Gelombang gugus fungsi ekstrak etanol daun jeruk kingkit. ....	26
4. Diameter zona daya hambat ekstrak etanol daun jeruk kingkit terhadap vibrio sp.....	29
5. Data diameter daya hambat ekstrak daun jeruk kingkit.....	41
6. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (Barlett's test) ekstrak etanol daun jeruk kingkit.....	41
7. Analisis Ragam Diameter Daerah Hambat Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kingkit.....	42
8. Uji BNT diameter daerah hambat ekstrak etanol daun jeruk kingkit taraf 5% .....	42
9. Hasil analisis skrining fitokimia .....	43

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Koloni bakteri vibrio sp. ....	5
2. Jeruk Kingkit.....	11
3. Diagram alir pembuatan ekstrak daun jeruk kingkit.....	15
4. Diagram alir peremajaan bakteri uji.....	16
5. Diagram alir suspensi bakteri uji .....	17
6. Diagram alir suspensi bakteri uji .....	22
7. Spektrofotometri UV-Vis ekstrak etanol daun jeruk kingkit.....	25
8. Spektrofotometri FTIR ekstrak etanol daun jeruk kingkit. ....	26
9. Zona bening ekstrak etanol daun jeruk kingkit terhadap vibrio sp.....	28
10. Daun jeruk kingkit .....	44
11. Pengeringan daun jeruk kingkit .....	44
12. Penghalusan sampel .....	44
13. Pencampuran simplisa dengan pelarut.....	45
14. Pemaserasian.....	45
15. Penyaringan ekstrak .....	45
16. Pemekatan ekstrak.....	46
17. Ekstrak pekat daun jeruk kingkit .....	46
18. Pengenceran ekstrak.....	46

19. Peremajaan bakteri vibrio sp.....	47
20. Pembuatan suspensi bakteri uji.....	47
21. Penempelan kertas cakram.....	47
22. Penginkubasian (T: 36°C; t: 24 jam).....	48
23. Pengukuran zona bening.....	48
24. Daya hambat ekstrak etanol daun jeruk kingkit.....	48

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) merupakan satu dari sejumlah jenis tumbuhan semak berbatang yang tingginya di bawah lima sentimeter, berbentuk silindris, vertikal, dan memiliki duri di permukaannya. Daunnya berbentuk majemuk dan buahnya berbentuk bulat dengan kulit merah yang halus dan tipis (Zufahmi & Nurlaila, 2018). Tanaman ini dikenal memiliki manfaat sebagai obat tradisional untuk batuk dan diare. Selain itu, jeruk kingkit juga sering digunakan dalam perawatan kecantikan, seperti merawat kuku, serta berfungsi sebagai tanaman hias (Widayanti & Laksmi, 2020).

Selain sebagai tanaman hias jeruk kingkit adalah satu dari beberapa golongan tanaman yang memiliki beragam kegunaan, satu diantaranya ialah sebagai antibakteri. Sebagaimana dalam penelitian Theanphong and Mingvanish (2018), diketahui bahwa di dalam ekstrak batang dan daun jeruk kingkit terkandung metabolit sekunder yang mampu digunakan sebagai antibakteri alami. Pada studi tersebut juga diketahui bahwa ekstrak daun dan batang jeruk kingkit mempunyai aktivitas antibakteri yang tinggi akan bakteri *M. luteus*. Pada percobaan lain oleh Hardisto dan Tjandra (2019) disebutkan bahwa minyak atsiri daun jeruk kingkit mempunyai kemampuan daya hambat akan bakteri *Eshercia coli*.

Berbeda habitat dengan bakteri *Eshercia coli* bakteri *Vibrio sp* adalah bakteri patogen yang umumnya ditemukan di perariran laut. Menurut Hatha *et all*, (2023) *Vibrio sp*.

adalah bakteri yang lebih tahan suhu ekstrim dibandingkan bakteri *E. coli*, dan mampu berkembang optimal pada temperatur yang lebih tinggi. *Vibrio sp.* juga mampu bertahan pada pH yang lebih rendah dibandingkan *E. coli*, dan dapat menyebabkan gejala yang lebih parah, seperti infeksi luka dan septicemia. Golongan bakteri *Vibrio sp.* yang kerap menjangkit manusia yaitu, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio cholera* yang menimbulkan gangguan kesehatan berupa vibriosis (Ihsan, 2021). Oleh karena itu infeksi bakteri patogen *vibrio sp.* harus ditangani dengan tepat, satu cara yang paling umum diterapkan adalah dengan penggunaan antibiotik.

Antibiotik merupakan jenis senyawa sintesis atau natural yang berhasil menghambat atau menahan reaksi biokimia akan suatu makhluk hidup, terutama dalam tahap penginfeksi oleh bakteri (Anggraini *et al.*, 2020). Namun pemanfaatan antibiotik yang tak akurat dan secara berkelanjutan akan menyebabkan masalah kesehatan. Dalam PERMENKES RI No.2406/MENKES/PER/XII/2011 terkait pedoman umum penggunaan antibiotik disebutkan bahwa tingkat frekuensi pemakaian antibiotik yang cenderung tinggi menyebabkan beragam komplikasi kesehatan terlebih kekebalan bakteri akan antibiotik (Nufus *et al.*, 2019). Oleh karena itu dibutuhkan alternatif untuk mengurangi penggunaan antibiotik dalam menangani infeksi bakteri *Vibrio sp.* ini. Suatu alternatif yang mampu dimanfaatkan guna mencegah bakteri *vibrio sp.* yaitu dengan memanfaatkan metabolit sekunder yang terkandung dalam konsentrat etanol daun jeruk kingkit.

Pemilihan pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi tentunya mempengaruhi kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan. Seperti dalam penelitian Buhian (2016) dijelaskan bahwa variasi kepolaran pelarut akan mempengaruhi jumlah ekstrak serta komposisi fitokimia yang dihasilkan. Penggunaan pelarut etanol pada proses ekstraksi dapat menjadi pilihan yang optimal, hal tersebut disebabkan karena pelarut etanol memiliki kemampuan absorpsi yang efektif dan daya ekstraksi yang maksimal sehingga mampu memfiltrasi senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar (Wendersteyt *et al.*, 2021).

## 1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak etanol daun jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*).
2. Mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) sebagai antibakteri alami dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio sp.*

## 1.3 Kerangka Pemikiran

Etanol adalah pelarut polar yang sangat efektif untuk mengekstraksi senyawa antibakteri yang terdapat pada daun jeruk kingkit. Hal ini dikarenakan pelarut etanol memiliki sifat-sifat yang ideal untuk proses ekstraksi. Etanol memiliki daya larut yang tinggi terhadap senyawa polar, sehingga senyawa aktif yang terkandung di dalam daun jeruk kingkit dapat larut sempurna dan diperoleh ekstrak yang pekat. Pada penelitian kurniawati, dkk., (2016) juga menyatakan bahwa pelarut etanol adalah pelarut paling baik selama tahap pengambilan sari pada teknik maserasi. Selanjutnya, etanol juga memiliki harga yang relatif murah, mudah didapat, sehingga memungkinkan proses ekstraksi yang lebih efektif.

Daun jeruk kingkit adalah bahan alami yang bisa digunakan sebagai antibiotik alami dalam pencegahan pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* Seperti yang dinyatakan oleh Theanpong and Mingvanish (2018) bahwa kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan triterpenoid pada daun jeruk kingkit mempunyai aktivitas antibakteri. Penemuan ini sesuai dengan hasil studi oleh Maharani (2012) yang menyebutkan bahwa senyawa seperti flavonoid mampu menekan perkembangan bakteri melalui penguraian protein membran sel bakteri dan untuk senyawa alkaloid serta tanin dapat mencegah pertumbuhan bakteri melalui penghambatan pembentukan dinding sel.

Berlandaskan penelitian terdahulu juga diketahui bahwa daun jeruk kingkit mempunyai aktivitas antibakteri. Dalam penelitian Hardisto dan Tjandra (2019), dijelaskan bahwa minyak atsiri pada jeruk kingkit memiliki daya hambat yang kuat akan bakteri *Eschericia coli*. Berdasarkan berbagai studi yang telah dilaksanakan mengenai uji aktivitas antibakteri jeruk kingkit, masih sedikit ditemukan penelitian mengenai jeruk kingkit sebagai antibakteri terhadap *Vibrio sp*. Dengan demikian, penelitian ini penting dilakukan guna mengetahui manfaat ekstrak daun jeruk kingkit sebagai antibakteri alami yang mampu mencegah pertumbuhan *Vibrio sp*.

#### **1.4 Hipotesis**

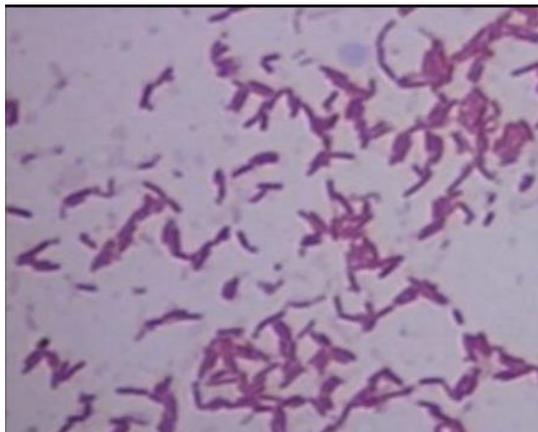
Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat senyawa antibakteri pada ekstrak etanol daun jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*).
2. Ekstrak etanol daun jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) memiliki daya hambat sebagai antibakteri alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio sp*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Vibrio sp.*

*Vibrio* adalah genus bakteri gram negatif yang memiliki bentuk menyerupai batang pendek dan berkelok seperti koma, dengan ukuran panjang antara 1,4 hingga 5,0  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,3 hingga 1,3  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini mampu bergerak (motil), memiliki flagel polar, dan biasanya dijumpai di air laut. *Vibrio* adalah bakteri anaerob fakultatif, yang berarti mampu bertahan dengan adanya oksigen maupun tidak ada oksigen (Hidayat, 2014). Seluruh bakteri dalam genus ini bergerak aktif dengan flagel yang terletak di penghujung sel dan dilapisi oleh selaput. Sejumlah spesies dari *Vibrio sp.* mampu menyebabkan penyakit (patogenik) dan kerap menimbulkan gastroenteritis (Soedarto, 2015). Bakteri *Vibrio sp.* umumnya tumbuh optimal pada pH 7,0 - 7,5 dan temperatur 37°C (Supardi & Sukanto, 1999). Koloni bakteri *Vibrio sp.* dapat diamati pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni bakteri *vibrio sp.*  
Sumber: Farisi *et al.*, 2021

Berdasarkan Jawetz 2007 klasifikasi *vibrio sp.* adalah sebagai berikut:

*Kingdom* : *Bacteria*

*Phylum* : *Proteobacteria*

*Class* : *Gammaproteobacteria*

*Ordo* : *Vibrionales*

*Family* : *Vibrionaceae*

*Genus* : *Vibrio*

*Species* : *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibriovulnificus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio damsela*, *Vibrio anginolyticus*, *Vibrio metschnikovii*

Bakteri *Vibrio sp.* bisa dijumpai pada laut dan perairan dangkal. Jenis bakteri ini adalah jenis mayoritas yang terdapat pada muka air di penjuru dunia (Jawetz, 2012). Spesies bakteri *Vibrio* yang sering menginfeksi manusia dan bersifat patogenik adalah *Vibrio cholerae* dan *Vibrio parahaemolyticus* (Soedarto, 2015). Gejala infeksi dari bakteri ini termasuk nyeri perut, diare hingga disentri, mual, muntah, demam, kehausan, sakit kepala, dan kekurangan cairan. Masa inkubasi untuk *Vibrio cholerae* adalah satu hingga tiga hari, sedangkan untuk *Vibrio parahaemolyticus* adalah dua jam hingga dua hari (Rahayu, 2011).

Bakteri dapat dibagi ke dalam 2 golongan yaitu bakteri gram negatif dan positif. Bakteri gram positif akan berubah warna menjadi violet pada saat pewarnaan karena kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap bertahan walaupun dibilas menggunakan alkohol. Sementara itu, pada bakteri gram negatif kompleks zat warna kristal violet-yodium tersebut larut dengan alkohol dan mengambil warna merah dari safranin. Kontras warna tersebut mengindikasikan variasi dalam struktur dinding sel dua tipe mikroba tersebut. Bakteri gram positif dinding selnya cenderung mengandung peptidoglikan, sementara bakteri gram negatif mayoritas penyusun dinding selnya adalah lipid (Nurhayati, dkk., 2015).

## 2.2 Maserasi

Maserasi merupakan teknik pengambilan ekstrak mencelupkan bahan dalam solvent selama waktu tertentu yang disesuaikan dengan senyawa aktif yang ingin dicuplik, biasanya memanfaatkan suhu tinggi dalam intensitas rendah atau hanya dengan suhu ruang. Ekstraksi dipengaruhi sejumlah faktor yang meliputi waktu, temperatur, tipe solvent, rasio bahan terhadap solvent, dan ukuran partikel (Chairunnisa *et al.*, 2019). Pengambilan ekstrak dengan metode maserasi memiliki keuntungan yaitu zat aktif yang diambil tetap terjaga tanpa mengalami kerusakan (Pratiwi, 2010). Selama direndam, disimilaritas tekanan antara bagian luar dan dalam sel menyebabkan dinding dan membran sel lisis. Akibatnya, metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan dilepaskan dan berbau dengan solvent organik yang dipakai (Novitasari & Putri, 2016).

Maserasi merupakan teknik ekstraksi di mana sampel atau bahan tumbuhan dicelupkan selama waktu tertentu dalam pelarut organik pada suhu kamar. Metode ini bermanfaat untuk isolasi bahan alam yang sensitif terhadap panas. Pada dasarnya, ekstraksi dalam maserasi berkaitan dengan pecahnya dinding dan membran sel karena terdapat kesenjangan supresi bagian internal dan eksternal sel. Hal ini mengakibatkan metabolit sekunder dalam sitoplasma terlarut dalam pelarut organik yang dipakai. Penentuan solvent sangat penting guna meningkatkan efektivitas ekstraksi, dengan mempertimbangkan kelarutan senyawa aktif yang dikandung bahan alam. Umumnya, teknik maserasi memanfaatkan etanol dan metanol sebagai pelarut karena memiliki persebaran polaritas yang optimal (Handoyo, 2020).

## 2.3 Pelarut Etanol

Etanol ( $C_2H_5OH$ ), yang juga dikenal sebagai alkohol absolut, etil alkohol, alkohol murni, dan molhidroksietana adalah partikel dengan polaritas tinggi karena mengandung gugus hidroksil (OH) yang memiliki keelektronegatifan oksigen yang

besar. Ini mengakibatkan etanol dapat membentuk ikatan hidrogen dengan molekul lain, memungkinkan interaksi dengan molekul polar dan ion. Etanol mampu berinteraksi dengan molekul non-polar karena gugus etil (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) di dalamnya memiliki sifat non-polar. Dalam banyak bidang, etanol menjadi pelarut terpenting kedua setelah air. Etanol adalah alkohol paling non-toksik (kecuali dalam jumlah besar) dan dimanfaatkan luas sebagai antiseptik, solvent, pemberi rasa (seperti dalam ekstrak vanilla), pewarna makanan, serta unsur dalam industri kosmetik (parfum) dan farmasi (Caesaria, 2018).

Etanol adalah pelarut serbaguna karena mampu bercampur dengan air dan mayoritas bahan organik cair, tak terkecuali zat cair non-polar seperti hidrokarbon alifatik. Sifat etanol yang memungkinkan ekstraksi senyawa-senyawa tersebut membuatnya efektif melarutkan berbagai senyawa (Aziz *et al.*, 2009). Etanol adalah solvent universal, memiliki sifat polar, dan mudah diperoleh. Etanol 96% memiliki sifat eklektik, non-toksik, dengan absorpsi optimal dan daya ekstraksi yang efektif, sehingga mampu mengekstraksi senyawa non-polar, semi-polar, dan polar. Etanol 96% sebagai pelarut lebih efektif masuk kedalam dinding sel sampel daripada etanol dengan kepekatan yang lebih rendah, sehingga ekstrak yang dihasilkan kian pekat (Wendersteyt *et al.*, 2021).

#### **2.4 Antibakteri**

Antibakteri mengacu pada kandungan yang mempunyai kapasitas untuk menekan perkembangan bakteri serta membasmi bakteri penyebab penyakit (Paju *et al.*, 2013). Berdasarkan tingkat keberacunannya, antibakteri bisa memiliki efek bakterisidal (membasmi bakteri) atau bakteriostatik (menekan perkembangan bakteri). Antibakteri yang bersifat bakteriostatik terbatas pada penghambatan pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya, namun dapat menjadi bakterisidal dalam konsentrasi tinggi (Purnamaningsih *et al.*, 2017).

Antibakteri adalah bagian dari kategori antimikroba yang mampu menghambat perkembangan bakteri. Komponen antibakteri disintesis oleh mikroorganisme dan dalam kadar rendah dapat membendung atau hingga mematikan mikroorganisme tersebut. Proses senyawa aktif dalam mencegah pertumbuhan bakteri meliputi merusak dinding sel, mengalterasi porositas sel, mengonversi zat protein dan asam nukleat, memperlambat kinerja enzim, dan membatasi pembentukan protein dan asam nukleat bakteri (Seko *et al.*, 2021). Senyawa antibakteri dapat berupa senyawa kimia atau biologi, baik natural maupun buatan, yang berdaya hambat bagi perkembangan dan aktivitas bakteri.

## **2.5 Metode Pengujian Daya Antibakteri**

Pengujian daya antimikroba dilaksanakan guna menentukan kadar suatu zat antimikroba yang mampu menghasilkan output terbaik. Menurut Rante (2010), terdapat tiga metode utama untuk pengujian antimikroba, yaitu metode difusi agar, metode dilusi, dan bioautografi Brock dan Madigan.

### **1. Metode Difusi**

Metode difusi agar diaplikasikan guna menilai aktivitas agen antimikroba, kerap disebut juga sebagai uji daya hambat. Prosesnya dimulai dengan larutan bahan uji yang ditempatkan dalam sumuran atau diendapkan pada kertas cakram yang sudah direndam dalam solvent yang cocok. Kemudian, bahan ini ditanam di dalam medium padat yang mengandung mikroba uji. Setelah proses inkubasi, zona bening di sekitar sumuran atau cakram kertas diamati. Kemampuan bahan uji untuk menghambat mikroba diukur berdasarkan ukuran zona bening tersebut, apabila zona bening  $>20$  mm menunjukkan daya hambatnya tergolong sangat kuat, 11-19 mm menunjukkan daya hambatnya tergolong kuat, 5-10 mm menunjukkan daya hambatnya tergolong sedang, dan kurang dari 5 mm menunjukkan daya hambat lemah.

## 2. Metode Dilusi

Metode dilusi umumnya dimanfaatkan untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), yaitu kadar paling rendah dari suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Proses dilusi dilakukan dengan mencampur sampel uji, mikroba uji, dan media inokulasi dalam berbagai tingkat penipisan. Evaluasi aktivitas dilakukan dengan membandingkan kondisi yang tidak menggunakan bahan uji sebagai kontrol.

## 3. Metode Bioautografi

Bioautografi adalah metode deteksi yang digunakan untuk menemukan senyawa antimikroba yang belum diketahui, dengan cara menunjukkan aktivitas antimikroba pada kromatogram. Metode ini menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT), di mana senyawa antimikroba dipisahkan pada lapisan KLT dan kemudian dipindahkan ke medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji yang peka terhadap senyawa tersebut. Setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu, zona hambat akan terlihat di sekitar spot KLT yang mengandung senyawa aktif. Zona hambat ini menunjukkan aktivitas senyawa terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji.

## 2.6 Jeruk Kingkit

Jeruk Kingkit (*Triphasia trifolia*) adalah jenis tanaman semak atau pohon kecil dengan batang tegak silindris yang dilapisi duri, serta daunnya berbentuk daun majemuk. Tinggi batangnya biasanya kurang dari 5 sentimeter. Jeruk Kingkit memiliki bentuk buah yang bulat, berkulit merah, permukaannya halus dan tipis (Zufahmi & Nurlaila, 2018). Daging buahnya berisi cairan kuning yang memiliki rasa yang asam. Tanaman ini masuk dalam kategori semak kecil yang berbuah sedikit. Nama tanaman ini adalah Limeberry di Inggris, limonsito di Thailand, dan jeruk

kingkit di Indonesia (Hardisto & Tjandra, 2019). Tanaman jeruk kingkit dapat diamati pada Gambar 2.



Gambar 2. Jeruk Kingkit  
Sumber: Dokumentasi pribadi (2024)

Jeruk Kingkit memiliki daun dan batang yang dapat dimanfaatkan karena memiliki sifat antibakteri. Hal ini disebabkan karena daun dan batang jeruk kingkit diketahui memiliki kandungan fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid (Theanphong and Mingvanish, 2018). Penelitian lain juga yang dilakukan oleh Hardisto dan Tjandra (2019) menyebutkan bahwa minyak atsiri dari daun jeruk kingkit memiliki daya hambat yang kuat terhadap *E. coli* (ATCC 25922), dengan rata-rata zona hambat sebesar 11,33 mm pada konsentrasi 10  $\mu$ L dan 13,33 mm pada konsentrasi 15  $\mu$ L. Selain sebagai antibakteri, ternyata jeruk kingkit juga dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Pada studi oleh Widayanti dan Laksmi (2020), disebutkan bahwa ekstrak etanol dari buah jeruk kingkit memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat, dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 90,94 ppm.

Tanaman jeruk kingkit adalah satu dari sejumlah tanaman yang kerap digunakan untuk kecantikan seperti merawat kuku. Selain itu tumbuhan ini juga berpotensi menjadi tanaman hias layaknya bonsai (Hardisto dan Tjandra, 2019). Tumbuhan jeruk kingkit juga memiliki khasiat sebagai etnomedisin untuk pengobatan ketombe, batuk,

diare, disentri, influenza dan gangguan paru-paru (Widayanti dan Laksmi, 2020). Jeruk kingkit mengandung senyawa kumarin yang bermanfaat untuk mengobati gangguan paru – paru tertentu dan meredakan nyeri usus. Senyawa turunan dari kumarin tersebut yaitu isopimpinellin, heraclonol dan byakangelicin, mexotin dan meranzin hidrat. Senyawa – senyawa tersebut berpotensi sebagai alternatif obat alami.

Penelitian mengenai kandungan senyawa jeruk kingkit telah banyak ditemui sekarang ini salah satunya penelitian yang dilakukan oleh (Zoghbi and Andrade, 2009) yang menyatakan minyak atsiri yang diperoleh dari daun, batang, dan buah jeruk kingkit mengandung senyawa sabinene (daun: 31.1%, batang: 21.1%, buah: 23.9%) dan b - pinene (daun 40.8%, batang: 36.2%, buah: 32.4%). Komponen lain yang ada pada daun jeruk kingkit dengan jumlah yang cukup signifikan yaitu sesquisabinehidrat (6,3%), g -terpinene (5,7%), limonene (4,5%), terpinen-4-ol (4,1%) dan a - pinene (2,5%). Pada minyak atsiri bagian buah monoterpen mengandung sabinene (37,2%), b -pinene (23,9%) dan g -terpinene (16,3%), diikuti oleh limonene (5,3%), a -pinene (3%), terpinen-4-ol (3,3%) (Lim, 2012).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung, Laboratorium Analisis Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, pada bulan Januari sampai Maret 2024.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun jeruk kingkit yang diperoleh dari Bandar Lampung, biakan yang diperoleh dari Balai Veteriner Lampung, *Vibrio sp.*, Alkohol 70%, Etanol 96%, Aquades, NaCl, MHA (*Mullen Hilton Agar*). Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas oven, loyang, neraca analitik, desikator, cawan porselen, gunting penjepit, chopper, grinder, toples, jarum ose, kertas cakram (6 mm), vacuum rotary evaporator, inkubator 36°C, hotplate, densicheck, tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass, cawan petri, vortex, lab shaker, kertas saring, aluminium foil, gelas ukur, bunsen, autoklaf, mikropipet, pipet tetes, erlenmeyer, botol kaca, pinset dan jangka sorong.

#### **3.3 Metode Penelitian**

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal dan 3 kali ulangan. Faktor ujinya adalah konsentrasi ekstrak daun jeruk

kingkit yang terdiri dari lima taraf konsentrasi yaitu 5% (v/v), 10% (v/v), 15% (v/v), 20% (v/v), dan 25% (v/v). Data yang diperoleh, kemudian diuji kesamaan ragamnya dengan uji Bartlett dan kemenambahan data dengan uji Tuckey, kemudian dianalisis ragam untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.4.1 Preparasi Sampel dan Pembuatan Ekstrak**

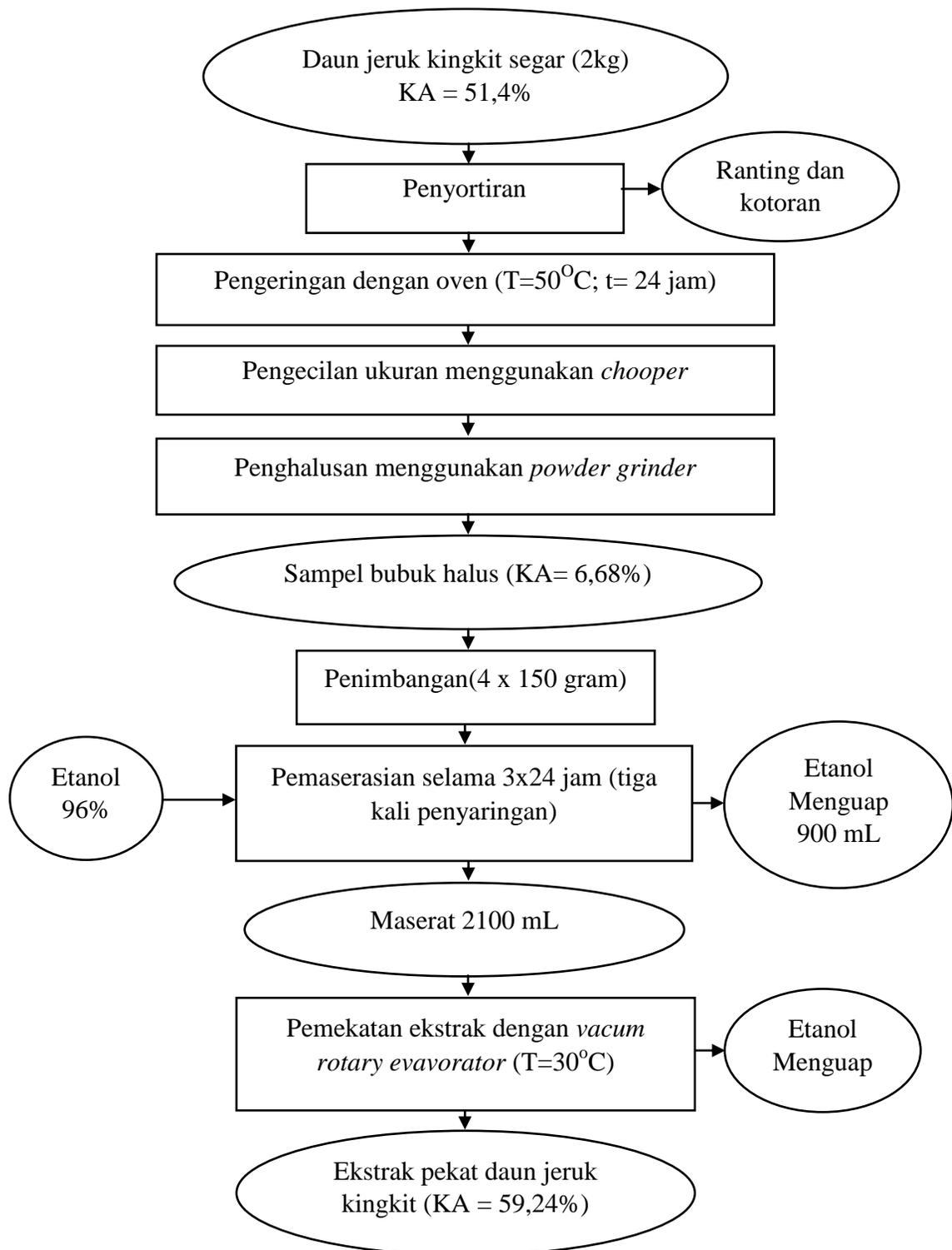
##### **3.4.1.1 Preparasi sampel**

Preparasi sampel dilakukan dengan menyiapkan 2 kg daun jeruk kingkit, kemudian dilanjutkan proses sortasi untuk mendapatkan daun jeruk kingkit yang berkualitas baik. Setelah itu dilakukan penghitungan kadar air daun jeruk kingkit segar.

Selanjutnya daun jeruk kingkit dikering anginkan selama 8 jam dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 24 jam. Setelah kering daun jeruk dikecilkan/ dihaluskan menggunakan *chooper* dan *powder grinder*. Setelah diperoleh serbuk halus daun maka dihitung kadar airnya. Serbuk halus buah daun jeruk kingkit siap untuk dimaserasi.

##### **3.4.1.2 Pembuatan ekstrak**

Ekstrak daun jeruk kingkit diperoleh dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 4 x 150 gram serbuk daun jeruk kingkit ditimbang kemudian dilarutkan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 250 mL. Setelah itu disimpan dengan meletakkan wadah berisi ekstrak pada alat *shaker* (120 rpm). Proses maserasi berlangsung selama 3 x 24 jam dengan tiga kali penyaringan. Setelah proses penyaringan dilanjutkan tahap penguapan ekstrak menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 30°C hingga menghasilkan ekstrak daun kingkit. Proses selanjutnya adalah penghitungan kadar air ekstrak daun jeruk kingkit. Proses pembuatan ekstrak daun jeruk kingkit disajikan pada gambar 3.

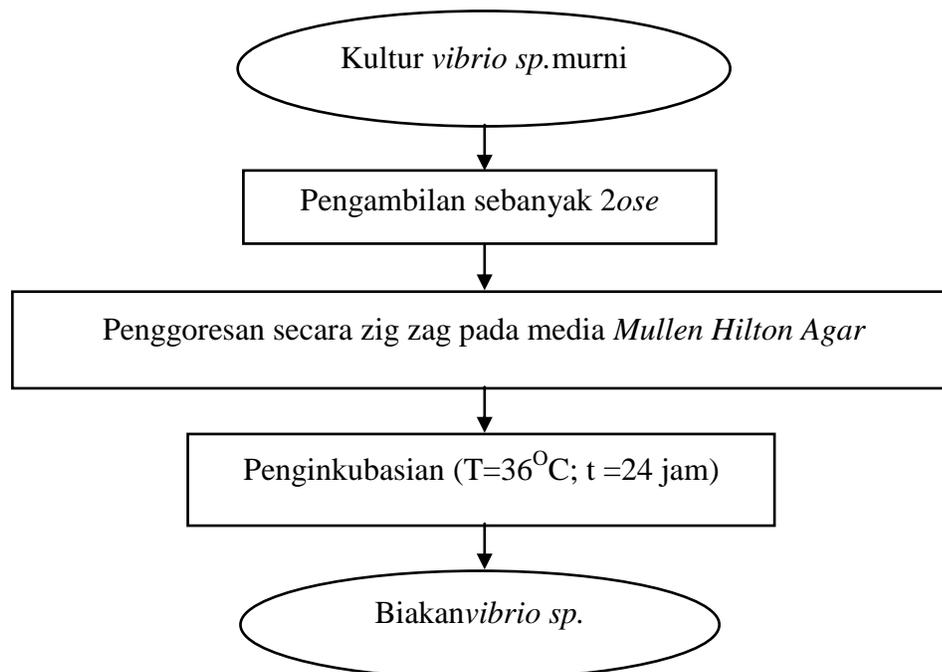


Gambar 3. Diagram alir pembuatan ekstrak daun jeruk kingkit  
Sumber: Fadilla (2023) yang dimodifikasi

### 3.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

#### 3.4.2.1 Peremajaan Bakteri

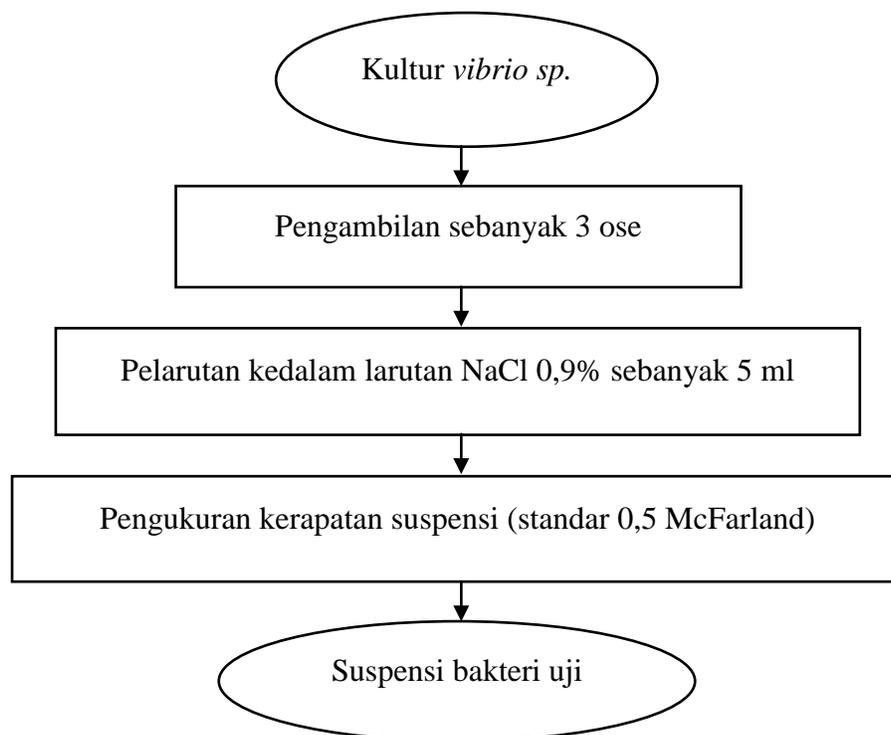
Peremajaan bakteri dilakukan dengan media *Mullen Hilton Agar*. Sebanyak 2 ose kultur bakteri *Vibrio sp.* murni diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian digoreskan secara zig-zag pada media (MHA) *Mullen Hilton Agar* secara merata lalu diinkubasi pada suhu 36°C selama 24 jam. Diagram alir peremajaan bakteri disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir peremajaan bakteri uji  
Sumber: Apreliani (2019) yang dimodifikasi

### 3.4.2.2 Pembuatan Suspensi Uji

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan dengan mengambil koloni bakteri *Vibrio sp.* yang telah diremajakan pada media *Mullen Hilton Agar* sebanyak 3 ose, kemudian dilarutkan ke dalam NaCl steril 0,9% sebanyak 5 ml secara aseptis dan divortex selama 30 detik. Setelah itu tingkat kekeruhan yang diperoleh diukur menggunakan alat densitometer dengan standar 0,5 McFarland. Jika suspensi bakteri uji terlampaui keruh, larutan NaCl ditambahkan. Jika suspensi bakteri uji tidak cukup keruh, beberapa ose bakteri yang telah diremajakan ditambahkan. Suspensi bakteri uji yang sudah sesuai dengan standar 0,5 McFarland ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) kemudian dipakai untuk menguji aktivitas antibakteri. Diagram alir pembuatan suspensi bakteri uji disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Diagram alir suspensi bakteri uji  
Sumber: Apreliani (2019) yang dimodifikasi

## **3.5 Pengamatan**

### **3.5.1 Skrining Fitokimia**

#### **3.5.1.1 Uji Fenol**

Pada pengujian fenolik, 1 mL ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diikuti dengan penambahan larutan  $\text{FeCl}_3$  1% ke dalam tabung reaksi tersebut. Jika warna berubah menjadi hitam, ini menunjukkan terdapat senyawa fenolik dalam ekstrak (Widayanti dan Laksmi, 2020).

#### **3.5.1.2 Uji Flavonoid**

Pengujian dengan Pereaksi Wilstater dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL ekstrak, diikuti dengan beberapa tetes HCl pekat, dan kemudian ditambahkan sejumlah kecil serbuk magnesium. Jika terjadi reaksi positif, akan terbentuk warna kuning (Widayanti dan Laksmi, 2020).

#### **3.5.1.3 Uji Alkaloid**

Larutan pereaksi Mayer sebanyak 2 tetes ditambahkan pada 1 mL ekstrak. Jika terjadi reaksi positif, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning (Widayanti dan Laksmi, 2020).

#### **3.5.1.4 Uji Saponin**

Untuk pengujian saponin dalam sampel, sampel dipanaskan terlebih dahulu dengan 20 mL air menggunakan penangas air. Setelah itu, filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Jika terbentuk busa yang stabil, ini menunjukkan hasil positif adanya saponin dalam sampel (Widayanti dan Laksmi, 2020).

### **3.5.1.5 Uji Steroid dan Terpenoid**

Pada pengujian steroid dan terpenoid dalam sampel, dilakukan penambahan asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Perubahan warna menjadi hijau-biru menunjukkan adanya steroid dalam sampel, sedangkan perubahan warna merah-ungu menunjukkan adanya terpenoid dalam sampel (Widayanti dan Laksmi, 2020).

### **3.5.1.6 Uji Tanin**

Pada pengujian tanin dalam sampel, sampel dididihkan dengan 20 mL air kemudian difilter. Filtrat kemudian dibubuhi beberapa tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Jika terbentuk warna coklat-kehijauan atau biru-kehitaman, ini menandakan hasil positif terdapat tanin dalam sampel (Widayanti dan Laksmi, 2020).

### **3.5.2 Analisis spektrofotometer UV-Vis**

Spektrofotometer UV-Vis merupakan satu teknik analisis kimia yang umum diaplikasikan untuk menentukan atau mengidentifikasi senyawa-senyawa organik (Ramadhani, 2020). Analisis spektrofotometri pada penelitian ini berfungsi guna mengidentifikasi senyawa yang terdapat pada ekstrak daun jeruk kingkit. Tahapan analisis ekstrak daun jeruk kingkit menggunakan spektrofotometer UV-Vis diawali dengan penyiapan blanko dan sampel. Selanjutnya, absorbansi blanko diukur pada panjang gelombang 200-800 nm, nilai absorbansi blanko akan dijadikan sebagai kontrol atau sebagai data yang merepresentasikan pelarut. Pengukuran absorbansi kembali dilakukan pada sampel dengan panjang gelombang yang sama (200-800 nm). Setelah itu dilakukan identifikasi dan analisis dari data yang diperoleh.

### 3.5.3 Analisis FTIR

FTIR (*Fourier Transform Infrared*) adalah teknik analisis yang efektif untuk mengidentifikasi dan menganalisis struktur senyawa kimia. Proses analisis FTIR dimulai dengan menghidupkan spektrofotometer FTIR. Sampel kemudian ditempatkan pada plate ATR (*Attenuated Total Reflectance*) dan tuas ATR diputar untuk menekan sampel. Selanjutnya, dilakukan pengukuran *background* sebelum setiap pemindaian melalui komputer yang dilengkapi dengan perangkat lunak OPUS. Spektrofotometer dioperasikan pada rentang gelombang dari  $4000\text{cm}^{-1}$  hingga  $650\text{cm}^{-1}$  dengan resolusi sekitar  $16\text{cm}^{-1}$ , dan dilakukan pemindaian sebanyak 32 kali untuk mendapatkan data yang akurat (Sari, dkk., 2018).

### 3.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri

#### 3.5.5.1 Pembuatan konsentrasi ekstrak

Penelitian ini menggunakan lima taraf konsentrasi yaitu D1(5%), D2(10%),D3(15%), D4(20%), dan D5(25%). Pembuatan sediaan ekstrak pada konsentrasi tersebut dilakukan dengan pengambilan volume daun jeruk kingkit, kemudian menghitung ekstrak dengan menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V1.M1 = V2.M2$$

Keterangan:

V1 : Volume Larutan Stok

V2: Volume Larutan Perlakuan

M1: Konsentrasi Volume Stok

M2: Konsentrasi Larutan yang Diinginkan

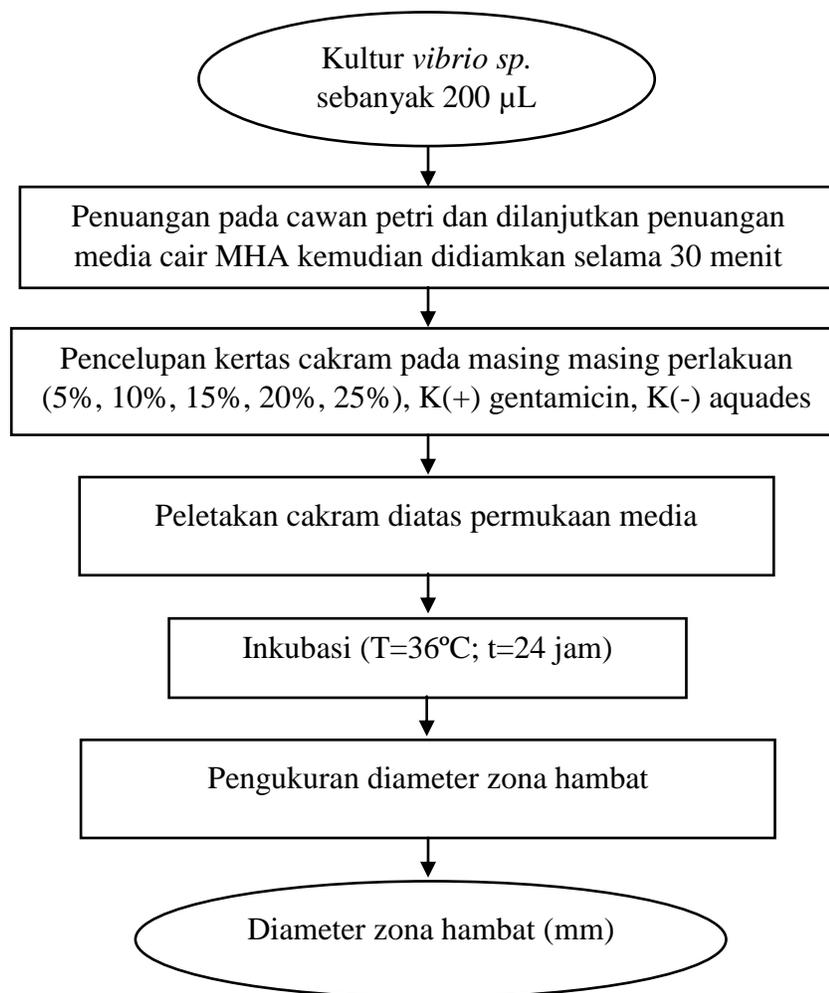
Berdasarkan rumus tersebut, maka sediaan ekstrak dalam 5 mL pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Table 1. Formulasi sediaan ekstrak etanol daun jeruk kingkit (5mL)

Perlakuan konsentrasi ekstrak	Ekstrak etanol daun jeruk kingkit (mL)	Aquades (mL)
5%	0,45 mL	4,55 mL
10%	0,90 mL	4,10 mL
15%	1,35 mL	3,65 mL
20%	1,80 mL	3,20 mL
25%	2,25 mL	2,75 mL

### 3.5.5.3 Proses uji antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk kingkit menggunakan biakan bakteri *vibrio sp.*, diawali dengan pengujian pada kontrol positif menggunakan antibiotik Gentamicin sebagai dan kontrol negatif menggunakan aquades. Pengujian dilakukan dengan cara kultur bakteri *vibrio sp.* yang telah dipersiapkan dituang sebanyak 200 µl ke dalam cawan petri dan kemudian dilakukan penguangan cairan media *Mullen Hilton Agark* dalam cawan petri yang telah diisi bakteri uji selanjutnya diratakan dengan menggoyang perlahan cawan petri diatas permukaan meja kerja dan kemudian didiamkan selama 30 menit. Setelah itu, kertas cakram dicelupkan secara individual pada ekstrak sesuai perlakuan konsentrasi ekstrak daun jeruk kingkit. Kertas cakram yang telah dicelupkan pada masing-masing perlakuan konsentrasi (5%, 10%, 15%, 20%, 25%) kemudian ditempatkan di atas permukaan media dengan jumlah 3 cakram untuk setiap perlakuan. Cawan petri yang berisi kertas cakram diinkubasi (T=36°C; t=24 jam). Setelah proses inkubasi, dilakukan pengukuran diameter zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong digital. Diagram alir proses uji antibakteri disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram alir suspensi bakteri uji  
Sumber: Apreliani (2019) yang dimodifikasi

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Berdasarkan hasil skrining fitokimia diketahui bahwa ekstrak etanol daun jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) mengandung senyawa antibakteri yaitu steroid, tanin, alkaloid, flavonoid dan fenolik.
2. Ekstrak etanol daun jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) memiliki aktivitas antibakteri alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* dengan diameter daerah daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi D1 (5%), D2 (10%), D3 (15%), D4 (20%) dan D5 (25%) yaitu masing masing sebesar 7,280 mm, 7,640 mm, 7,713 mm, 8,027 mm, dan 8,070 mm. Berdasarkan pengujian yang dilakukan diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi perlakuan ekstrak etanol daun jeruk kingkit yang digunakan maka semakin besar daya hambat yang terbentuk yaitu sebesar 8,070 mm dengan konsentrasi perlakuan D5 (25%).

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperlukan studi lanjutan terkait pemanfaatan ekstrak etanol daun jeruk kingkit sebagai antibakteri agar dapat diaplikasikan dalam bentuk sediaan maupun produk.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A., Sari, I., Nursanty, R. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap pertumbuhan bakteri *methicillin resistant staphylococcus aureus (mrsa)*. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. 387-391.
- Amrillah, N. 2023. Total fenolik, aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol akar kangkung darat (*ipomoea reptans poir*) dengan metode maserasi. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 78 hlm.
- Anggraini, W., Puspitasari, M. R., Atmaja, R. R. D. dan Sugihartoro, H. 2020. Pengaruh pemberian edukasi terhadap tingkat pengetahuan pasien rawat jalan tentang penggunaan antibiotik di rsud kanjuruhan kabupaten malang. *Pharmaceuticaljournal of indonesia*. 6(1):57-62.
- Apreliani, W. N. 2019. Kajian daya hambat beberapa daun genus solanum sebagai antibakteri alami dalam menurunkan cemaran *vibrio sp*. Pada udang putih (*litopenaeus vannamei*). *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 63 hlm.
- Aziz, T., Cindo, R., dan Fresca. 2009. Pengaruh pelarut heksana dan etanol volume pelarut, dan waktu ekstraksi terhadap hasil ekstraksi minyak kopi. *Jurnal Teknik Kimia*. 16(1): 1-8.
- Badaring, D. R., Mulya, S. P., Nurhabiba, S. Wulan, w. dan Lembang, A. R. 2020. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian journal of fundamental sciences (ijfs)*. 6(1): 16-26.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M. dan Suhendra, L. 2019. Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*ziziphus mauritiana L.*) Sebagai sumber saponin. *Jurnal rekayasa dan manajemen agroindustri*. 7(4) :551-560.

- Caesaria, N. S. 2018. Pengaruh jenis pelarut dan lama waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan mikroalga *porphyridium cruentum*. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang. 82 hlm.
- Damayanti, A. A., Trisnawati, N. L. P. dan Suyanto, H. 2021. Identifikasi bilangan gelombang daun sirih (*piper sp.*) Menggunakan metode spektroskopi *fourier transform infrared (ftir)* dan *principal component analysis (pca)*. *Buletin Fisika*. 22(2): 60 – 66.
- Datu, S. S. 2017. Skrining antibakteri ekstrak *sargassum sp.* Terhadap bakteri *vibrio parahaemolyticus* dan *vibrio harveyi*. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makassar. 55 hlm.
- Dewi, N. P. S. P., Darmayasa, I. B. dan Sudarti, N. W. 2017. Daya hambat infusa rimpang kunyit (*curcuma longa linn*) terhadap pertumbuhan *escherichia coli* dan *vibrio sp.* Pada ikan kerapu lumpur (*epinephelus tauvina*) di pasar kedonganan kabupaten badung, bali. *Jurnal simbiosis v (2)*: 52 – 57.
- Fadilla, E. S. 2023. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah dan daun jeruk kingkit (*triphasia trifolia*) terhadap bakteristaphylococcus aureus. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 78 hlm.
- Fitri, N. K. 2022. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah dan daun jeruk kingkit (*triphasia trifolia*) terhadap bakteri salmonella sp. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 64 hlm.
- Guli, M. M. 2016. Patogenesis penyakit kolera pada manusia. *Jurnal Biocelebes*, 10(2) : 18-24.
- Handoyo, D. L. Y. 2020. Pengaruh lama waktu maserasi (perendaman) terhadap kekentalan ekstrak daun sirih (*piper betle*). *Jurnal Farmasi Tinctura*. 2(1) : 34-41.
- Hardisto, K. dan Tjandra, O. 2019. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk Kingkit (*Triphasia trifoliata DC*) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. *Tarumanagara Medical Journal*. 1(3) :555-558.
- Hidayat, A.S. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri vibrio sp dari ikan kerapu sunu (*Plectropomus leopardus*). *Jurnal Teknosains*. 8(2):209 – 216.
- Hikmawati, F., Susilowati, A. dan Setyaningsih, R. 2019. Deteksi jumlah dan uji patogenitas *Vibrio spp.* pada kerang hijau (*Perna viridis*) dikawasan wisata Pantai Yogyakarta. *Pros sem nas masy biodiv indon*5(2): 334-339.

- Hitijahubessy, H., Samid, A., Jalmaf, W. K., Hasanela, N. dan Huae, L. M. C. 2022. Uji aktivitas antibakteri *vibrio sp.* Dari daun sernai (*wedelia biflora*). *Biofaal Journal*. 3(1) :43 – 50.
- Ihsan, B. 2021. Identifikasi bakteri patogen (*vibrio spp.* Dan *salmonella spp.*) Yang mengontaminasi ikan layang dan bandeng di pasar tradisional. *JPHPI*, 24 (1) : 89-96.
- Jawetz. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. EGC.Jakarta.854 hlm.
- Kemenkes, 2011. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 96 hlm.
- Lim, T. K. 2012. *Triphasia trifolia. Edible Medicinal and Non-medicinal Plants*. Springer Science and Business Media. New York. 1023 hlm.
- Maharani, K. 2012. Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah dan Biji *Manggis (Garcinia mangostana)* pada Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*) dengan Menggunakan Solven Etanol. *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya. 89 hlm.
- Makalalag, A. K., Sangi, M.,Kumaunang M. 2011. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak etanol daridaun turi (*sesbania grandiflora pers*). *Balai Riset dan Standarisasi Industri*. Manado. 38-46
- Martingsih, N. W., Widana, G. A. B. dan Kristiyanti, P. L. P. 2016. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun matoa (*pometia pinnata*) dengan metode dpph. *Prosiding Seminar Nasional MIPA*. Universitas Pendidikan Ganesha. 332-338.
- Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 2(2):128-32.
- Nieman. 1996. *Priciple Of Instrumental Analysis*. Skoog, Holler. 992 hlm.
- Novitasari, A. E. dan D. Z. Putri. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*. 6(12): 10-14.
- Nufus, L. S. dan Pertiwi, D. 2019. Tingkat pengetahuan masyarakat terhadap penggunaan antibiotik (amoxicilin) berdasarkan usia di dusun karang panasan kabupaten lombok utara. *Jurnal keperawatan* Universitas Nahdlatul Wathan Mataram. 54-62

- Nurhidaytai, S., Faturrahman, dan Ghazali, M. 2015. Deteksi bakteri patogen yang bersosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) bergejala penyakit ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*. 1(2): 24030
- Paju, N., Yamlean, P.V. dan Kojong, N. 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia Steenis.*) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon* 2(1):51–61.
- Pratiwi, E. 2008. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 64 hlm.
- Purnamaningsih, N.A., Kalor, H. dan Atun, S. 2017. Uji aktivitas antibakteri ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Penelitian Saintek*, 22(2), 140-147.
- Rahayu. 2011. *Keamanan Pangan Kepedulian Kita Bersama*. IPB Press. Bogor. 221 hlm.
- Rante H, Taebe B, dan Intan S. 2013. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba Dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum Annuum L Var. Chinensis*) Dan Profil KLT Bioautografi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 17(2):39-45.
- Sandhar, H. K., Kumar, S., Prasher, P., Tiwari, M., Salham, M., and Sharma, P. 2011. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *International Pharmaceutica Scientia*. 1 (1): 25-41.
- Sangi, M.; Runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress.*, 1:47-53.
- Santos, R. P. D., Maria, T. S. T. M. T. S., Edilberto, R., Silveira, E. R., Otilia, D. L., Pessoa, O. D. L. and Melo, V. M. M. 2008. Chemical composition and biological activity of leaves and fruits of *Triphasia trifolia*. *Quim Nova*. 31(1): 53-58.
- Sapara, T.U., Waworuntu, O., Juliatri. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*impatiens balsamina L.*) Terhadap pertumbuhan *porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*, 5 (4) : 10-17.

- Sebrina, N. Z., Ramadhani, S., Yunavita, S. dan Fevria, R. 2022. Analisis bakteri *vibrio cholerae* pada lalat rumah (*musca domestica*) penyebab kolera. *Prosiding SEMNAS BIO*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. 319-329.
- Seko, M. H., Sabuna, A. C. dan Nggiak, J. 2021. Ekstrak etanol daun ajeran sebagai antibakteri terhadap *staphylococcus aureus*. *Jurnal Biosains*. 7(1) : 1-9.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. CV Sagung Seto. Jakarta. 811 hlm.
- Suhartati, T. 2017. Dasar-dasar spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri massa untuk penentuan senyawa organik. AURA. 105 hlm
- Supardi, I. dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam pengolahan dan keamanan pangan*. Yayasan adikarya ikapi & the food fondation. Penerbit Alumni, Bandung. hlm 1-290.
- Taba, P., Nadya, Y., dan Syahrudin, K. 2019. Sintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai bioreduktor dan uji aktivitasnya sebagai antioksidan. *Indo. J. Chem. Res.*, 7(1):51-60.
- Theanphong, O. and Mingvanish, W. 2018. *Antimicrobial activity from leaves and stems of Triphasia trifolia (Burm. F.) p. Wilson*. *Bull Health Sci. Technology*. 16(1): 31-38.
- Vifta, R.L. dan Advistasari, Y.D. 2018. Skrining fitokimia, karakterisasi, dan penentuan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi-fraksi buah parijoto (*medinilla speciosa b.*). *Prosiding Seminar Nasional Unimus1* : 8-14.
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S. dan Abdullah, S. S. 2021. Uji aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi ascidian herdmania momus dari perairan pulau Bangka likupang terhadap pertumbuhan mikroba *Staphylococcus aureus* dan *candida albicans*. *PHARMACON*. 10(1) :706-712.
- Wibowo, K. M. 2012. Analisis spektroskopi uv-vis penentuan konsentrasi permanganat ( $\text{kmno}_4$ ). *Jurusan Fisika, FMIPA Universitas Sebelas Maret*. Surakarta. 1-12.
- Widiyanti, N. P. dan Laksmi, A. S. W. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Jeruk Kingkit (*Triphasia trifolia Dc*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal media sains*, 4 (1): 25 – 31.

- Wijayati, N., Astutiningsih, Christina. dan Mulyati, S. 2014. Transformasi  $\alpha$ -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika* 6 (1): 24-28.
- Zoghbi M. D. G. B. and Andrade, E. H. A. 2009. *Chemical composition of the leaf, stem and fruit essential oils from triphasia trifolia* (Burm. f.) P. Wilson cultivated in north of brazil. *J Essent Oil Bear Plants*. 12(1): 81–86.
- Zufahmi dan Nurlaila. 2018. Hubungan Kekerbatan Famili *Rutaceae* Berdasarkan Karakter Morfologi di Kecamatan Bandar Baru. *Prosiding Seminar Nasional*. 90-96 hlm.