

Uji Efektivitas Antibakteri *Handsanitizer* Minyak Atsiri Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro

Aina Fatkhil Haque¹⁾, Betna Dewi²⁾, Dika Amanda³⁾

^{1,2,3}Akademi Farmasi Al-Fattah Bengkulu, Indonesia
ainafhaque@gmail.com, betnadewi@gmail.com, dikaamanda@gmail.com

Abstract

This study aims to determine the antibacterial activity, effective concentration, and the effect of increasing the concentration of Kalamansi orange essential oil in Handsanitizer gel on the inhibition of growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus Aureus* bacteria. Testing for antibacterial activity using the agar cakram method. The parameter that is measured is the diameter of the resistivity formed around the disc paper. Antibacterial activity test results were analyzed by descriptive method. The results showed that the concentration of essential oil in the Handsanitizer gel was 1%; 2%; and 4% have provided inhibitory activity for the growth of the tested bacteria. Effective concentration that can inhibit *Escherichia coli* and *Staphylococcus Aureus* bacteria at a concentration of 4%. The increase in the concentration of kalamansi orange essential oil showed the wider the diameter of the inhibition zone for bacterial growth. The inhibition that occurs in the *Escherichia coli* and *Staphylococcus Aureus* bacteria, proves that the Gel Handsanitizer Preparation Kalamansi orange essential oil contains limonene active compounds which are antibacterial. From the research that has been done, the following conclusions can be drawn: The availability of Kalamansi orange essential oil gel Handsanitizer with a concentration of 1%, 2% and 4% can inhibit the activity of the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus Aureus* in vitro. With the higher the concentration of kalamansi orange essential oil, the stronger the antibacterial inhibition is produced so that the handsanitizer with a concentration of 4% has the strongest antibacterial power against *Escherichia coli* and *Staphylococcus Aureus* bacteria.

Keywords: Antibacterial, Handsanitizer, *Citrofortunella Microcarpa*

1. PENDAHULUAN

Hand sanitizer adalah sediaan antiseptik dengan fungsi untuk membunuh bakteri dengan cara yang praktis karena tidak perlu menggunakan air pada prosesnya. Cuci tangan dapat menggunakan air dan suatu zat tambahan, dimana zat tersebut dapat berupa antiseptik atau yang lainnya (Srikartika,2016) Hand sanitizer merupakan zat antiseptik yang didalamnya terdapat alcohol dengan persentasi 60-95%. Menurut Food and drug administration (FDA), Handsanitizer dapat menghilangkan kuman kurang dari 30 detik.

Pada minyak atsiri kulit buah jeruk komponen utamanya adalah limonen, mirsen dan decanal (Kamal, 2011). Dari penelitian yang telah dilakukan menjelaskan komponen

mayor adalah limonen, yang termasuk ke dalam senyawa monoterpenoid. limonen diketahui memiliki aktivitas antimikroba dan antiseptik (Palma,2019) .Minyak atsiri dari kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Debora,2018).

Limonen adalah hidrokarbon dalam siklus terpen merupakan cairan yang memiliki bau yang khas dari jeruk oleh sebab itu diberi nama limonene karena sebagian besar terdapat pada kulit jeruk. Limonene memiliki nama IUPAC yaitu 1-metil-4-prop-1-en-2-il-cyclohexene, dan memiliki rumus molekul C₁₀H₁₆, memiliki berat jenis 0,8411 g/cm³, massa molar 136,24 g/mol, titik lebur - 74,35°C dan titik didih 176°C. Limonen sebagai antibakteri bekerja dengan cara

merusak struktur dinding sel sehingga dapat mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton yang terdapat dalam membran sitoplasma bakteri, sehingga limonen akan mementurasi dan menginaktifkan protein seperti enzim. Oleh sebab itu, dinding sel bakteri mengalami penurunan permeabilitas yang menyebabkan kerusakan sehingga terganggunya transport ion organik pada bakteri dan mengakibatkan terganggunya metabolisme sehingga bakteri menjadi mati (Cheong et al,2012). Pada pengujian ini dapat dilihat bahwa minyak atsiri jeruk kalamansi berpotensi sebagai antibakteri dengan cara menekan proses terbentuknya membran atau dinding sel. Adapun kelebihan hand sanitizer dapat membunuh kuman dalam waktu relatif cepat, karena mengandung senyawa alkohol (etanol, propanol, isopropanol) dengan konsentrasi \pm 60% sampai 80% dan golongan fenol (klorheksidin, triklosan) (Asngad, 2018). Potensi tersebut perlu dikembangkan sehingga dapat dirasakan manfaatnya oleh masyarakat sebagai sediaan yang nyaman, aman, serta efektif. Bentuk sediaan Handsanitizer gel dirasa cocok untuk dikombinasikan dengan minyak atsiri jeruk kalamansi yang telah terbukti berkhasiat sebagai antibakteri, sehingga perlu ditambahkan juga uji iritasi agar didapat sediaan yang aman tanpa ada resiko iritasi. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara in vitro terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan difusi agar dengan menggunakan kertas cakram. Larutan uji Handsanitizer Gel Minyak atsiri jeruk kalamansi dengan konsentrasi 1%, 2%, 4% dan kontrol positif yaitu amoxilin 25 mcg, untuk masing-masing uji bakteri. Cawan petri yang berisi muller hinton agar (MHA) diulaskan suspensi bakteri dengan jumlah sekitar 10⁶ cfu/ml ke seluruh permukaan agar sampai merata biarkan mengering kurang lebih 1 jam. Handsanitizer Gel Minyak atsiri jeruk kalamansi sebanyak 60 μ l ditetaskan pada setiap kertas cakram untuk masing-

masing konsentrasi dan diletakkan dalam cawan petri yang berisi MHA steril, kemudian cawan petri diinkubasikan pada suhu 37° C selama 24 jam.

Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte, 2005). Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm).

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia, Farmakognosi, dan Farmasetika Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu pada bulan Juli sampai bulan Oktober tahun 2020.

Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas Handsanitizer Gel Minyak atsiri jeruk kalamansi terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Pembuatan Sediaan Handsanitizer gel minyak atsiri jeruk kalamansi

a. Rancangan Formula

Sediaan Handsanitizer dibuat dalam 3 formula, masing-masing formula dengan konsentrasi 1%, 2%, 4% sebanyak 100 ml.

b. Prosedur kerja pembuatan Handsanitizer gel minyak jeruk kalamansi

Disiapkan mortir dan stamper. Ditimbang carbomer 940 sebanyak 0,5 g, Setelah carbomer 940 ditimbang, ditaburkan diatas aquadest sebanyak 20 ml. Carbomer 940 yang sudah ditaburkan diaduk cepat di dalam mortir sampai terbentuk masa gel dan ditambah TEA sebanyak 1 ml. Ditimbang metil paraben sebanyak 0,2 g. Diukur alkohol 70% sebanyak 5 ml. Metil paraben dilarutkan dalam alkohol 70% sebanyak 5 ml, dimasukan ke dalam mortir, diaduk sampai homogen. Diukur alkohol sebanyak 55 ml. Ditimbang minyak atsiri jeruk kalamansi dilarutkan kedalam alkohol 70% sebanyak 55 ml dan diaduk sampai larut. minyak atsiri jeruk kalamansi yang sudah larut

dimasukkan ke dalam mortir, dicampur sampai homogen, dipindahkan kedalam beaker glass yang sudah dikalibrasi. Di tambah aquadest sampai 100 ml, diaduk sampai homogen

c. Pembuatan media Nutrient Agar

Ditimbang 20 gram media Nutrient Agar disuspensikan dalam aquadest sampai 1 liter di dalam beaker glass, dipanaskan di atas water bath sampai jernih lalu dipindahkan dalam wadah dan ditutup dengan aluminium foil dan diikat dengan tali kasur. Kemudian disterilkan dengan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu dipindahkan dengan teknik aseptis kedalam beberapa cawan petri yang sudah disterilkan. Kemudian cawan petri dibiarkan pada suhu kamar sehingga media dapat memadat (Merck, 2005).

2. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini minyak atsiri jeruk kalamansi diujikan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pada minyak atsiri kulit buah jeruk komponen utamanya adalah limonen, mirsen dan dekanal. Senyawa limonene telah terbukti mempunyai efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA (Kamal, 2011). Metode yang digunakan adalah metode kertas cakram dan uji replika. Metode kertas cakram merupakan metode yang biasa digunakan untuk menguji aktivitas antimikroba suatu antibiotik terhadap mikroorganisme patogen penyebab penyakit. Kepekaan mikroorganisme patogen terhadap antibiotik terlihat dari ukuran zona bening yang terbentuk (Cappucino & Sherman, 2001). Parameter yang digunakan adalah zona bening, yaitu area bening di sekeliling cakram kertas sebagai indikasi tidak adanya atau terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme akibat ekskresi zat antimikroba oleh kompetitornya (Byod, 1995; Atlas and Bartha, 1998). Dari penelitian yang telah dilakukan menjelaskan komponen mayor adalah limonen, yang termasuk ke dalam senyawa monoterpenoid.

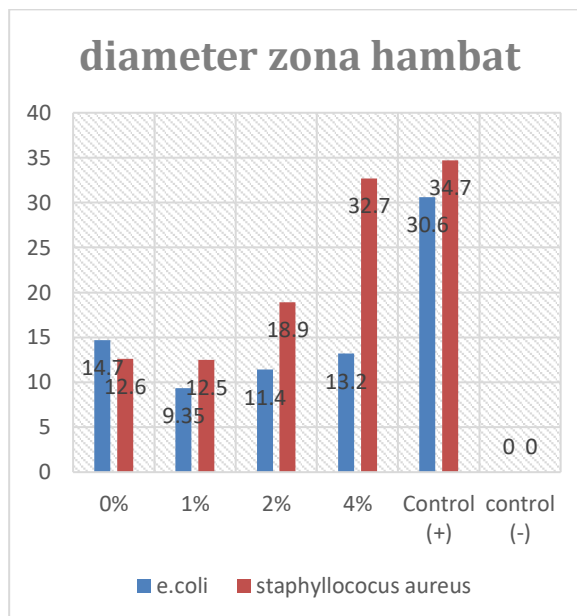
limonen diketahui memiliki aktivitas antimikroba dan antiseptik (Palma, 2019). Minyak atsiri dari kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Debora 2018). Adapun kelebihan hand sanitizer dapat membunuh kuman dalam waktu relatif cepat, karena mengandung senyawa alkohol (etanol, propanol, isopropanol) dengan konsentrasi \pm 60% sampai 80% dan golongan fenol (klorheksidin, triklosan) (Asngad, 2018). Berdasarkan uji aktivitas anti mikroba dari Sediaan Handsanitizer gel minyak atsiri jeruk kalamansi terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa Handsanitizer gel minyak atsiri jeruk kalamansi konsentrasi 1%, 2%, dan 4% dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak minyak atsiri jeruk kalamansi maka jumlah mikr yang ditunjukkan pada tabel 2 dan gambar 1. Jumlah mikroorganisme semakin menurun, sehingga zona hambat yang dihasilkan pada nutrient agar semakin besar. Hal ini menunjukkan adanya senyawa aktif antibakteri Limonene dalam minyak atsiri jeruk kalamansi yang bersifat sebagai bakterisidal, yang mungkin dengan cara mendenaturasikan protein dan merusak membran sitoplasma sel. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein sel bakteri terganggu. Gangguan integritas sitoplasma berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Sel bakteri kehilangan bentuknya sehingga lisis, namun persenyawaan limonene bersifat bakteristatik atau bakterisid tergantung dari konsentrasinya (Martoz, 2008).

Faktor lain yang mempengaruhi aktivitas antimikroba dari minyak atsiri jeruk kalamansi adalah asam. Keasaman pada buah jeruk disebabkan oleh kandungan asam organik berupa asam sitrat dengan

konsentrasi yang tinggi juga dapat menjadi salah satu faktor yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. pH yang rendah berperan terhadap semakin baiknya daya hambat minyak atsiri jeruk kalamansi terhadap pertumbuhan bakteri.. Menurut Davis dan Stout (1971), kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikatakan sangat kuat. Berdasarkan kategori tersebut, maka daya hambat yang dihasilkan ekstrak daun jambu biji dalam sediaan gel handsanitizer dikategorikan kuat karena menghasilkan zona hambat diatas 10 mm.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Sediaan Handsanitizer Gel minyak atsiri jeruk kalamansi

Sediaan	Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)		Kategori
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus</i>	
0%	14.7 mm	12.6 mm	lemah
1%	9.35 mm	12.5 mm	sedang
2%	11.4 mm	18.90 mm	kuat
4%	13.2 mm	32.7mm	Sangat kuat
Control (+)	30.6 mm	34.7 mm	Sangat kuat
Control (-)	0 mm	0 mm	lemah



Gambar 1. Diameter Zona Hambat Sediaan Handsanitizer Gel minyak atsiri jeruk kalamansi

Pada tabel diatas didapatkan hasil bahwa Sediaan Handsanitizer gel minyak atsiri jeruk kalamansi dalam berbagai konsentrasi mempunyai efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pada formulasi F4 merupakan sediaan dengan hasil antibakteri yang terkuat hamper mendekati control positif. Hal ini dibuktikan dengan terdapatnya diameter zona hambat disekitar cakram yang mengandung sediaan handsanitizer gel minyak atsiri jeruk kalamansi. Dengan hasil yang sama sebanyak 3 kali. Aquades sebagai kontrol negatif juga tidak menghasilkan daya hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus Aureus*. Sedangkan Ciprofloxacin sebagai kontrol positif memberikan daya hambat dengan kategori yang sangat kuat terhadap semua bakteri,

3. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut : Sediaan Handsanitizer gel minyak atsiri jeruk kalamansi dengan konsentrasi 1%, 2 % dan 4% dapat menghambat aktivitas bakteri *eschericia coli* dan *staphylococcus aureus* secara in vitro. Dengan semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri jeruk kalamansi

makan semakin kuat daya hambat antibakteri yang dihasilkan sehingga sediaan handsanitizer dengan konsentrasi 4% memiliki daya antibakteri yang paling kuat terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus Aureus*

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Riset Dan Teknologi, Republik Indonesia pada Skema Penelitian Dosen Pemula yang telah membiayai penelitian ini

4. REFERENSI

1. Asngad and A. R. Bagas, "Kualitas pembersih Tangan Hand Sanitizer," April. Bagas R, Nopitasari, vol. 4, no. 2, pp. 61–70, 2018.
2. Byod, R.F. (1995). Basic Medical Microbiology Five edition. Little Brown Company Inc: Boston
3. C.E. Palma, P. S. Cruz, D. T. C. Cruz, A. M. S. Bugayong, and A.L.Castillo, "Chemical composition and cytotoxicity of philliphine calamansi essential oil," Ind. Crops Prod., vol 128, no. October 2018,pp. 108-114, 2019
4. Cappucino, J.G., dan Sherman, N., 2001, Microbiology A Laboratory Manual, Rockland Community College, State University of New York.
5. Davis, W.W. and T.R. Stout. (1971). Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. Microbiology 22: 659-665G. Kamal., "Yield and chemical composition of Citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels," Int. Food Res. J., vol. 18, no. 4, pp. 1275–1282, 2011.
6. G. Debora, K. Widya, A. Lolo, and P. V. Y. Yamlean, "Uji Aktifasi Anti Bakteri Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (Citrus microcarpa Bunge) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli.," J. Ilm. Farm., vol. 7, no. 4, pp. 62–68, 2018
7. M. Viuda-Martos, Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-López, and J. Perez-Álvarez, "Antibacterial activity of lemon (Citrus lemon L.), mandarin (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.) and orange (Citrus sinensis L.) essential oils," J. Food Saf., vol. 28, no. 4, pp. 567–576, 2008.
8. M. W. Cheong, Z. S. Chong, S. Q. Liu, W. Zhou, P. Curran, and B. Yu, "Characterisation of calamansi (Citrus microcarpa). Part I: Volatiles, aromatic profiles and phenolic acids in the peel," Food Chem., vol. 134, no. 2, pp. 686–695, 2012.
9. Srikartika, P., Netti,S., Eliza.A., 2016,Kemampuan Daya Hambat Bahan Aktif Beberapa Merk Dagang Hand Sanitizer terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus. Jurnal Kesehatan, Vol 5 no.3, Andalas.