

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Ika Maruya Kusuma^{1*}, Silfia Yohana Jastian¹, Mellova Amir²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jaksel 12640 telp.(021)7270090

²Program Studi Farmasi, Universitas Esa Unggul, Jl. Arjuna Utara No.9, RT.5/RW.2, Duri Kepa, Kec. Kb. Jeruk, Kota Jakarta Barat, Daerah Khusus Ibukota Jakarta 11510

*Email korespondensi: imaruya@istn.ac.id

ABSTRAK

Kawista (*Limonia acidissima*) adalah tumbuhan famili Rutaceae yang tidak hanya ada di India tetapi juga ada di Indonesia. Kulit buah kawista diketahui mengandung senyawa flavonoid seperti rutin, naringin, hesperidin, sinensetin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian antibakteri dari ekstrak metanol kulit buah kawista di Indonesia terhadap *Staphylococcus aureus* belum diuji. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit buah kawista terhadap bakteri *S.aureus*. Metode yang digunakan meliputi pembuatan ekstrak secara maserasi dengan metanol dan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram pada ekstrak dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%, kontrol positif klindamisin dan kontrol negatif aquadest. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kawista memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% dengan diameter daya hambat secara berurut yaitu 15,49 mm, 17,37 mm, dan 22,49 mm. Ekstrak metanol kulit buah kawista konsentrasi 75% memiliki efektivitas yang sama dengan kontrol positif klindamisin (20,05 mm).

Kata Kunci: antibakteri, ekstrak metanol, kulit buah kawista, *Staphylococcus aureus*

Antibacterial Activity of Kawista Rind Methanol Extract (Limonia acidissima L.) Against Staphylococcus aureus

ABSTRACT

Kawista (*Limonia acidissima*) is a plant of the Rutaceae family which is not only found in India but also in Indonesia. Kawista rind is known to contain flavonoids such as rutin, naringin, hesperidin, sinensetin that have the potential to be antibacterial. Antibacterial activity of kawista rind methanol extract in Indonesia against *Staphylococcus aureus* has not been tested. This study aims to determine the potential of methanol extract of kawista rind against *Limonia acidissima* rind was macerated in methanol, and extracts were tested for antibacterial activity at concentrations of 25%, 50%, and 75%. Clindamycin was used as a positive control, while aquadest was used as a negative control. The results showed that the extracts with concentrations of 25%, 50% and 75% had antibacterial activity against with Diameter of the inhibition zone about of 15.49 mm, 17.37 mm and 22.49 mm. The concentration of methanol extract of kawista rind 75% had the same effectiveness as the positive control clindamycin (20.05 mm).

Keywords: antibacterial, methanol extract, rind kawista, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Tumbuhan sejak ribuan tahun telah banyak digunakan dalam pengobatan. Kawista (*Limonia acidissima*) adalah tumbuhan anggota famili Rutaceae yang tidak hanya ada di India tetapi juga ada di Indonesia. Tumbuhan kawista di India telah diteliti memiliki banyak manfaat seperti daun, kulit kayu, buah dan akar dalam pengobatan disentri, tukak lambung, diare kronis, dan berbagai penyakit lainnya (Sharma & Tenguria, 2021). Pemanfaatan buah kawista di Indonesia

sebagai bahan obat belum banyak diteliti. Pemanfaatan yang ada baru sebatas pada daging buahnya yang banyak dijadikan sirup dan kulit buahnya hanya menjadi limbah.

Berdasarkan dari data penelitian yang dilakukan di India, daging buah kawista telah diketahui memiliki aktivitas antitumor dari senyawa asam polisakarida. Kulit batang dan buah memiliki aktivitas antidiabetes dari senyawa flavonoid. Daun memiliki aktivitas antiinflamasi, antidiare dan analgetik dari senyawa tanin, alkaloid dan flavonoid (Sharma & Tenguria, 2021). Kulit buah kawista diketahui mengandung flavonoid seperti

rutin, naringin, hesperidin, sinensetin yang bermanfaat sebagai bahan obat (Rini et al., 2017). Di India, kulit buah kawista telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat kuat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 50% sebesar 12,00 mm (Pandey et al., 2014). Penelitian lain mengenai aktivitas antibakteri dari buah kawista yang ada di Indonesia yaitu dari fraksi etanol daging buah kawista yang diuji pada bakteri *S. aureus* dan *Escherichia coli* (Jamil et al., 2020).

Penelitian antibakteri dari ekstrak metanol kulit buah kawista di Indonesia terhadap *S. aureus* belum dilakukan. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab jerawat, yang merupakan flora normal dari kelenjar pilosebaceus kulit manusia. Bakteri ini menyebabkan jerawat dengan menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit (Ramdani & Sibero, 2015). Pelarut metanol dipilih karena merupakan pelarut bersifat polar yang dapat melarutkan senyawa flavonoid dan tanin yang memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol kulit buah kawista yang ada di Indonesia terhadap bakteri *S. aureus* dengan metode difusi cakram berdasarkan nilai diameter daya hambat yang terbentuk, sebagai alternatif antibiotik dari bahan alam.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Kulit buah kawista (*Limonia acidissima* L.), media *Nutrient agar* (Merck), natrium klorida 0,9% (*Otsu - NS*), metanol (Merck), amoniak (NH₃) 25% (Merck), asam sulfat (H₂SO₄) (Merck), natrium nitrit (NaNO₂) 5% (Merck), aluminium klorida (AlCl₃) 10% (Merck), natrium hidroksida (NaOH) (Merck), asam klorida (HCl) 2N (Merck), ferri (III) klorida (FeCl₃) 1% (Merck), eter (Merck), asetat anhidrat (Merck), H₂SO₄ pekat (Merck), kloroform (Merck), *Mc Farland 3* (Remel), *lugol's iodine* (larutan I₂ dan KI) (Merck), safranin (Merck), etanol 70% (Brataco), etanol 96% (Brataco), cakram klindamisin (Oxoid), cakram kosong (Oxoid), aquadest (Brataco).

Alat. *Vacuum rotary evaporator* (Eye La), *Erlenmeyer* (pyrex), timbangan digital (*RadWag*), blender (*Philips*), *hot plate stirrer*, *spatula*, batang pengaduk, pinset, aluminium foil, kertas saring, pipet tetes, toples kaca, cawan petri (pyrex), inkubator (*Memmert*), lemari pendingin (*Haier*), *laminar air flow* (*N-Bioteck*), autoklaf (ALP), jarum ose, bunsen, mikropipet (*Dragon Med*), tabung reaksi (pyrex), rak tabung reaksi, corong pemisah, *vortex*, waterbath (*Memmert*), gunting, jangka sorong (*Combo*®), beacker glass (pyrex), gelas ukur (pyrex), batang L, cawan penguap, kertas perkamen, objek glass dan cover glass, oven (*Memmert*), botol vial.

Pembuatan simplisia dan ekstrak. Simplisia kulit buah kawista diperoleh dengan cara memotong buah yang sudah matang menjadi dua bagian, kemudian dikeluarkan daging buah dan bijinya. Selanjutnya kulit buah dikeringkan dengan cara dikering-anginkan. Kulit

buah yang sudah kering, selanjutnya diserbuk hingga halus lalu diayak. Serbuk kulit buah kawista dimaserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:10 selama 24 jam dan sesekali diaduk. Kemudian sampel disaring dan dipisahkan antara filtrat dengan ampasnya. Selanjutnya filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50-58°C dan diuapkan dengan *waterbath* selama 1 hari sampai diperoleh ekstrak kental.

Persiapan bakteri uji. Bakteri *Staphylococcus aureus* diremajakan pada medium *Nutrient Agar* (NA) dengan cara menginokulasi satu ose biakan murni bakteri pada permukaan agar miring, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara bakteri uji difiksasi dan diwarnai dengan kristal violet dan didiamkan selama 5 menit. Zat warna dihilangkan dan diganti dengan larutan *lugol's iodine* (larutan I₂ dan KI) dan dibiarkan selama 45-60 detik. Larutan *lugol's iodine* dihilangkan dan dicuci dengan etanol 96% selama 30 detik atau digoyang-goyangkan sampai tidak ada zat warna yang mengalir lagi. Sediaan dicuci dengan air dan diwarnai dengan safranin selama 1-2 menit. Sediaan dicuci, dikeringkan dan diperiksa di bawah mikroskop. Bakteri Gram positif akan tampak berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah (Pandey et al., 2014).

Pengujian aktivitas antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit buah kawista (*Limonia acidissima* L.) dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% dilakukan dengan metode difusi cakram. Kertas cakram yang digunakan memiliki diameter lingkaran 6 mm. Selanjutnya sebanyak 1 mL suspensi bakteri uji dicampur dengan 10 mL media agar cair pada suhu ± 50°C, kemudian dituang ke dalam cawan petri. Setelah campuran berisi inokulum bakteri tersebut memadat, beberapa cakram yang masing-masing berisi kontrol positif (cakram klindamisin), aquadest sebagai kontrol negatif dan cakram yang berisi larutan uji masing-masing 20 µl diletakkan pada permukaan media di *laminar air flow* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu diukur diameter zona bening atau diameter daya hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Kategori nilai diameter daya hambat (DDH) berdasarkan penelitian Rahmah et al., (2012) dimana DDH <5 mm (Lemah), 5-10 mm (Sedang), 10-20 mm (Kuat) dan >20 mm (Sangat Kuat), selanjutnya data dianalisis secara deskripsi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia dan ekstrak

Pada penelitian ini serbuk kulit buah kawista yang digunakan dalam proses maserasi yaitu sebesar 300 g. Hasil proses maserasi dengan pelarut metanol diperoleh ekstrak kental sebanyak 14,47 g atau sebesar 4,82%. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nachimuthu et al. (2014), hasil rendemen yang diperoleh dari ekstrak kloroform 2,20%, ekstrak petroleum eter 2,25%, ekstrak air 8,42% dan ekstrak etil asetat 2,97%

(Kusuma & Rizal, 2021). Hal ini menunjukkan rendemen ekstrak metanol yang diperoleh lebih banyak jika dibandingkan dengan pelarut kloroform, pelarut petroleum eter dan etil asetat, tetapi rendemen ekstrak metanol yang dihasilkan lebih sedikit dari rendemen ekstrak air. Perbedaan ini dapat terjadi karena adanya perbedaan kepolaran dari pelarut. Metanol memiliki polaritas sebesar 34, sementara air memiliki polaritas sebesar 74 (Anggraini et al., 2017). Semakin polar pelarut komponen kimia yang ada pada sampel tanaman akan tersari secara sempurna, sehingga dihasilkan ekstrak yang lebih banyak (Hendrawan et al., 2015).

Pewarnaan Gram bakteri

Hasil identifikasi bakteri dari pewarnaan Gram terhadap bakteri *S. aureus* menunjukkan bahwa bakteri

yang diuji adalah bakteri Gram positif. Bakteri yang diidentifikasi berbentuk bulat atau kokus dan membentuk koloni berwarna ungu. Warna ungu yang terbentuk pada proses identifikasi disebabkan oleh dinding sel yang dimiliki bakteri mengandung peptidoglikan sehingga kristal violet yang terserap tertahan dan tidak dapat tercuci oleh etanol 96% (Pratiwi, 2008).

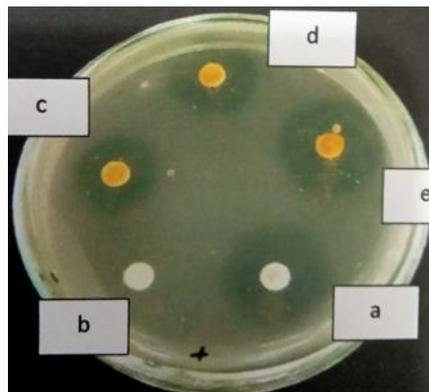
Uji aktivitas antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit buah kawista terhadap bakteri *S. aureus* diketahui dengan mengukur nilai Diameter Daya Hambat (DDH) dari masing-masing konsentrasi ekstrak metanol kulit buah kawista yang diuji. Hasil pengukuran dapat dilihat pada **Tabel 1 dan Gambar 1**.

Tabel 1. Nilai Diameter Daya Hambat (DDH) Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista Terhadap Bakteri *S. aureus*

Konsentrasi ekstrak kulit buah kawista (%)	Diameter Daya Hambat (DDH) (mm)				Keterangan
	Ulangan			Rata-Rata	
	1	2	3		
25	17,00	17,46	12,00	15,49	Kuat
50	16,50	20,20	15,40	17,37	Kuat
75	19,70	24,06	23,70	22,49	Sangat Kuat
Klindamisin (+)	23,08	19,06	18,00	20,05	Sangat Kuat
Aquadest (-)	-	-	-	-	-

Keterangan: Kategori nilai DDH <5 mm (Lemah), 5-10 mm (Sedang), 10-20 mm (Kuat) dan >20 mm (Sangat Kuat) (Rahmah et al., 2012)



Gambar 1. Hasil Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak metanol kulit buah kawista terhadap bakteri *S. aureus*; Keterangan : a. Kontrol (+) Klindamisin, b. Kontrol (-) aquadest, c. Konsentrasi ekstrak 25%, d. Konsentrasi ekstrak 50%, e. Konsentrasi ekstrak 75%

Berdasarkan hasil pengukuran diameter daya hambat (DDH) aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol kulit buah kawista terhadap bakteri *S. aureus* yang diuji dengan menggunakan metode difusi cakram pada semua konsentrasi menunjukkan terbentuknya diameter daya hambat. Pada konsentrasi 25% diameter daya hambat yang terbentuk yaitu sebesar 15,49 mm, konsentrasi 50% diameter daya hambat yang terbentuk sebesar 17,37 mm dan pada konsentrasi 75% diameter daya hambat yang terbentuk sebesar 22,49 mm, dimana konsentrasi ekstrak yang diujikan masuk kedalam kategori kuat dan sangat kuat. Konsentrasi 25% dan 50% masuk kedalam kategori kuat dan konsentrasi 75% masuk kedalam kategori

sangat kuat. Kategori tersebut berdasarkan kategori nilai DDH Rahmah et al. (2012) dimana nilai DDH <5 mm masuk kategori lemah, 5-10 mm masuk kategori sedang, 10-20 mm masuk kategori kuat dan >20 mm masuk kategori sangat kuat.

Hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya dimana pada konsentrasi yang sama yaitu konsentrasi 50% ekstrak metanol kulit buah kawista yang berasal dari India yang diuji pada bakteri *S. aureus* memiliki nilai diameter daya hambat sebesar 12,00 mm (Pandey et al., 2014). Nilai diameter daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi yang sama yaitu 50% dari ekstrak metanol kulit buah kawista yang diuji

dan penelitian sebelumnya, lebih besar nilai diameter daya hambat hasil pengujian yaitu 17,37 mm jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya 12,00 mm. Namun besarnya diameter daya hambat yang terbentuk keduanya masih dalam kategori yang sama yaitu kategori kuat. Terbentuknya diameter daya hambat dipengaruhi oleh adanya aktivitas metabolit sekunder flavonoid, terpenoid, tanin, saponin dan alkaloid pada ekstrak metanol kulit buah kawista berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang pernah dilakukan oleh Kusuma et al. (2020). Perbedaan diameter daya hambat pada penelitian ini dan penelitian sebelumnya yaitu dapat disebabkan dari asal sampel yang digunakan.

Dari hasil penelitian diatas membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diujikan maka diameter daya hambat yang dihasilkan akan semakin besar. Namun, yang menarik dari hasil pengujian ini yaitu pada konsentrasi ekstrak 75% besarnya diameter daya hambat yang dihasilkan dari pengujian terhadap *S.aureus* yaitu 22,49 mm lebih besar dari kontrol positif klindamisin 20,05 mm. Nilai tersebut masih dalam kategori yang sama yaitu kategori sangat kuat. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak metanol kulit buah kawista 75% memiliki efektivitas yang sama dengan kontrol positif klindamisin. Sehingga konsentrasi ekstrak metanol kulit buah kawista 75% adalah konsentrasi yang paling optimal sebagai alternatif antibakteri *S. aureus*. Sedangkan pada kontrol negatif aquadest yang diujikan tidak menunjukkan adanya diameter daya hambat yang terbentuk. Kontrol negatif aquadest digunakan untuk membuktikan bahwa aquadest yang digunakan tidak mempunyai aktivitas terhadap bakteri yang diujikan. Dalam penelitian ini aquadest digunakan sebagai pelarut ekstrak sebelum diteteskan pada kertas cakram.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol kulit buah kawista memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% dengan nilai diameter daya hambat (DDH) sebesar 15,49 mm, 17,37 mm, dan 22,49 mm. Konsentrasi ekstrak metanol kulit buah kawista 75% memiliki efektivitas yang sama dengan kontrol positif klindamisin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D., Boybul, Yanlinastuti, Yusuf, N., Nugroho, A., Kriswarini, R., & Ginting, A Br. (2017). Pengaruh Pelarut Organik Pada Proses Pertukaran Anion Dalam Pemisahan Uranium dari Larutan PEB U3Si/Al Pasca Radiasi. *Urania*, 23 (2), 69-138.
- Hendrawan, Zuraida, I., & Pamungkas, B.F. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol *Xylocarpus granatum* dari Pesisir Muara Badak. *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis*, 20(2), 20-28.
- Jamil, AS., Rofida, S., Priyani, D., Nabila, W., & Wulandari, E. (2020). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Limonia acidissima* Ethanol Extract against Microbes from Clinical Isolates. *Proceedings of the 2nd Health Science International Conference*, 152-156.
- Kusuma, I M., Putu, R.V., & Brilliany, C. (2020). Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Buah Kawista (*Limonia acidissima*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Sainstech Farma*, 13(2), 60-65.
- Kusuma, I.M. & Rizal, A. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Sainstech Farma*, 14(1), 54-58.
- Pandey, S., Satpathy, G., & Gupta, K.R. (2014). Evaluation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of exotic fruit "*Limonia acidissima*". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2), 81-88.
- Ramdani, R. & Sibero, H T. (2015). Treatment for Acne Vulgaris. *J Majority*, 4(2), 89-95.
- Rini, A., Supriatno, Rahmatan, H. (2017). Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia acidissima* L) dari Daerah Kabupaten Aceh Besar Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*, 2 (1), 12-25
- Rahmah, R.P.A., Bahar, M., & Harjono, Y. (2012). Uji Daya Hambat Filtrat Zat Metabolisme *Lactobacillus plantarum* Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* Secara *In vitro*. *Biogenesis*. 5 (1), 34-41
- Nachimuthu, S., Kumaravel, V., Sadhasivam S., Santhosharajan, N., Peraman, M., & Ponnusamy, R. (2014). Phytochemical screening and evaluation of antioxidant potential of *Feronia limonia* leaves and fruit extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 2 (1), 36-40
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga. 188-191.
- Sharma P. & Tenguria, R.K. (2021). Phytochemical Properties and Health Benefits of *Limonia acidissima*: A Review. *International Research Journal of Plant Science*, 12(2), 1-6.