

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*

Ika Maruya Kusuma^{1*}, Rizal Adhitya¹

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

*Email korespondensi: imaruya@istn.ac.id

ABSTRAK

Kawista (*Limonia acidissima* L.) merupakan buah dari famili Rutaceae yang ada di Indonesia. Tanaman ini diketahui mengandung alkaloid, flavonoid dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif seperti *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etil asetat kulit buah kawista terhadap bakteri *P. acnes*. Metode penelitian meliputi pembuatan ekstrak secara maserasi, penapisan fitokimia, uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram pada ekstrak dengan konsentrasi 6,25%, 12,5% dan 25%. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kawista dengan konsentrasi 6,25%, 12,5% dan 25% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dengan nilai diameter daya hambat secara berurutan yaitu 9,95 mm, 11,83 mm dan 15,70 mm.

Kata kunci: antibakteri, ekstrak etil asetat, kulit buah kawista, *Propionibacterium acnes*

*Antibacterial Activity of Kawista Rind Ethyl Acetate Extract (*Limonia acidissima* L.) Against *Propionibacterium acnes**

ABSTRACT

Kawista (*Limonia acidissima* L.) is a fruit from the Rutaceae in Indonesia and is known to contain alkaloids, flavonoids, and saponins that have the potential to be antibacterial to Gram-positive bacteria such as *Propionibacterium acnes* which causes acne. This study aims to determine the potential of ethyl acetate extract of kawista rind through the value of Inhibition Zone Diameter against *Propionibacterium acnes*. Research methods include *Limonia acidissima* rind was macerated by ethyl acetate, phytochemical of extract, antibacterial activity test on extracts, with concentrations of 6,25%, 12,50% and 25%. The results showed extracts with concentrations of 6,25%, 12,50% and 25% had antibacterial activity against *Propionibacterium acnes* with Inhibition Zone Diameter of 9.95 mm, 11.83 mm and 15.70 mm.

Keywords: antibacterial, ethyl Acetate extract, *Propionibacterium acnes*, rind kawista

PENDAHULUAN

Kawista (*Limonia acidissima* L.) merupakan buah dari famili Rutaceae. Spesies ini telah dikenal sebagai tanaman obat kuno Yunani dan Romawi, serta menjadi tanaman obat paling penting di India (Gemasih *et al.*, 2017). Ekstrak metanol kulit buah kawista diketahui mengandung senyawa flavonoid, steroid, saponin, tanin, dan alkaloid (Rahmi & Rahmadewi, 2020). Hampir semua bagian tanaman kawista seperti akar, kulit batang, daun, getah dan buahnya telah digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit seperti antioksidan, antidiabetes, penyembuhan luka, dan dapat mengendalikan kadar asam urat plasma darah sebagai inhibitor xantin oksidase (Kusuma *et al.*, 2019). Akan tetapi, pemanfaatan kulit buah kawista masih jarang dilakukan di masyarakat Indonesia. Pemanfaatan kawista hanya sebatas daging buah untuk dijadikan sirup dan

dodol, sedangkan kulit buah kawista hanya menjadi limbah (Pandey *et al.*, 2014).

Jerawat merupakan gangguan estetika pada kulit yang berdasarkan patogenesisnya disebabkan oleh hiperproliferasi epidermis folikel, produksi sebum berlebih, inflamasi dan aktivitas bakteri (Kusuma, 2016). Bakteri penyebab jerawat antara lain *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Propionibacterium acnes* merupakan flora normal dari kelenjar pilosebaceus kulit manusia, bakteri ini menyebabkan jerawat dengan menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit. Bakteri ini termasuk tipe bakteri anaerob aerotoleran, yaitu bakteri Gram positif yang toleran terhadap udara (Miratunnisa *et al.*, 2015).

Tatalaksana jerawat terdiri dari pemberian antibakteri, terapi sistemik dan terapi hormon (Sibero *et al.*, 2019). Pemberian suatu zat antibakteri seperti

tetrasiklin, eritromisin, dan klindamisin dapat menurunkan populasi bakteri *P. acnes*. Penggunaan suatu antibiotik yang berlebihan, dapat menyebabkan meningkatnya resistensi bakteri terhadap suatu antibiotik tertentu (Indarto *et al.*, 2019). Diperlukan terapi yang mempunyai daya kerja optimal dan efek samping yang minimal untuk menanggulangi jerawat. salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai terapi jerawat adalah buah kawista.

Penelitian kulit buah kawista sebagai antimikroba masih terbatas dari ekstrak kulit buah dengan pelarut etanol dan metanol yang diuji pada bakteri *E. coli* (Supriatno & Rini, 2018; Veryanti & Kusuma, 2020). Uji aktivitas antibakteri *P. acnes* dari kulit buah kawista dengan pelarut etil asetat belum pernah dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk menguji potensi ekstrak etil asetat kulit buah kawista terhadap *P. acnes* melalui nilai diameter daya hambat. Pelarut etil asetat dipilih karena dapat melarutkan senyawa yang bersifat semipolar yang dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar seperti alkaloida, flavonoid, saponin yang berperan sebagai antibakteri.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Kulit buah kawista (*Limonia acidissima* L.), media *Nutrient agar* (Merck), *Muller Hilton Agar* (Planet kimia), natrium klorida 0,9% (*Otsu - NS*), etil asetat (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), pereaksi Mayer (Merck), pereaksi Dragendorff (Merck), pereaksi Bouchardat (Merck), 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, kaca objek, oven (*Memmert*), botol vial 10 mL.

Pengolahan Simplisia. Kulit buah kawista segar ditimbang sebanyak 1,5 kg, dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 7 hari hingga diperoleh simplisia kering. Simplisia kering tersebut digiling dan diayak sehingga diperoleh serbuk simplisia kulit buah kawista yang setara dengan ukuran mesh 60.

Pembuatan Ekstrak. Serbuk kulit buah kawista dimaserasi menggunakan etil asetat, dengan perbandingan 1:10 b/v selama 1x24 jam dengan sesekali diaduk, kemudian sampel disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya. Filtrat yang diperoleh, dikumpulkan, dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50-58°C dan diuapkan dengan *waterbath* selama 1 hari, sampai diperoleh ekstrak kental. Kromatografi gas digunakan untuk pengujian bebas etil asetat yang dilakukan di PT. Saraswanti Indo Genetech di Bogor, Jawa Barat.

Penapisan Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Kawista. Uji penapisan fitokimia dilakukan pada serbuk dan ekstrak etil asetat kulit buah kawista yang meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid/triterpenoid berdasarkan uji warna secara kualitatif (Harborne, 1987) .

Uji Bebas Etil Asetat. Pemeriksaan bebas pelarut ekstrak etil asetat dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas (Gangga *et al.*, 2017). Ekstrak dikatakan bebas etil asetat jika pelarut etil asetat tidak terdeteksi oleh kromatografi gas pada batas nilai < 4,05 ppm yang dilakukan secara duplo.

Pembuatan Larutan Uji. Larutan uji dibuat dengan melarutkan ekstrak kulit buah kawista dengan aquadest. Konsentrasi yang digunakan adalah 6,25%, 12,50% dan 25%. Konsentrasi tersebut diperoleh berdasarkan hasil referensi pengujian ekstrak kawista terhadap bakteri *E.coli* yang memiliki Kadar Hambat Minimum > 5% (Veryanti & Kusuma, 2020)

Peremajaan Bakteri Uji. Bakteri uji diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, ISTN. Bakteri *P. acnes* diremajakan pada medium *Nutrient Agar* (NA) dengan cara menginokulasi satu ose biakan murni masing-masing bakteri pada permukaan agar miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Yanti & Mitika, 2017).

Pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara bakteri uji difiksasi dan diwarnai dengan kristal violet dan didiamkan selama 5 menit. Zat warna dibuang dan diganti dengan larutan *lugol's iodine* (larutan I₂ dan KI) dibiarkan selama 45-60 detik. Larutan *lugol's iodine* dibuang dan sediaan 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 dari ekstrak kulit buah kawista (*Limonia acidissima* L.) dengan konsentrasi 6,25%, 12,50% dan 25% dilakukan dengan metode difusi cakram berdasarkan Diameter Daya Hambat (DDH). Kertas cakram yang digunakan memiliki

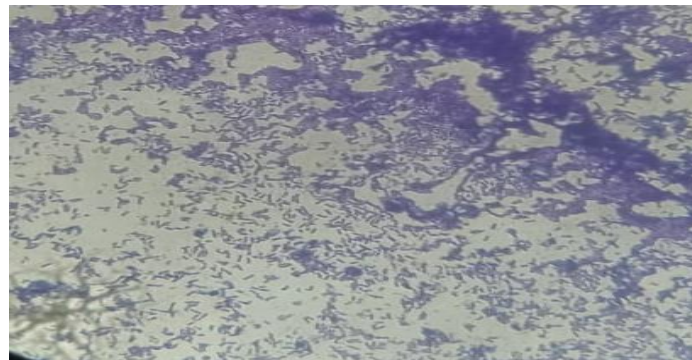
diameter 6 mm. Sebanyak 1 mL suspensi bakteri uji dicampur dengan 10 mL media yang masih cair dengan suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$, kemudian dituang ke dalam cawan petri. Setelah campuran berisi inokulum memadat, cakram berisi kontrol positif (klindamisin), aquades sebagai kontrol negatif dan cakram yang berisi larutan uji masing-masing 20 μl diletakkan pada permukaan media di *laminar air flow*. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu diukur diameter zona bening (*clear zone*) atau diameter daya hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

Analisis Data. Data yang diperoleh dari hasil Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak etil asetat kulit buah kawista terhadap *P. acnes* dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Kulit Buah Kawista

Pada penelitian ini ekstrak kulit buah kawista dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat sehingga didapatkan nilai rendemen sebesar 2,97%. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kusuma *et al.* (2019) didapatkan nilai rendemen ekstrak kulit buah kawista menggunakan pelarut metanol sebesar 6,07%. Jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan dari pelarut metanol lebih banyak dibandingkan rendemen dari ekstrak etil asetat. Pelarut etil asetat bersifat semi polar, sedangkan metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan seluruh kandungan kimia pada tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa aktif yang ada pada sampel memiliki polaritas yang tinggi, sehingga mudah larut dalam pelarut metanol (Hartati & Halifah, 2018). Pelarut metanol memiliki kemampuan yang tinggi untuk mengekstrak atau melarutkan senyawa yang ada pada kulit buah kawista jika dibandingkan dengan pelarut etil asetat. Pada proses ekstraksi pelarut etil asetat dipilih karena dapat menyari senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri, diantaranya alkaloid, flavonoid dan steroid. Nilai rendemen yang rendah pada pelarut etil asetat menandakan pelarut metanol yang bersifat polar menarik metabolit sekunder kulit buah kawista lebih baik dibandingkan dengan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar.



Gambar 1. Hasil pewarnaan Gram bakteri *Propionibacterium acnes* (Perbesaran 1000x)

Hasil Penapisan Fitokimia

Pemeriksaan penapisan fitokimia terhadap sampel serbuk dan ekstrak etil asetat kulit buah kawista bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam kedua sampel. Uji penapisan fitokimia yang dilakukan meliputi alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, steroid dan terpenoid. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia dari serbuk kulit buah kawista sama dengan hasil penelitian sebelumnya memiliki kandungan alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid (Kusuma *et al.*, 2019), sedangkan pada ekstrak etil asetat kulit buah kawista terdapat alkaloid, tanin, flavonoid dan steroid, namun tidak teridentifikasi adanya saponin. Hal ini kemungkinan dikarenakan saponin memiliki gugus glikosil yang bersifat polar dan gugus steroid yang bersifat nonpolar. Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat menarik senyawa rentan lebar dari polar hingga nonpolar. Akan tetapi, etil setat tidak mampu menarik senyawa yang terlalu polar maupun terlalu nonpolar. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Kulit Buah Kawista

No.	Senyawa	Kandungan Senyawa	
		Serbuk	Ekstrak
1.	Alkaloid	+	+
2.	Saponin	+	-
3.	Tanin	+	+
4.	Flavonoid	+	+
5.	Steroid	+	+
6.	Terpenoid	-	-

Keterangan:

- (+) Terdapat kandungan kimia
- (-) Tidak terdapat kandungan kimia

Hasil Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bakteri berwarna ungu dan berbentuk batang (basil) sesuai karakter dari bakteri *Propionibacterium acnes* (Gambar 1). Warna ungu yang terbentuk pada proses identifikasi disebabkan oleh dinding sel yang dimiliki oleh bakteri uji. Bakteri Gram positif diketahui banyak mengandung peptidoglikan sehingga kristal violet yang masuk tertahan dan tidak dapat dicuci oleh etanol 96% (Gram C) (Pratiwi, 2008).

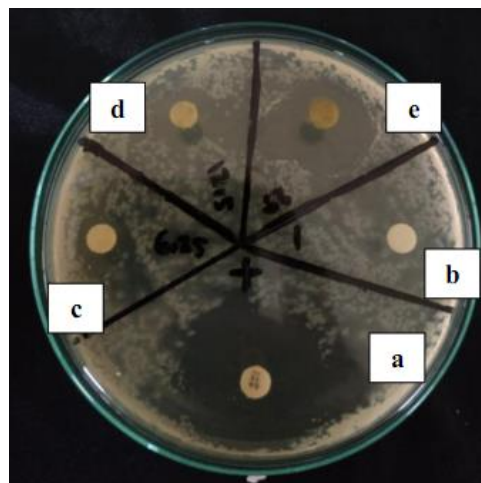
Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat kulit buah kawista dengan metode difusi cakram terhadap *P. acnes* menunjukkan ada zona hambat pada masing-masing konsentrasi. Ekstrak dengan konsentrasi 6,25%, 12,50% dan 25% menunjukkan nilai diameter daya hambat (DDH) sebesar 9,95 mm; 11,83 mm dan 15,70 mm (Tabel 2). Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka nilai DDH yang dihasilkan akan semakin besar. Kategori daya hambat ekstrak terhadap *P. acnes* pada masing-masing konsentrasi menunjukkan daya antibakteri sedang hingga kuat (Rahmah *et al.*, 2017).

Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak dan sebagai pembanding kontrol negatif yaitu aquadest steril, kontrol negatif bertujuan untuk membuktikan bahwa aquadest yang digunakan tidak mempunyai aktivitas terhadap bakteri uji. Klindamisin sebagai kontrol positif dipilih karena diketahui merupakan antibiotik paling efektif terhadap bakteri penyebab jerawat seperti *Propionibacterium acnes* jika dibandingkan dengan antibiotik lain. Hasil menunjukkan bahwa aquadest tidak menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes*, sedangkan klindamisin mampu menghambat dengan nilai DDH sebesar 24,10 mm yang masuk dalam kategori sangat kuat (Tabel 2) (Rahmah *et al.*, 2017).

Tabel 2. Hasil pengukuran Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil asetat Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*

Bakteri Uji	Konsentrasi Bahan Uji	Diameter Daya Hambat (DDH) (mm)			Rata-rata	Keterangan (Rahmah <i>et al.</i> , 2017)
		Ulangan				
		1	2	3		
<i>Propionibacterium acnes</i>	6,25%	10,00	9,90	9,95	9,95	Sedang
	12,50%	11,80	12,20	11,50	11,83	Kuat
	25%	15,50	17,10	14,50	15,70	Kuat
	(+)	24,50	24,70	23,10	24,10	Sangat Kuat
	(-)	0	0	0	0	-
Keterangan	: Kontrol (+) Klindamisin Kontrol (-) Aquadest steril					



Gambar 2. Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil asetat Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) terhadap *Propionibacterium acnes* (a) : Kontrol (+); (b) : Kontrol (-); (c) : 6,25%; (d) : 12,50%; (e) : 25%

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat kulit buah kawista (*Limonia acidissima* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 6,25%, 12,50% dan 25% dengan nilai DDH sebesar 9,95 mm; 11,83 mm dan 15,70 mm.

SARAN

Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap uji kadar hambat minimum (KHM) ekstrak etil asetat kulit buah kawista terhadap *P.acnes*.

DAFTAR PUSTAKA

- Gemasih, M., Djufri, & Supriatno. (2017). Pemanfaatan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*, 2(1), 78–89
- Gangga, E., Rani, P., Yunahara, F., Kartiningih. (2017). Penetapan Parameter Mutu Ekstrak yang Memiliki Aktivitas sebagai Antioksidan dari Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* (L.) Miers.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 15(2), 236-243.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Kedua). Bandung: ITB.
- Hartati & Halifah, P. (2018). Perbedaan Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Lada (*Piper nigrum* L.) terhadap Aktivitas Antimikroba. *Jurnal Sainsmat*, 8(1),1-7.
- Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1), 67–78. <https://doi.org/10.24042/biosfer.v10i1.4102>
- Kusuma, I. M. (2016). Potensi Antibakteri Senyawa Etil Para Metoksi Sinamat Terhadap Bakteri Jerawat. *Journal Sainstech Farma*, 9 (1), 35-40.
- Kusuma, I. M., Veryanti, P. R., Tri, E., & Saragih, D. (2019). Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima*) Sebagai Anti Asam Urat Secara In Vivo Pada Mencit Jantan In Vivo Study on Methanol Extract of Kawista Fruit (*Limonia acidissima*) Rind as Anti-Uric Acid in Hyperuricemia Male Mice. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 12(2), 65–69.
- Miratunnisa, Mulqie, L., & Hajar, S. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Kentang (*Solanum tuberosum* L.) terhadap *Propionibacterium*. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*, 513.
- Pandey, S., Satpathy, G., & Gupta, R. K. (2014). Evaluation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of exotic fruit "*Limonia acidissima*". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*, 3(32), 81–8881.
- Pratiwi, T, S. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Rahmah, R., Bahar, M., & Harjono, Y. (2017). Uji Daya Hambat Filtrat Zat Metabolit *Lactobacillus plantarum* Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 5(1), 34–41. <https://doi.org/10.24252/bio.v5i1.3431>
- Rahmi, H., & Rahmadewi, R. (2020). Aktivitas Antioksidan Daun dan Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L) Asal Kabupaten Karawang. *Tjybjb.Ac.Cn*, 12(1), 118–122.
- Veryanti, P.R, & Kusuma, I. M. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima*) terhadap *Escherichia coli*. 8(8), 121-128
- Sibero, H. T., Putra, I. W. A., & Anggraini, D. I. (2019). Tatalaksana Terkini Acne Vulgaris Current Management of Acne Vulgaris. *JK Unila*, 3(2), 313–320.
- Supriatno, & Rini, A. A. (2018). Uji Fitokimia Dan Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) Pada Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*, (2014), 505–511.
- Yanti, Y. N., & Mitika, S. (2017). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Sina*, 2(1), 158–168.