

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA FRAKSI DAUN JERUK LEMON (*Citrus limon* (L.) Osbeck) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Siti Rachmawati¹, Winda Oktima², Pangeran Andreas^{3*}

¹Program Studi S1 Farmasi STIKes Bani Saleh, Bekasi

²Program Studi S1 Farmasi STIKes Bani Saleh, Bekasi

³Program Studi S1 Farmasi Universitas Pelita Harapan, Karawaci

*Corresponding author: pangeran.andreas@uph.edu

Abstract

Infection is a condition where the entry of microorganisms into the body's tissues, multiplies and causes disease in the form of disruption of body functions. Lemon leaves (Citrus limon (L.) Osbeck) are plants that have the potential to have antimicrobial power in the presence of bioactive compounds. The purpose of this study was to determine the antimicrobial activity of lemon fraction against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Ethyl acetate fraction is more effective in inhibiting bacteria, compared to ethanol and n-hexane extract based on preliminary tests conducted. Disk diffusion antimicrobial activity test (Kirby-Bauer) was used at a concentration of 5% the ethyl acetate fraction effectively inhibited Staphylococcus aureus bacteria with a diameter of inhibition zone was 12.3 mm while the Escherichia coli bacteria was 8.7 mm at a concentration of 25%. The results of data analysis using One-Way ANOVA (analysis of variance) showed a significant difference based on variations in concentration in inhibiting Staphylococcus aureus and Escherichia coli.

Keywords: *Lemon leaves, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, antimicrobial*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi menjadi salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Menurut WHO (2011), tahun 2011 terdapat 25 juta kasus kematian di dunia dan sepertiganya disebabkan oleh penyakit infeksi. Penyakit infeksi juga masih merupakan penyakit yang paling banyak diderita oleh negara berkembang, termasuk Indonesia. Berdasarkan survei DepKes RI (2007), penyebab utama kematian manusia antara lain 28,1% disebabkan oleh penyakit infeksi dan parasit, 18,9% disebabkan oleh vascular, dan 15,7% disebabkan oleh penyakit pernafasan. Beberapa mikroorganisme yang menyebabkan penyakit infeksi merupakan flora normal yang ada di dalam tubuh makhluk hidup, yang bisa bersifat patogen

ketika berada diluar habitat normalnya, mikroorganisme demikian disebut *patogen oportunistik* (Diba, 2015).

S. aureus dan *E. coli* merupakan beberapa jenis flora normal yang ada di dalam tubuh manusia yaitu pada kulit, mukosa, hidung, mulut, dan usus besar. *S. aureus* adalah bakteri Gram Positif yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit, keracunan makanan, pneumonia, meningitis, dan edokarditis. *E. coli* adalah bakteri Gram Negatif yang bersifat anaerob fakultatif dan dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, diare, *gastroenteritis*, *meningitis neonates*, dan sindrom *uremik hemolitik*. Penanganan penyakit infeksi dapat diobati menggunakan antimikroba salah satunya adalah antibiotik (Radji, 2018).

Upaya pencarian antimikroba yang aman dan alami dapat dilakukan dengan memanfaatkan bahan bioaktif dan senyawa antimikroba alami yang terkandung dalam tanaman. Salah satu tanaman yang sering digunakan adalah jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck). *C. limon* (L.) Osbeck sering digunakan masyarakat sebagai bahan masakan, selain itu juga bermanfaat sebagai obat nyeri, menurunkan demam, dan obat saluran pencernaan (Batubara, 2017). Penelitian Maya *et al.*, (2017), melaporkan bahwa ekstrak daun jeruk sambal memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. aureus*, *Salmonella thypi*, *Bacillus subtilis*, dan *E. coli* pada konsentrasi 50%. Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan diatas, penulis tertarik untuk meneliti lebih lanjut tentang aktivitas antimikroba dari fraksi ekstrak daun *C. limon* (L.) Osbeck terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi Sampel

Simplisia daun *C. limon* (L.) Osbeck ditimbang sebanyak 1300 gr, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan etanol sebanyak 13 L ke dalam toples kaca dan tertutup rapat. Lalu diaduk dan didiamkan selama 3 hari dan sehari sekali dilakukan pengocokan. Setelah 3 hari kemudian

disaring dengan menggunakan kertas saring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kental (Mayasari dan Laoli, 2018).

Uji Penapisan Fitokimia

1. Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak daun *C. limon* (L.) Osbeck ditimbang sebanyak 0,5 gr kemudian ditambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air suling, setelah itu dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, lalu didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda masing-masing sebanyak 0,5 ml untuk uji alkaloid. Pada tabung pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, pada tabung kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner dan pada tabung ketiga ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Alkaloid menunjukkan hasil positif ketika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas (Depkes RI, 1995).

2. Pemeriksaan Fenol

Ekstrak daun *C. limon* (L.) Osbeck diambil sebanyak 3 tetes, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan metanol kemudian diaduk dan ditambahkan 5 tetes pereaksi FeCl₃ 3%. Hasil positif menunjukkan adanya senyawa fenol jika terjadi

perubahan warna menjadi warna hijau kebiruan atau biru gelap (Khoirani, 2013).

3. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak daun *C. limon* (L.) Osbeck, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk. Setelah itu ditambahkan 0,1 gr serbuk magnesium dan 3 tetes HCL pekat. Flavonoid menunjukkan hasil positif jika terjadi perubahan warna merah atau kuning atau jingga (Khoirani, 2013).

4. Pemeriksaan Saponin

Ekstrak daun *C. limon* (L.) Osbeck diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air panas sebanyak 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama \pm 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil dan tidak kurang dari 10 menit dan busa tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan hasil positif adanya saponin (Depkes RI, 1995).

5. Pemeriksaan Tanin

Ekstrak daun *C. limon* (L.) Osbeck diambil sebanyak 1 ml, dimasukkan ke dalam cawan, ditambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk, lalu ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Uji positif jika menghasilkan warna biru, biru-hitam, hijau kehitaman atau biru-hijau, dan endapan (Mandal dan Ghasal, 2012 dalam Khoirani, 2013).

6. Pemeriksaan Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak daun *C. limon* (L.) Osbeck diambil sebanyak 1 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 tetes CH_3COOH dan 2 tetes H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung, lalu dikocok perlahan. Jika menunjukkan warna hijau atau kebiruan maka positif mengandung steroid dan jika menunjukkan berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka positif mengandung triterpenoid (Khoirani, 2013).

Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi dilakukan dengan metode FCC (Fraksinasi Cair-Cair) dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Sebanyak 80 gr ekstrak etanol dilarutkan *aquadest* sebanyak 30 ml, dimasukkan ke dalam corong pisah dengan kran tertutup, kemudian ditambahkan 200 ml *n*-heksana kocok secara perlahan hingga homogen. Setelah terlihat lapisan larutan yang terpisah, kemudian fraksi *n*-heksana dipisahkan dari fraksi air dengan membuka kran corong pisah dan ditampung dalam Erlenmeyer. Fraksi *n*-heksana kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana kental. (Marcelinda dan Ridhay, 2016).

Pengujian Antimikroorganisme

Uji aktivitas antimikroba dalam penelitian ini menggunakan metode *Disc Diffusion (Test Kirby-Bauer)*. Sampel yang

akan diuji adalah ekstrak kental etanol, fraksi *n*-heksan dan etil asetat dengan konsentrasi yang telah ditentukan melalui uji pendahuluan pada masing-masing sampel uji. Suspensi *S. aureus* dan *E. coli* dimasukkan pada media *MHA* dalam cawan petri, kemudian digoreskan dengan kapas ulas steril di atas media uji. Media yang telah berisi bakteri uji kemudian dimasukkan kontrol positif, *disk* yang sebelumnya telah ditetesi larutan kontrol negatif, sampel uji ekstrak kental etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat dengan cara difusi agar. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian aktivitas antimikroba dikatakan positif ketika terdapat zona bening disekitar kertas cakram yang menandakan bebas pertumbuhan bakteri, jika dalam uji pendahuluan disekitar cakram tidak menunjukkan zona bening, maka perlu ditingkatkan konsentrasinya hingga diperoleh zona bening disekitar cakram (Diba, 2015).

Metode Analisis

Data yang diperoleh dari penelitian dilakukan analisis parametrik *One-Way ANOVA* (*Analysis of Variance*) dengan tingkat kepercayaan 95%. Metode *One-Way ANOVA* digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap diameter zona hambat dilihat dari nilai signifikan pada output

dengan menggunakan *Microsoft excel* 2010.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun *C. limon* (L.) Osbeck

Hasil ekstraksi diperoleh ekstrak kental berwarna hijau pekat dan aroma dari daun jeruk lemon yang khas dengan berat ekstrak sebesar 111,31 g, dan rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 8,5%. Hasil persentase rendemen ekstrak daun jeruk lemon lebih besar dibandingkan dengan hasil daun jeruk purut dari penelitian Sari dan Ayati (2018) dengan persentase rendemen 5,38%. Perbedaan persentase rendemen ini diduga disebabkan oleh beberapa faktor antara lain jenis spesies yang berbeda, lamanya proses perendaman saat ekstraksi, partikel simplisia yang terlalu besar atau jenis pelarut yang digunakan. Peramawati (2008) menyatakan bahwa besar kecilnya nilai persentase rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi. Efektivitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel simplisia, metode dan lamanya ekstraksi (Diba, 2015).

Uji Penapisan Fitokimia Daun *C. limon* (L.) Osbeck

Uji skrining fitokimia merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit yang ada di dalam ekstrak daun

C. limon (L.) Osbeck. Berdasarkan hasil skrining fitokimia senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun *C. limon* (L.) Osbeck meliputi alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan triterpenoid/steroid. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sapra *et al.*, (2018) menyatakan bahwa *C. limon* (L.) Osbeck mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, glikosid, triterpenoid/steroid, dan karbohidrat.

Fraksinasi Ekstrak Daun Jeruk Lemon

Hasil fraksinasi dari 80 gr ekstrak daun jeruk lemon diperoleh berat *n*-heksan sebanyak 6,83 gr, lebih besar dibandingkan fraksi etil asetat sebanyak 2,03 gr. Proses fraksinasi menyebabkan senyawa pada ekstrak akan terikat dengan pelarut yang sesuai dengan tingkat kepolarannya. Semakin polar sifat pelarutnya, maka akan semakin besar jumlah fraksi yang didapat (Hashim *et al.*, 2012).

Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Etil Asetat Daun *C. limon* (L.) Osbeck terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan, fraksi etil asetat lebih aktif dalam menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Fraksi etil asetat kemudian dilakukan penentuan seri konsentrasi untuk bakteri *S. aureus* sebesar 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, sedangkan untuk bakteri *E.*

coli sebesar 25%, 30%, 35%, 40%, dan 50%.

Hasil uji aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 25% dengan rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh sebesar 16,16 mm pada *S. aureus* dan zona hambat terkecil pada konsentrasi 5% dengan diameter zona hambat sebesar 12,3 mm, sedangkan pada bakteri *E. coli* zona hambat terbesar pada konsentrasi 50% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,57 mm dan zona hambat terkecil diperoleh sebesar 8,7 mm pada konsentrasi 25%. Semakin kecil konsentrasi, semakin kecil zona hambat yang terbentuk. Sesuai dengan pendapat (Salni *et al.*, 2013) menyatakan bahwa daya aktivitas fraksi menurun seiring dengan penurunan konsentrasi, sehingga diameter yang terbentuk semakin kecil.

Etil asetat merupakan senyawa semipolar, senyawa yang tertarik oleh fraksi etil asetat kemungkinan senyawa yang bersifat semipolar. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Diba (2015) dalam uji aktivitas antibakteri fraksi dan senyawa aktif dari kulit *C. limon* (L.) Osbeck terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, mengatakan bahwa fraksi etil asetat melalui metode bioautografi mengandung senyawa aktif flavonoid. Flavonoid merupakan golongan mengandung

senyawa fenol yang sangat berpotensi sebagai antimikroba dengan cara mendenaturasi protein pada dinding sel bakteri sehingga merusak dan merubah mekanisme pertumbuhan bakteri. Sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan Maulida *et al.*, (2016) dalam isolasi dan identifikasi senyawa kimia dari ekstrak *n*-heksan batang benalu tanaman jeruk mengatakan bahwa fraksi etil asetat batang benalu tanaman jeruk mengandung senyawa steroid dan tanin. Steroid juga termasuk ke dalam antimikroba yang kuat dimana mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba adalah dengan merusak membran plasma sel bakteri, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel yang selanjutnya menyebabkan kematian (Halimah *et al.*, 2019). Sedangkan tanin bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengendapkan protein dan dapat merusak membran sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat, kerusakan tersebut menyebabkan kematian bakteri (Fitriahani, 2017).

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah amoxicillin dan gentamicin. Adanya uji kontrol positif bertujuan untuk membandingkan antara diameter zona hambat yang terbentuk dari fraksi etil asetat dengan amoxicillin dan gentamicin. Diameter zona hambat amoxicillin yang terbentuk pada *S. aureus*

sebesar 42,6 mm sedangkan pada *E. coli* sebesar 25.83 mm. Amoxicillin merupakan antibiotik spektrum luas yang dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Antibiotik ini biasanya menjadi pilihan pada kelasnya karena penyerapannya yang lebih baik. Beberapa bakteri gram positif yang peka terhadap amoxicillin yaitu *Streptococcus spp.*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Enterococcus faecalis*, sedangkan bakteri gram negatif yang peka yaitu *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, dan *Salmonella spp* (Sumampouw, 2018). Mekanisme kerja dari amoxicillin yaitu dengan menghambat enzim transpeptidase dalam sintesis dinding sel bakteri, proses sintesis dinding sel yang tidak sempurna dapat menyebabkan lisis sel dan kematian bakteri (Radji, 2017).

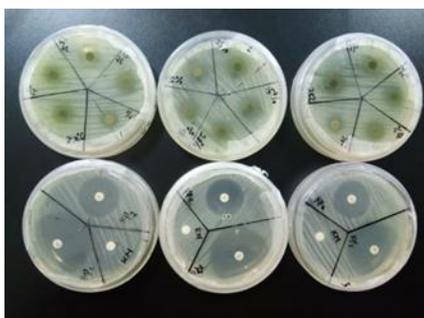
Gentamisin memiliki zona hambat sebesar 29.1 mm pada bakteri *S. aureus* dan 21.1 mm pada bakteri *E. coli*. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang banyak digunakan pada orang yang menderita penyakit infeksius. Gentamisin dapat diberikan secara parenteral pada seseorang yang terinfeksi oleh bakteri gram negatif sensitif, antara lain *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*, dan *Enterobacter*. Mekanisme kerja gentamisin

yaitu menghambat sintesis protein bakteri yakni berikatan secara *irreversible* dengan ribosom 30S, menghambat proses inisiasi sehingga terjadi kesalahan membaca kode genetik *mRNA* dan terminasi prematur yang menghasilkan protein yang *defektif* (Radji, 2017). Diameter zona hambat fraksi etil asetat pada *E. coli* lebih kecil dibandingkan diameter zona hambat *S. aureus*, hal ini menunjukkan bahwa *S. aureus* lebih sensitif terhadap bahan bioaktif. Pernyataan ini diduga disebabkan adanya perbedaan komposisi struktur

dinding sel pada masing-masing bakteri uji yang menyebabkan perbedaan bahan bioaktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Lapisan peptidoglikan sel bakteri gram positif relatif lebih tebal dan struktur dinding sel berlapis tunggal, sedangkan bakteri gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dan dikelilingi lapisan lipoprotein, lipopolisakarida, fosfolipid, dan protein, serta memiliki dua membran yakni membran sitoplasma dan membran luar (Radji, 2017).

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Etil Asetat Daun *C. limon* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Bakteri	Konsentrasi Sampel	Rata-rata	Daya Hambat
<i>Staphylococcus aureus</i>	Amoxycillin	42.6	Sangat Kuat
	Gentamisin	29.1	Sangat Kuat
	DMSO	-	-
	5%	12.3	Kuat
	10%	14.43	Kuat
	15%	15.26	Kuat
	20%	14.86	Kuat
	25%	16.16	Kuat
<i>Escherichia Coli</i>	Amoxycillin	25.83	Sangat Kuat
	Gentamisin	21.1	Sangat Kuat
	DMSO	-	-
	25%	8.7	Sedang
	30%	9.07	Sedang
	35%	9.63	Sedang
	40%	9.53	Sedang
	50%	10.57	Sedang



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Fraksi Etil Asetat Daun *C. limon* (L) Osbeck terhadap *S. aureus*.

Sumber: Dokumen Penulis



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Fraksi Etil Asetat Daun *C. limon* (L) Osbeck terhadap *E. coli*.

Sumber: Dokumen Penulis

Tabel 2. Hasil Analisis Zona Hambat Fraksi Daun *C. limon* (L.) Osbeck terhadap Pertumbuhan *S. aureus* menggunakan Anova Satu Arah.

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	25.32666667	4	6.331666667	4.6037J2429	0.022891274	3.478049691
Within Groups	13.75333333	10	1.375333333			
Total	39.08	14				

Tabel 3. Hasil Analisis Zona Hambat Fraksi Daun *C. limon* (L.) Osbeck terhadap Pertumbuhan *E. coli* menggunakan Anova Satu Arah.

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	5.953333333	4	1.488333333	5.228337237	0.01552384	3.478049691
Within Groups	2.846666667	10	0.284666667			
Total	8.8	14				

Kemampuan daun *C. limon* (L.) Osbeck sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* terbukti dalam penelitian ini dengan terbentuknya diameter zona hambat pada media pertumbuhan bakteri. Kemampuan *C. limon* (L.) Osbeck telah terlebih dahulu diuji dengan bagian tanaman yang digunakan berbeda-beda. Menurut penelitian yang dilakukan Nur *et al.*, (2018) menyatakan bahwa minyak atsiri buah lemon dalam sediaan gel *shampoo* dengan formula yang mengandung basis HPMC (6%) mampu menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia sp.* dengan zona hambat 29.4 mm. Menurut penelitian Newton *et al.*, (2012) melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit buah jeruk purut dan *C. limon* (L.) Osbeck memiliki efek antimikroba terhadap bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Proteus vulgaris*. Penelitian yang dilakukan Dhavesia

(2017), menyatakan bahwa ekstrak daun jeruk purut efektif menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 50%.

Perbedaan besarnya zona hambat dari masing-masing penelitian ini disebabkan karena perbedaan bagian tanaman yang digunakan serta spesies tanaman yang berbeda, akan tetapi memiliki kekerabatan yang dekat yakni sama-sama dari keluarga citrus sehingga kandungan bahan bioaktif yang menghambat pertumbuhan bakteri tidak terlalu berbeda.

Berdasarkan hasil uji *Anova* pada diameter zona bening yang terbentuk terhadap bakteri *S. aureus* berdasarkan variasi konsentrasi diperoleh nilai F hitung > F tabel, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini menandakan ada perbedaan yang signifikan terhadap variasi konsentrasi. Selanjutnya pada Tabel 2 terlihat nilai *P-value* = 0,0228 < 0,05, maka disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna antara

serial konsentrasi fraksi etil asetat dalam menghambat bakteri *S. aureus*. Hasil Analisis pada bakteri *E. coli* yang terlihat pada Tabel 3, diperoleh nilai *P-value* = $0,0155 < 0,05$, maka terdapat perbedaan bermakna antara serial konsentrasi fraksi etil asetat dalam menghambat bakteri *E. coli*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *C. limon* (L.) Osbeck dengan konsentrasi 5% memiliki aktivitas antimikroba paling efektif terhadap pertumbuhan *S. aureus*, sedangkan konsentrasi antibakteri paling efektif terhadap pertumbuhan *E. coli* adalah sebesar 25%.

DAFTAR PUSTAKA

Batubara NA. 2017. Efek Air Perasan Buah Jeruk Lemon (*Citrus Limon*) Terhadap Laju Aliran dan Nilai pH Saliva dan Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* (*In Vivo*). *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara, Medan.

Departemen Kesehatan RI. 2007. Survei Kesehatan Rumah Tangga. Badan penelitian dan pengembangan kesehatan, Jakarta.

Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Dhavesia V. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Universitas Atmajaya Yogyakarta, Yogyakarta.

Diba MF. 2015. *Senyawa Aktif dari Kulit*

Jeruk Lemon (Citrus limon (L.) Burm. F) terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923 dan Escherichia coli ATCC 25922. Palembang: Universitas Sriwijaya..

Fitriahani F. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Etanol 70% Limbah Kulit Pisang (*Musa acuminata x Musa balbisiana* cv Candi) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Halimah H, Suci DM & Wijayanti,I. 2019. Studi Potensi Penggunaan Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) sebagai Bahan Antibakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 24(1), 58–64.

Hashim NM, Rahmani M, Cheng G, Ee L, Sukari MA, Yahayu M & Go R. 2012. Antiproliferative Activity of Xanthones Isolated from *Artocarpus obtusus*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1-9.

Khoirani N. 2013. Karakteristik Simplisia dan Standarisasi Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.). *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Marcelinda A & Ridhay A. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi (*Coffea sp*) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Online Journal of Natural Science*, 5(1), 21–30.

Maulida R, Hanif A, Kartika R, & Simanjuntak. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia dari Ekstrak n-heksan Batang Benalu Tanaman Jeruk (*Dendrophloe pentandra* (L.) Miq.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14(10), 36-41.

Maya A, Adam R, & Laode R. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa*) terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *Proceeding of the 5 Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 23-24 April 2017, 157-164.

- Mayasari U & Laoli MT. 2018. Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Daun Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm). *Klorofil*, 2(1), 7–13.
- Newton I, Ajithkumar P, & Panneerselvam R. 2012. Effect of *Citrus hystrix* and *Citrus limon* Extracts on Antibacterial Activity Against Human Pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1-4.
- Nur A, Ansori M, & Hamidah. 2018. Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Fraksi Polar Daun *Citrus hystrix* dan *Citrus aurantifolia* terhadap *Culex quinquefasciatus*. *Jurnal Vector Penyakit*, 12(1), 33-38.
- Peramawati M. 2008. Karakterisasi Ekstrak Air Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Brum. F.) dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Asam Urat Plasma Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Kalium Oksonat. *Skripsi*, Universitas Indonesia.
- Radji M. 2017. *Mekanisme Aksi Molekuler Antibiotik dan Kemoterapi*. Jakarta: EGC.
- Radji M. 2018. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: EGC.
- Salni Aminasih N & Sriviona R. 2013. Isolasi Senyawa Antijamur dari Rimpang Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* (L.) Willd) dan Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum terhadap *Candida albicans*. *Prosiding Semirata FMIPA*, Universitas Lampung.
- Sapra P, Qureshi S, Mankad A, & Solanki H. 2018. *Phytochemical Screening and Evaluation of Citrus limon Leaves*, Gujarat University.
- Sari AK & Ayati R. 2018. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan Metode Dpph (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Journal of Current Pharmaceutical Science*, 1(2), 69–74.
- Sumampouw OJ. 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Balita di Kota Manado. *Journal of Current Pharmaceutical Science*, 2(1), 104-110.
- World Health Organization. 2011. *The World Medicine Situation 2011 3ed. Rational Use Medicine*. Geneva.