

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mulut merupakan saluran utama pencernaan manusia. Fungsi dari mulut adalah menghancurkan makanan agar mudah dicerna di dalam tubuh. Mulut adalah tempat ideal berkembangbiaknya berbagai macam mikroorganisme. Penyakit pada mulut yang sering menyerang manusia adalah peradangan amandel dan tenggorokan atau radang mulut (faringitis). Penyakit mulut sangat berhubungan erat dengan kebersihan mulut (Sabrina, 2015).

Bakteri *Streptococcus pyogenes* merupakan salah satu bakteri yang hidup pada flora normal mulut dan tenggorokan manusia yang dapat berubah menjadi bakteri patogen apabila kekebalan tubuh manusia menurun. *Streptococcus pyogenes* dapat menyebabkan infeksi supuratif seperti tonsilitis, impetigo dan penyakit invasif seperti infeksi tulang, radang otot, serta meningitis (Cunningham, 2000). *Streptococcus pyogenes* dapat menyerang saluran pernafasan atas sehingga timbulnya infeksi pada daerah belakang langit-langit dan amandel yang dapat mengakibatkan kesulitan menelan makanan (CDC, 2013).

Pemanfaatan tanaman obat atau bahan obat yang berasal dari alam pada umumnya bukan merupakan hal baru dalam kehidupan manusia. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). Buah jeruk nipis mempunyai efek farmakologis sebagai anti demam, mengurangi batuk, sebagai antiseptik untuk obat kumur pada penderita sakit tenggorokan atau abses tenggorokan dan penyegar nafas (Hariana, 2006). Limonen merupakan salah satu

komponen senyawa di dalam minyak atsiri yang bermanfaat sebagai antibakteri. Senyawa tersebut banyak di temukan dalam kulit jeruk yang berfungsi sebagai pemberi aroma yang khas pada tanaman. Limonen banyak digunakan dalam industri makanan maupun industri kosmetika sebagai bahan baku *flavor* (Ismanto dan Wilianto, 2010). Dalam kehidupan sehari-hari, kulit buah jeruk biasanya hanya dibuang dan sarinya yang dimanfaatkan untuk diolah menjadi berbagai macam produk. Salah satu upaya yang bisa dilakukan adalah memanfaatkan kulit buah jeruk untuk keperluan kesehatan dan lainnya untuk mengurangi limbah kulit jeruk (Sukarmin dan Ihsan, 2008).

Minyak atsiri tersusun atas senyawa yang mudah menguap (*volatile oils*) dan beraroma khas yang diambil dari bagian-bagian seperti daun, buah, bunga, biji, kulit, akar, batang, serta rimpang tanaman sehingga diperlukan cara khusus untuk memperoleh minyak atsiri (Rusli, 2010; Effendi dan Wijanarko, 2014). Menurut Ketaren (1990), cara yang dilakukan untuk mendapatkan minyak atsiri adalah dengan metode destilasi uap-air (*steam-water destilation*), destilasi dengan air (*water destilation*) atau dengan destilasi uap (*steam destilation*).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Putri (2012) mengenai pemeriksaan kandungan senyawa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung pada minyak atsiri kulit buah jeruk nipis sebagai antibakteri adalah golongan terpenoid. Minyak atsiri diperoleh dengan metode destilasi uap-air. Minyak atsiri yang didapat kemudian dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 5%, 2,5%, 12,5%, 0,625%, dan 0,3125%. Uji aktivitas dilakukan dengan metode pengenceran ganda (dilusi cair). Hasil penelitian tersebut menunjukkan minyak atsiri kulit buah jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne*

dengan kadar hambat dan kadar bunuh minimum sebesar 1,25%. Dari analisis menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa diketahui kandungan senyawa antibakteri dari minyak atsiri kulit buah jeruk nipis adalah senyawa β -Pinena, limonen, Z-citral, β -mirsene, dan E-sitral.

Penelitian terdahulu lainnya oleh Sari, Masfiah dan Chodijah (2012) mengenai uji efektivitas aromaterapi ekstrak kulit jeruk nipis terhadap jumlah bakteri udara menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis dengan konsentrasi 100% dapat mengurangi jumlah bakteri di udara ruang ICU Rumah Sakit Islam Sutan Agung Semarang. Hal tersebut dikarenakan aromaterapi ekstrak kulit jeruk nipis mengandung minyak atsiri beserta komponen senyawa lainnya seperti limonen, linalool dan mirsen di dalamnya yang dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Beberapa contoh bakteri yang terdapat di udara adalah *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Enterobacter sp.* yang tidak boleh berada diruang ICU Rumah Sakit.

Penelitian lain oleh Vajriana (2013) mengenai aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk nipis yang diperoleh menggunakan metode destilasi uap dan air. Minyak atsiri kemudian diencerkan menggunakan Tween 80 sehingga tercapai konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60% dan 70%. Berbagai konsentrasi minyak atsiri serta amoksisilin 30 μ g sebagai kontrol positif kemudian diuji aktivitas antibakterinya menggunakan kertas cakram (metode Kirby Bauer). Hasil penelitian diamati dengan terbentuknya Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) di sekitar cakram. Hasil penelitian tersebut menunjukkan minyak atsiri kulit buah jeruk nipis memiliki pengaruh yang nyata dalam menghambat pertumbuhan isolat *Staphylococcus aureus* seiring dengan besarnya konsentrasi yang digunakan

dalam pengujian, dimana konsentrasi optimalnya pada konsentrasi 60% dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 20,00 mm.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Laksa (2015) mengenai kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Salmonella typhi*. Minyak atsiri pada penelitian ini diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan metode destilasi uap dengan dietil eter kemudian diencerkan dengan PEG sehingga tercapai konsentrasi 0,025%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6%, dan 3,2%. Penelitian ini hanya dapat menghasilkan kadar bunuh minimum dengan konsentrasi 3,2% dengan jumlah bakteri yang tumbuh kurang dari 0,1% jumlah koloni pada inokulum awal sedangkan kadar hambat minimum tidak dapat ditentukan karena minyak atsiri yang dihasilkan dari metode destilasi menggunakan dietil eter berwarna keruh.

Penelitian yang sama mengenai kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum minyak atsiri kulit jeruk nipis dilakukan oleh Satria (2015) terhadap isolat klinis *Candida albicans*. Minyak atsiri diperoleh menggunakan metode destilasi uap-air menghasilkan minyak atsiri dengan konsentrasi 100%. Konsentrasi minyak atsiri tersebut kemudian diencerkan dengan akuades steril dan agen pengemulsi Tween 80 sehingga tercapai konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 4% dan 8%. Penelitian ini berdasarkan metode protokol CLSI M27-A2 yaitu dengan pengenceran menggunakan media. Hasil penelitian didapatkan dengan membaca absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi selama 48 jam dengan spektrofotometer dan pengamatan secara visual. Hasil penelitian tersebut menunjukkan minyak atsiri kulit jeruk nipis memiliki kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum dengan konsentrasi 4% dari berbagai konsentrasi uji lainnya terhadap bakteri uji.

Minyak atsiri kulit buah jeruk nipis kaya akan kandungan senyawa monoterpen, salah satunya yaitu limonen. Minyak atsiri dapat diisolasi menggunakan metode destilasi air (hidrodestilasi) menghasilkan minyak atsiri dengan konsentrasi 100%. Minyak atsiri kulit buah jeruk nipis dengan konsentrasi 100% mengandung limonen sebesar 33,33% yang mempunyai aktivitas antibakteri dengan nilai $LC_{50} = 233,71$ ppm pada uji toksisitas menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan dengan nilai $LC_{50} = 719,87$ ppm pada uji insektisida menggunakan larva nistar III nyamuk *Aedes aegypti*. Suatu senyawa dikatakan aktif dengan konsentrasi maksimal 1000ppm, jika memiliki harga $LC_{50} \leq 500$ ppm dan dikatakan tidak aktif jika memiliki harga $LC_{50} > 500$ ppm sedangkan senyawa murni dikatakan aktif dan mempunyai sifat bioaktifitas jika memiliki harga $LC_{50} \leq 50$ ppm dan tidak aktif jika $LC_{50} > 200$ ppm (Astarini, Burhan dan Zetra, 2010; Meyer dan Ferrigini, 1982).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Hajati (2015) mengenai pengaruh konsentrasi air perasan jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* menggunakan metode difusi cakram. Air perasan jeruk nipis diperoleh dengan cara memeras buah jeruk nipis kemudian disaring. Hasil pemerasan buah jeruk nipis tersebut menghasilkan air perasan dengan konsentrasi 100%. Air perasan jeruk nipis kemudian diencerkan dengan akuades steril sehingga tercapai konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100%. Hasil penelitian menunjukkan Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) yang semakin besar seiring kenaikan konsentrasi dengan senyawa pembandingnya yaitu levofloxacin.

Sejauh ini terdapat banyak literatur yang mencantumkan aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk nipis terhadap berbagai macam bakteri. Peneliti tertarik untuk menguji minyak atsiri yang terdapat dalam kulit buah jeruk nipis terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. Perbedaan

penelitian ini dengan penelitian yang lainnya yaitu pengisolasian minyak atsiri kulit buah jeruk nipis menggunakan metode destilasi uap-air (*steam – water destilation*) dengan alat destilasi Stahl. Minyak atsiri yang telah terisolasi kemudian dilarutkan dengan larutan campuran DMSO (dimetilsulfoksida) 10% dan Tween 80 0,5% sehingga tercapai konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Berbagai konsentrasi minyak atsiri tersebut kemudian ditentukan aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion*). Penelitian ini menggunakan pembanding antibiotik amoksisilin dengan konsentrasi 4 mg/ml sebagai kontrol positif dikarenakan amoksisilin merupakan antibiotik yang sering digunakan untuk mengobati kasus radang tenggorokan yang disebabkan oleh *Streptococcus pyogenes* (Finch *et al.*, 2010). Aktivitas antibakteri diketahui dari terbentuknya Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) disekitar sumuran yang diukur menggunakan jangka sorong.

Penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) dalam menghambat dan membunuh bakteri *Streptococcus pyogenes*. Penentuan KHM dan KBM diperlukan untuk melihat besarnya aktivitas antibakteri dari minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap bakteri penyebab radang tenggorokan. Pada penelitian ini dilakukan pula uji penegasan KBM dengan metode dilusi padat (*Streak Plate*) dan uji analisis senyawa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan senyawa pembandingnya yaitu minyak atsiri dari buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) kemudian dideteksi menggunakan sinar ultraviolet 254 nm atau 366 nm dan penampak bercak vanilin sulfat.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100% mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes* ?
2. Berapa Kadar Hambat Minimum (KHM) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap *Streptococcus pyogenes* ?
3. Berapa Kadar Bunuh Minimum (KBM) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap *Streptococcus pyogenes* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang masalah, penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap *Streptococcus pyogenes*.
2. Mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap *Streptococcus pyogenes*.
3. Mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap *Streptococcus pyogenes*.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes*.
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap *Streptococcus pyogenes* dapat diketahui.
3. Kadar Bunuh Minimum (KBM) minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap *Streptococcus pyogenes* dapat diketahui.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian tersebut diharapkan dapat memberi pengetahuan kepada masyarakat tentang pemanfaatan limbah kulit buah jeruk nipis agar dapat dikembangkan lebih luas. Penelitian ini juga memberi informasi bahwa minyak atsiri dalam kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) dapat mencegah tumbuhnya bakteri penyebab radang tenggorokan.