BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Jeruk BW (*Citrus reticulata* Blanco*)*

Jeruk (Citrus sp.) adalah tanaman tahunan berasal dari Asia, terutama Cina. Sejak ratusan tahun yang lampau, tanaman ini sudah terdapat di Indonesia, baik sebagai tanaman liar maupun sebagai tanaman di pekarangan (Pracaya, 2009). Tanaman jeruk merupakan komoditas buah-buahan yang termasuk kedalam jenis tanaman yang sangat dibutuhkan manusia untuk pemenuhan gizi yang seimbang sebagai sumber vitamin, mineral dan protein yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh (Rizal & Sriwulan, 2015).

Provinsi Lampung memiliki buah lokal khas yaitu buah jeruk. Berdasarkan catatan Kementrian Pertanian Balai Penelitian Tanah pada tahun 2018, Lampung menghasilkan jeruk yang disebut jeruk BW oleh masyarakat lampung. Jeruk BW (*Citrus reticulata* Blanco) termasuk dalam kelompok jeruk keprok terigas yang memiliki rasa manis asam yang khas. Buah jeruk BW (*Citrus reticulata* Blanco) yang banyak dibudidayakan di Propinsi Lampung merupakan salah satu produk unggulan daerah yang sangat potensial untuk dikembangkan. Tahun 2018 Lampung memiliki kebun jeruk BW dengan luas 427 ha dengan produktivitas 46,25 t/ha serta produksi sebesar 19.737 ton.

Sumber : Rukmana, 2006

Gambar 2.1 Buah Jeruk BW

a. Klasifikasi Ilmiah Jeruk :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Mafnoliopsida
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Rutaceae
Marga	: Citrus
Jenis	: *Citrus reticulata* Blanco (Cronquist, 1981)

b. Morfologi Jeruk BW

Jeruk adalah pohon berbunga yang selalu hijau. Ketinggian pohon jeruk pada umumnya 9-10 m (meskipun spesimen yang tua mencapai 15 m). Pohon jeruk memiliki kulit batang yang tipis, halus, dan berwarna abu-abu coklat kehijauan. Panjang daun 4-10 cm diatur bergantian, berbentuk bulat telur dengan margin *crenulate* (Milind dan Dev, 2012). Tajuk pohonnya tidak beraturan seperti bola atau ada yang seperti tiang, bercabang banyak dan rindang, dahannya kecil terpencar-pencar, berdaun tunggal agak kecil yang bertangkai pendek seperti bertulang berwarna hijau tua dan mengkilat bagian bawah daun berwarna hijau muda. Bunga majemuk yang terletak di ketiak daun atau di ujung cabang, batang daun kecil-kecil berbau harum tangkainya pendek, daun pelindung kecil, kelopak daun berbentuk cawan dan bulat telur. Benang sarinya berjumlah 18-23, buahnya agak besar dan bertangkai pendek menggantung berwarna hijau tua sampai hijau kekuningan atau kuning orange mengkilat licin penuh dengan pori-pori, sedikit berbau harum, daging buahnya banyak mengandung air berwarna orange berbau enak dan rasanya manis atau asam manis, tiap-tiap ruas berisi banyak biji yang berbentuk bulat telur keping bijinya berwarna hijau kuning (Martasari, 2005).

d. Kandungan Jeruk BW

Jeruk mengandung banyak zat yang berguna seperti liminoids, synephrine, hesperidin flavonoid, polyphenols, pectin, dan sejumlah folacin, calcium, potassium, thiamine, niacin and magnesium. Bahan aktif biologis ini berperan penting dalam mencegah arteriosklerosis, kanker, batu ginjal, sehingga kesehatan terjaga (Etebu et al., 2014).

Limonoid dapat mengubah permea- bilitas membran sel dan menghilangkan ion-ion dalam sel. Minyak atsiri bersifat lipofilik yang dapat melewati dinding bakteri karena dinding bakteri terdiri atas polisakarida, asam lemak, dan fosfolipid. Hal ini dapat mengakibatkan kerusakan dinding sel sehingga dapat membunuh bakteri (Kadek, 2020)

Jeruk Keprok merupakan sumber yang kaya akan flavonoid seperti flavanones, flavones, dan flavonols (Gattuso, 2007). Selain buahnya kulit jeruk juga banyak mengandung senyawa fitokimia. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L*) mengandung empat metabolit sekunder yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin (Agung, 2020).

Tabel 2.1 Hasil skrining fitokimia kulit jeruk

Golongan Senyawa	Fitokimia
Flavonoid	+
Saponin	+
Alkaloid	+
Tanin	+

(Sumber : Agung, 2020)

Keterangan : (-) Tidak mengandung senyawa, (+) Mengandung senyawa

Kandungan kimia kulit jeruk yang memiliki aktivitas antibakteri dan bermanfaat dalam pengobatan, antara lain terdiri atas:

1) Flavonoid

Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi DNA girase sehingga kemampuan replikasi bakteri dihambat, senyawa ini kontak dengan DNA pada inti sel bakteri, adanya perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid menyebabkan kerusakan struktur lipid DNA bakteri sehingga bakteri akan lisis dan mati (Agung, 2020).

2) Saponin

Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan sel bakteri sehingga terjadi kebocoran sel bakteri dan mengakibatkan keluarnya senyawa intraseluler. Saponin akan berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan

mengurangi kestabilan sel bakteri. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian bakteri (Kadek, 2020).

3) Alkaloid

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Rachmawaty, 2016).

4) Tanin

Tanin memiliki mekanisme mengkoagulasi dan mendenaturasi protein. Tanin berikatan dengan protein membentuk ion H+ dan mengakibatkan pH menjadi asam sehingga protein terdenaturasi. Kondisi asam menginaktif enzim pada bakteri dan menyebabkan metabolisme terganggu dan kerusakan sel bahkan kematian. Tanin dapat menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase, sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Narulita, 2017).

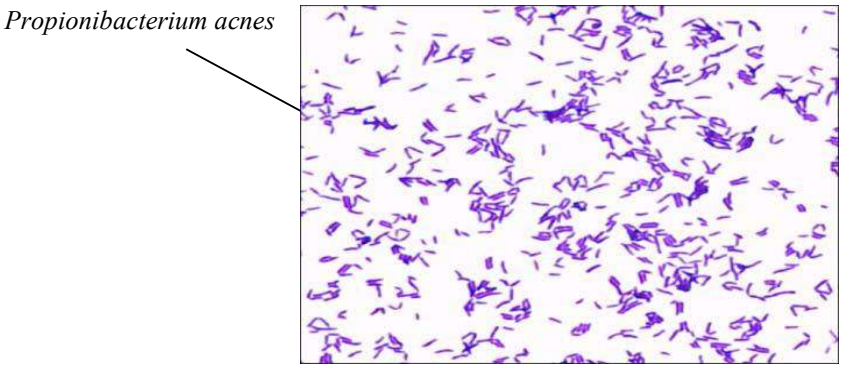
2. Bakteri *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes merupakan bakteri anaerob yang sering ditemukan pada *Akne vulgaris*. Bakteri ini merupakan flora normal pada kulit dan bersifat gram positif. *Propionibacterium acnes* mampu merusak stratum corneum dan germinat pada kulit. Bakteri *Propionibacterium acnes* menggunakan sebum yang diproduksi di folikel sebagai sumber utama makanan, dengan menggunakan enzim khusus, bakteri ini menghasilkan asam lemak bebas melalui hidrolisis trigliserida kelenjar sebasea oleh lipasenya. Asam lemak ini dapat mengakibatkan inflamasi jaringan ketika berhubungan dengan sistem imun dan mendukung terjadinya *Akne vulgaris* (Kadek, 2020).

a. Taksonomi *Propionibacterium acnes*

Kingdom : Bacteria
Divisi : Actinobacteria
Kelas : Actinomycetales
Ordo : Propionibacterineae
Famili : Propionibacteriaceae
Genus : Propionibacterium

Species : *Propionibacterium acnes* (Irianto, 2013).



Sumber : Atlas of Medical Bacteriology, 2015

Gambar 2.2 Bakteri *Propionibacterium acnes* dengan perbesaran 1000x, pewarnaan gram, berbentuk basil, susunan menyebar, berwarna ungu, bersifat gram positif (+)

b. Morfologi dan Identifikasi *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes adalah bakteri gram positif yang memiliki bentuk sel batang, panjang bervariasi antara 1-1,5 µm, nonmotil, tidak membentuk spora dan dapat tumbuh di udara dan memerlukan oksigen mulai dari aerob atau anaerob fakultatif sampai ke anaerob. (Narulita, 2017).

c. Sifat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes membentuk koloni terutama di kelenjar minyak dan folikel rambut kulit manusia. Sifat pertumbuhan bakteri ini secara anaerob dan PH yang cocok untuk pertumbuhan bakteri ini berkisar antara 6,0-7,0. Suhu optimal untuk pertumbuhan antara 30^{o}C-37^{o}C (Achermann; *et al*, 2014).

d. Penyakit akne vulgaris

Akne vulgaris merupakan kondisi abnormal kulit akibat terjadi gangguan berlebihan produksi kelenjar minyak (*sebaceous gland*) sehingga terjadi penyumbatan pada saluran folikel rambut dan pori-pori kulit. Predileksi akne vulgaris biasanya terdapat pada permukaan kulit muka, bagian dada dan atas lengan (Trisuci, 2020).

e. Epidemiologi penyakit akne vulgaris

Prevalensi Prevalensi penderita *Akne vulgaris* di Indonesia terus meningkat, tahun 2006 sebanyak 60%, tahun 2007 sebanyak 80%, dan tahun 2009 sebanyak 90%. Prevalensi penderita *Akne vulgaris* di Indonesia berkisar 80-85% pada remaja dengan puncak insidens usia 15-18 tahun, 12% pada usia >25 tahun dan 3% pada usia 35-44 tahun (Afriyanti, 2015).

f. Manifestasi Klinis penyakit *Akne vulgaris*

Lesi utama *Akne vulgaris* adalah mikrokomedo, atau mikrokomedone, yaitu pelebaran folikel rambut yang mengandung sebum dan *Propionibacterium acnes*. Sedangkan lesi acne lainnya dapat berupa papul, pustul, nodul, dan kista pada daerah predileksi acne yaitu pada wajah, bahu, dada, punggung, dan lengan atas. Komedo yang tetap berada di bawah permukaan kulit tampak sebagai komedo *white head*, sedangkan komedo yang bagian ujungnya terbuka pada permukaan kulit disebut komedo *black head* karena secara klinis tampak berwarna hitam pada epidermis. *Scar* dapat merupakan komplikasi dari acne, baik acne non-inflamasi maupun inflamasi (Afriyanti, 2015).

Propionibacterium acnes dapat menyebabkan terjadinya *Akne vulgaris* atau jerawat. Derajat *Akne vulgaris* dapat dikelompokkan berdasarkan tipe dan jumlah lesi menjadi ringan, sedang, berat bahkan sangat berat berdasarkan tabel berikut :

Tabel 2.2 Klasifikasi derajat akne vulgaris

Derajat	Komedo	Papul /pustule	Nodul, kista, sinus	Inflamasi	Jaringan Parut
Ringan	<10	<10	-	-	-
Sedang	<20	>10-50	-	+	+
Berat	>20-50	>50-100	$\leq$ 5	++	++
Sangat berat	>50	>100	$\geq$ 5	+++	+++

(Sumber : Wasitatmaja, 2014).
Keterangan : (-) tidak ada, (+) bisa ditemukan, (+) ada, (++) cukup banyak, (+++) banyak sekali

3. Ekstrak

a. Simplisa

Simplisia adalah bahan alam yang dikeringkan, biasanya digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Proses penyiapan simplisia yang akan dibuat ekstraksi meliputi tahapan sortasi, pencucian, pengirisan, perajangan, dan pengeringan (Kepmenkes, 2017).

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut:

1. Pengumpulan bahan baku: kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.
2. Sortasi basah: Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya.
3. Perajangan
4. Pengeringan: dapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia.
5. Sortasi kering: tujuannya untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.
6. Pengepakan
7. Penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Agoes, 2009).

Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (Gunawan, 2010).

1. Simplisia Nabati

   Simplisa nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, atau bagian tanaman (Gunawan, 2010).
2. Simplisia Hewani

   Simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan (Gunawan, 2010).

3. Simplisia Mineral

Simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau yang telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan, 2010).

Pembuatan simplisia bahan baku berupa kulit jeruk diambil bagian kulit jeruknya saja . Kulit jeruk yang akan dibuat simplisianya dikeringkan terlebih dahulu dengan cara ditata di atas wadah berupa loyang dan dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari atau di oven pada suhu 50-60^0 C.

b. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Prinsip dasar ekstraksi adalah mengambil keuntungan dari kelarutan zat yang berbeda untuk diekstraksi. Campuran senyawa yang akan diekstraksi dilarutkan dalam pelarut. Pelarut yang digunakan memiliki kemampuan untuk melarutkan senyawa yang diinginkan (Mukhriani, 2014).

Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah :

a. Maserasi
b. Soklet
c. Perkolasi
d. Refluks
e. Infus
f. Destilasi uap

Metode yang paling banyak digunakan dan sederhana adalah maserasi. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2009).

c. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Maserasi yang dilakukan akan menyebabkan terjadinya proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel sehingga diperlukan pergantian pelarut secara berulang (Hanani, 2015). Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang

diekstrak tidak akan rusak (Pratiwi, 2008). Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Chairunnisa, 2019).

Metode maserasi ini dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

d. Hasil ekstraksi

Hasil ektraksi biasanya dipekatkan dengan cara penguapan (evaporasi). Evaporasi hasil ekstraksi yang masih mengandung banyak pelarut atau disebut juga proses pemekatan bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi senyawa lebih besar dan untuk memudahkan penyimpanan. Hasil akhir dari proses pemekatan adalah ekstrak yang lebih pekat (kental). Penguapan dapat bersifat parsial sehingga diperoleh ekstrak cair atau kental. Dalam proses pemekatan suhu yang digunakan sebaiknya tidak terlalu tinggi untuk mencegah peruraian senyawa dalam bentuk ekstrak (Hanani, 2015). Alat yang biasa digunakan dalam proses evaporasi adalah *Rotary evaporator*, alat ini akan menguapkan pelarut pada suhu 40^0C–50^0C dan dibantu dengan alat vakum udara sehingga titik didih pelarut lebih rendah. Penggunaan alat ini yang harus diperhatikan adalah jumlah bahan yang dipekatkan dan sifat kimia dari bahan yang dipekatkan. Keuntungan penggunaan alat ini adalah waktu yang dibutuhkan lebih cepat dan kemungkinan terjadinya penguraian senyawa yang termolabil dapat dihindari (Agoes, 2009).

4. Metode Pengujian Antibakteri

Metode pengujian daya antimikroba bertujuan untuk menentukan konsentrasi suatu zat antimikroba sehingga memeperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat dua metode untuk menguji daya antimikroba, yaitu dilusi dan difusi (Pratiwi, 2008) .

a. Metode Difusi

Prinsip kerja metode difusi adalah terdifusinya senyawa antimikroba ke dalam media padat di mana mikroba uji telah diinokulasikan. Pada metode ini, aktivitas zat antibakteri ditentukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk. Zona hambat tersebut menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh zat antibakteri. Terdapat 3 cara dalam metode difusi, yaitu :

1. Metode Parit (*ditch plate*)

   Metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

2. Metode Lubang (*healtley cup/punched hole*)

   Pada metode ini serupa dengan metode *disc diffusion* dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

3. Metode cakram *disc* (*disc diffusion*)

   Metode cakram cara kirby bauer banyak digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri. Metode ini adalah piringan yang berisi agen mikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut area jernih mengindikasikan adanya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

b. Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antimikroba. Medium diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi. Tujuannya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antifungi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh jamur yang diuji. Uji kerentanan metode dilusi membutuhkan waktu yang banyak, dan kegunaannya terbatas pada keadaan-keadaan tertentu. Keuntungan metode dilusi adalah uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Jawetz dkk, 2008). Metode ini dapat menentukan (KHM) Kadar Hambat Minimal dan (KBM) Kadar Bunuh Minimal (Yanti, 2019).

Metode dilusi ini terbagi menjadi beberapa cara, yaitu :

1. Metode Dilusi Padat

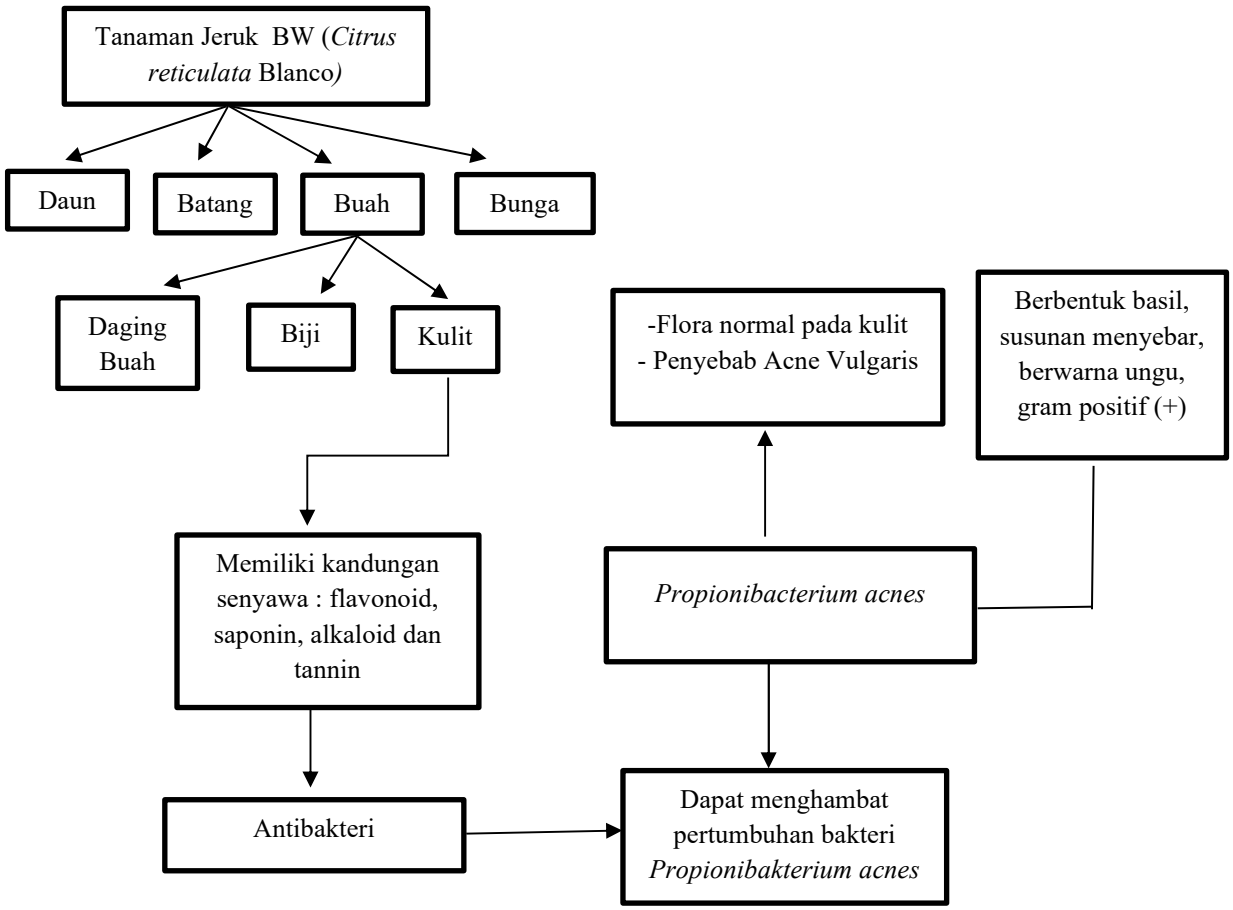
   Pada metode ini, bahan yang diuji digabungkan ke dalam agar dan kemudian ditanamkan bakteri dipermukaannya sehingga akan memerlukan media agar sesuai jumlah pengenceran bahan yang diuji. Agar tersebut kemudian diinkubasi dalam 24 jam atau lebih kemudian pertumbuhan bakteri pada campuran ekstrak-agar dapat dihitung. Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KHM dan konsentrasi terendah yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KBM. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji dan dapat digunakan untuk spesies bakteri yang tidak dapat tumbuh pada media perbenihan cair seperti *Neisseria gonorrhoeae* (Pratiwi, 2008).

2. Metode Dilusi Cair (*Broth dilution*)

   Metode ini menggunakan zat antibakteri yang diencerkan beberapa kali terlebih dahulu. Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam berbagai konsentrasi zat antibakteri yang akan diuji pada suatu media cair. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35^0C, diamati pertumbuhan bakteri dengan melihat kekeruhan cairan (Pratiwi, 2008).

Metode dilusi cair dapat dilakukan secara manual atau menggunakan alat otomatis seperti vitex, phoenix, sensititre. Metode dilusi cair secara manual dianggap kurang efektif dan efisien karena dalam persiapannya di laboratorium memerlukan banyak waktu dan tenaga serta kemungkinan tingkat kesalahannya lebih tinggi. Pada metode dilusi cair dengan alat otomatis mempunyai tingkat kepercayaan yang cukup baik, namun perlu dipertimbangkan dari sisi biaya, efisiensi dan efektifitas aplikasinya dilapangan, mengingat mahalnya alat otomatis (Kambang, 2019).

B. Kerangka Teori



C. Kerangka Konsep

Variabel bebas	Variabel Terikat
Ekstrak kulit jeruk BW *(Citrus reticulata* Blanco*)* dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%.	→ Menghambat pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827

D. Hipotesis

H_1 : Terdapat pengaruh antibakteri ekstrak ekstrak kulit jeruk BW *(Citrus reticulata* Blanco*)* terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11287.