



Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) Asal Desa Pasinan, Kabupaten Pasuruan terhadap Koloni *Salmonella* sp. secara In Vitro

Sisca Desi Prastyaningtias^{1*}, Sari Dian A.S.²

¹Pendidikan Biologi, Fakultas Ilmu Pendidikan, *Institut Teknologi dan Sains Nahdlatul Ulama Pasuruan*

²Pendidikan Fisika, Fakultas Ilmu Pendidikan, *Institut Teknologi dan Sains Nahdlatul Ulama Pasuruan*

*Corresponding author: siscadesi@itsnupasuruan.ac.id

Article History

Received : 12 June 2023

Approved : 20 June 2023

Published : 22 July 2023

Keywords

Antibacterial, *L. acidissima* L., *Salmonella* sp.

ABSTRACT

The large consumption of this fruit was caused an abundance of fruit peel. Based on the research results of phytochemical test, the extract of kawista fruit peel contains saponins, tannins, alkaloids, flavonoids, and terpenoids. Another income source of Pasinan residents comes from marine resources, that can be served in fresh fish, dried fish and other processed fish is susceptible to contaminated by microorganisms such as *Salmonella* sp. *Salmonella* sp. is pathogenic microbe lives on intestines of animals and humans. This study aims to determine the antibacterial activity of kawista peel extract on the growth of *Salmonella* sp. in-vitro and to determine the concentration of Kawista extract which is effective for inhibiting the growth of *Salmonella* sp using the paper disc diffusion method. The results of this study, the diameter of the inhibitory zone for the growth of *Salmonella* sp. using variables concentrations of kawista rind extract at 12.5%;25%;50%;75%;100%, with negative control are distilled water and methanol and positive control is tetracycline. At a concentration of 100% extract, the diameter of the bacterial inhibition test was the largest and significantly different from another treatment group at concentrations of 12.5%;25%;50%;75%. However, the 100% extract showed a smaller inhibitory zone than the tetracycline treatment group, but not significantly different. Based on the results of this research, it can be determined that kawista peel extract is effective for inhibited the growth of *Salmonella* sp. Kawista peel extract at a concentration of 100% is most effective for inhibiting the growth of *Salmonella* sp and shows results that are not significantly different from tetracycline.

PENDAHULUAN

Desa pasinan yang merupakan salah satu wilayah di kecamatan Lekok,

Kabupaten Pasuruan Provinsi Jawa Timur yang sebagian penduduknya

menggantungkan hidupnya pada sektor pertanian, serta letak wilayahnya yang cukup dekat dengan laut sehingga beberapa warganya bekerja sebagai nelayan (Radar Bromo, 2018). Salah satu potensi hasil pertanian yang cukup besar dari Desa Pasinan adalah Buah Kawista *Limonia acidissima* L. Buah yang memiliki nama latin. atau kawista umumnya dibudidayakan di daerah pantai, dan padang rumput yang kering terutama dekat laut dan menuju ke arah daratan (Sukanto, 2000).

Limonia acidissima L. atau Kawista, dan memiliki bahasa daerah yaitu Kwisto ini adalah tanaman golongan famili Rutaceae. Tanaman ini berasal dari India dan pada umumnya dimanfaatkan sebagai tanaman obat (Panda, dkk., 2013). Masyarakat juga telah menggunakan buah kawista yang masih muda untuk mengobati sakit diare (Rini, dkk., 2017). Warga Pasinan memanfaatkan buah kawista untuk dikonsumsi baik dalam keadaan mentah maupun matang. Banyaknya konsumsi buah kawista ini menyisakan kulit buahnya yang cukup melimpah.

Salah upaya untuk menanggulangi limbah kulit buah kawista adalah dengan mengolahnya menjadi suatu bahan yang bermanfaat. Berdasarkan hasil uji analisis fitokimia pada ekstrak kulit kawista, mengandung saponin, tanin, terpenoid,

alkaloid, dan flavonoid. Salah satu kandungan kulit buah kawista yaitu alkaloid dapat merusak struktur penyusun dinding sel bakteri yaitu peptidoglikan, sehingga lapisan dinding sel tidak utuh dan menyebabkan sel mengalami lisis (Taufiq, dkk., 2015).

Sumber pendapatan lain penduduk Pasinan yang berupa hasil laut berupa Ikan segar, ikan awetan dan olahan ikan lainnya rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme seperti *Salmonella* sp. *Salmonella* sp. yang bersifat patogen di usus hewan dan manusia. Sehingga dengan demikian proposisi yang dibangun dalam penelitian ini adalah: untuk memanfaatkan kulit buah kawista untuk diekstrak menjadi senyawa antibakteri *Salmonella* sp. yang umumnya mencemari produk hasil laut seperti ikan segar, ikan awetan dan olahan ikan lainnya.

Sumber pendapatan lain penduduk Pasinan yang berupa hasil laut berupa Ikan segar, ikan awetan dan olahan ikan lainnya rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme seperti *Salmonella* sp. *Salmonella* sp. yang bersifat patogen di usus hewan dan manusia. Sehingga dengan demikian proposisi yang dibangun dalam penelitian ini adalah: untuk memanfaatkan kulit buah kawista untuk diekstrak menjadi senyawa antibakteri *Salmonella* sp. yang umumnya mencemari

produk hasil laut seperti ikan segar, ikan awetan dan olahan ikan lainnya.

Salmonella sp. merupakan bakteri patogen berbentuk batang yang tergolong *Enterobacteriaceae* yaitu bakteri gram negatif yang bersifat parasit di usus hewan dan manusia (Brooks, 2005). Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini disebut salmonellosis yang dapat ditularkan melalui kotoran, makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh bakteri tersebut (Pui, 2011). Upaya untuk menurunkan sebaran pathogen *Salmonella* tersebut yaitu dengan menggunakan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik, namun dapat memberikan dampak negatif pada produk-produk pangan sehingga menjadi tidak layak untuk dikonsumsi.

Selain itu dapat menyebabkan terjadinya hipersensitivitas, serta depresi sumsum tulang belakang (Wibowo, dkk., 2010) serta gangguan fisiologis lain. Beberapa jenis spesies *Salmonella* yang bersifat patogen ada tiga, yaitu: *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, dan *Salmonella enteritidis*. Infeksinya *Salmonella* sp. pada manusia hampir semua disebabkan karena mengkonsumsi makanan atau minuman yang tercemar patogen tersebut. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji adanya aktivitas antibakteri ekstrak kulit kawista terhadap pertumbuhan *Salmonella*

sp. secara *in vitro* serta mengetahui konsentrasi ekstrak kulit Kawista yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp.

METODE PENELITIAN

Metode

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorik yang bersifat kuantitatif dan kualitatif.

Pembuatan ekstrak kulit buah Kawista

Ekstrak kulit kawista dibuat dengan teknik maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan serbuk dan metanol 1:7. Maserasi dilakukan 5x24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirer*. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring hingga didapat filtrat. Selain itu dilakukan pula remaserasi 1 kali dengan metanol menggunakan perbandingan serbuk dan metanol 1:5. Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 63°C hingga diperoleh ekstrak yang kental. Selanjutnya disimpan dalam wadah tertutup rapat sebelum digunakan untuk uji selanjutnya.

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan untuk deteksi adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kulit kawista.

1. Pengujian Flavonoid

Sebanyak 1 ml sampel ekstrak dicampur dengan 20 ml air panas, lalu dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Menambahkan magnesium sebanyak 0,5 gr dan 10 tetes larutan HCl dan dikocok secara perlahan. Apabila terjadi perubahan warna merah/ jingga/ ungu, hal tersebut menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Harborne, 1987).

2. Uji Alkaloid

Memasukkan 0,5 ml ekstrak kemudian menambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml aquades ke dalam tabung reaksi kemudian dipanaskan selama 2 menit lalu didinginkan dan disaring. Sebanyak 3 tetes filtrat dicampur dengan 2 tetes Mayer (HgCl₂ dan Kalium Iodida) setelah itu terbentuk gumpalan endapan warna putih atau kuning. 3 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung lalu ditambahkan 2 tetes larutan Bouchardat (Kalium iodide serta Iodium) kemudian terbentuk endapan berwarna coklat atau hitam. Sebanyak 3 tetes filtrat dimasukkan ke tabung lalu menambahkan 2 tetes Dragendorff (asam nitrat pekat, Bismut III nitrat, dan kalium Iodida) hingga terjadi perubahan warna jingga/merah. Apabila positif mengandung alkaloid maka akan terbentuk endapan keruh dimana paling sedikit 2 atau 3 percobaan menimbulkan endapan yang keruh (Harborne, 1987).

3. Uji Terpenoid

Memasukkan 1 ml ekstrak kawista dan 2 ml kloroform ke tabung. menambahkan 3 tetes asam sulfat pekat dan 10 tetes asam asetat anhidrid lalu dikocok serta didiamkan beberapa menit. Apabila terbentuk warna merah atau ungu menunjukkan adanya senyawa terpenoid (Harborne, 1987).

4. Uji Tanin

Memasukkan 1 ml ekstrak dan 12 ml air panas ke tabung dan lalu dididihkan 15 menit. Selanjutnya disaring lalu menambahkan 1 ml larutan FeCl₃ 1 %. Apabila terbentuk warna biru tua/ hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin (Harborne, 1987).

5. Uji Saponin

Memasukkan 0,5 ml ekstrak dan air panas ke dalam tabung, lalu didinginkan dan dikocok dengan kuat 10 detik. Apabila terdapat buih setinggi 1-10 cm kurang dari 10 menit dan buih tidak hilang setelah menambahkan HCl 2 N, hal ini menandakan terdapat senyawa saponin pada ekstrak (Harborne, 1987).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak kulit kawista dilakukan secara in-vitro dengan menggunakan metode difusi cakram kertas. Jarum ose yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam tabung berisi biakan

bakteri *Salmonella sp.* Selanjutnya digoreskan pada cawan petri yang telah diisi media Nutrient Agar (NA) dengan metode *Streak* sesuai dengan kelompok perlakuan. Memasukkan kertas cakram kedalam tabung yang berisi 2 ml ekstrak kulit kawista di berbagai konsentrasi yaitu 12,5 %, 25%, 50%, 75% dan 100% lalu direndam selama 1 jam. Memasukkan kertas cakram yang telah direndam tersebut ke dalam masing-masing kelompok cawan petri yang telah berisi biakan *Salmonella sp.* dalam media NA.

Kontrol negatif memasukkan kertas cakram ke tabung yang berisi aquades dan metanol lalu direndam selama 1 jam. Kemudian mengambil kertas cakram tersebut dan meletakkannya ke dalam cawan petri yang berisi media NA dan koloni *Salmonella sp.*, sebagai kontrol positif, memasukkan kertas cakram ke dalam tabung yang berisi tetrasiklin lalu direndam selama 1 jam. Kemudian mengambil kertas cakram dan meletakkannya ke dalam cawan yang telah berisi media NA dan *Salmonella sp.* Selanjutnya diinkubasi pada suhu 36-37°C selama

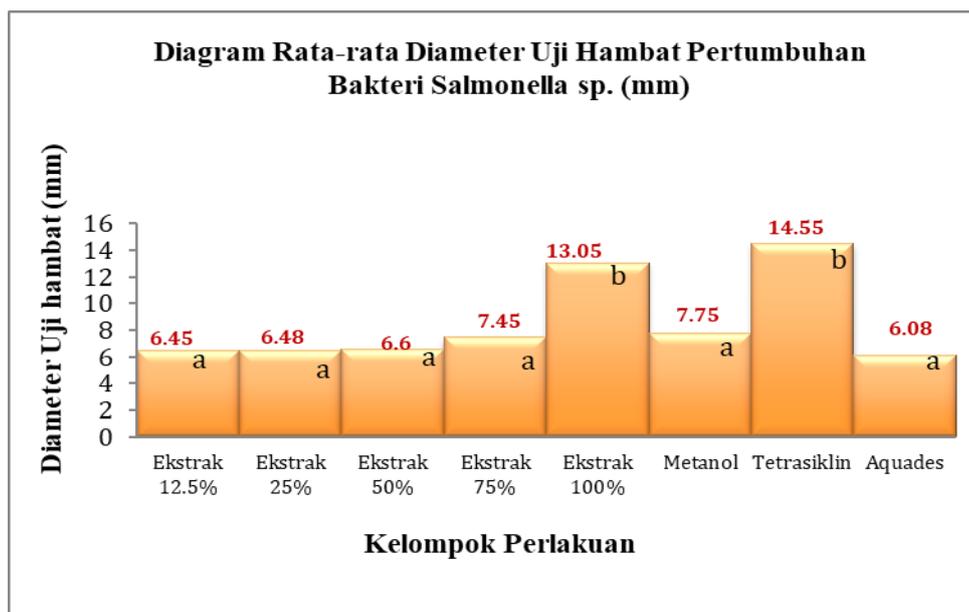
3x24 jam. Pengamatan zona hambat bakteri yaitu dengan melihat area yang berwarna bening disekitar kertas cakram kemudian dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong. Masing-masing pengamatan dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali.

Analisis Data

Analisis data penelitian menggunakan *One-Way Anova* (Analisis varian satu arah) dengan menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Program for Social Science*). Uji *Anova* digunakan untuk melihat ada perbedaan dari hasil setelah pemberian perlakuan atau rata-rata tiap perlakuan apakah memiliki hasil yang berbeda signifikan atau tidak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis fitokimia terhadap ekstrak kulit kawista dapat ditemukan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin. Berdasarkan hasil pengamatan uji antibakteri pada ekstrak kulit kawista terhadap *Salmonella* secara in-vitro menunjukkan hasil sebagai berikut.



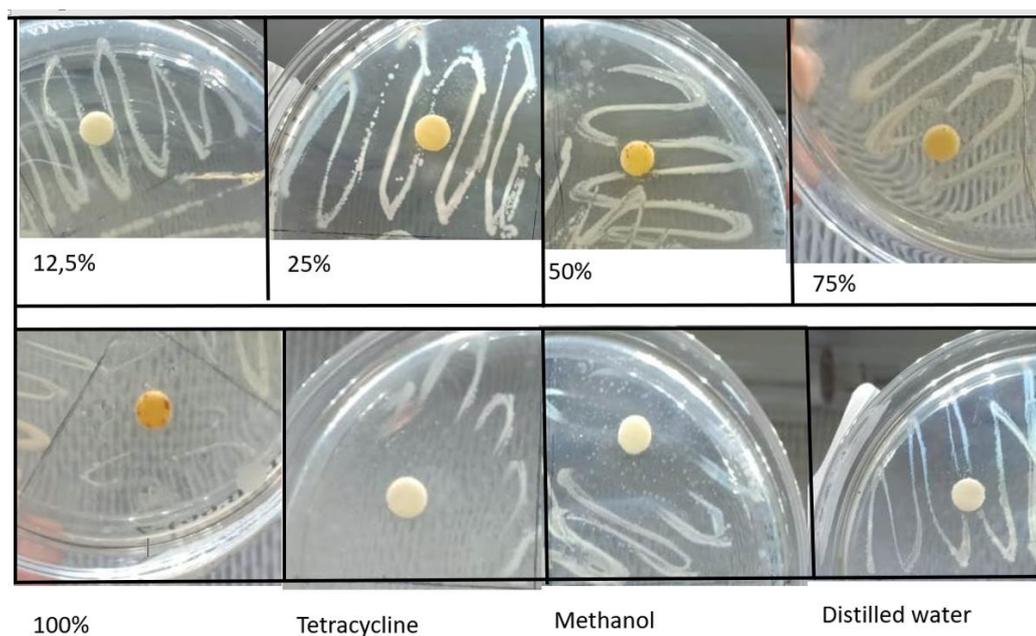
Gambar 1. Diagram Diameter Uji Hambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella* sp. (mm)
Catatan : a/b menunjukkan beda signifikan diameter zona hambat antar kelompok

Hasil penelitian ini didapatkan data panjang diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. yang menggunakan variabel ekstrak kulit Kawista konsentrasi 12,5%; 25%; 50%; 75%; 100% dengan kontrol negatif aquades dan metanol serta kontrol positif antibiotik tetrasiklin.

Konsentrasi ekstrak Kawista 100% menunjukkan diameter uji hambat bakteri yang paling besar serta berbeda signifikan dibandingkan kelompok perlakuan konsentrasi 12,5%; 25%; 50%; 75%. Pada konsentrasi ekstrak Kawista 100% menunjukkan diameter uji hambat bakteri yang lebih kecil dibandingkan dengan

perlakuan tetrasiklin, namun tidak ada beda signifikan.

Pada konsentrasi ekstrak Kawista 12,5%; 25%; 50%; 75% menunjukkan adanya diameter uji hambat yang semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak (berbanding lurus), namun pada masing-masing perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan. Pada perlakuan metanol menunjukkan adanya uji hambat diameter bakteri lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak Kawista 12,5%; 25%; 50%; 75% namun tidak berbeda signifikan.



Gambar 2. Daerah Zona Hambat (Zona Bening) *Salmonella* sp. di Berbagai Konsentrasi Ekstrak Kulit Kawista, Antibiotik tetrasiklin, Metanol dan Aquades (*distilled water*)

Zona hambat (daerah bening) dapat terbentuk disebabkan ekstrak pada paper disk berdifusi ke media *NA* serta mencegah pertumbuhan koloni *Salmonella* sp. yang terdapat di daerah tersebut. Berdasarkan hasil uji analisis fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit Kawista mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat perkembangbiakan bakteri *Salmonella* sp.

Flavonoid termasuk senyawa fenol yang dapat merusak struktur protein pada enzim sehingga mengganggu aktivitas metabolisme sel. Flavonoid juga memiliki kemampuan membentuk ikatan dengan protein pada dinding sel, sehingga bakteri tidak mampu melekat atau menginvasi sel inang (Susanti, 2016). Flavonoid pun

mampu melepas energi transduksi pada membran sel bakteri sehingga mengganggu kemampuan motilitas pada bakteri (Manik *et al.*, 2016). Selain itu, flavonoid juga dapat memecah ikatan pada dinding sel bakteri dengan cara menghambat penggabungan rantai glikan dan peptidoglikan pada dinding sel sehingga menyebabkan struktur dinding sel menjadi lemah (Sulatstrianah, dkk., 2014). Aktivitas flavonoid dapat menghambat perkembangbiakan bakteri dengan menghambat pembentukan makromolekul penyusun membran sel bakteri (Dzoyem dkk., 2013).

Senyawa alkaloid yang juga terdapat pada kulit kawista memiliki kemampuan untuk mencegah perkembangbiakan bakteri (Pfoze dkk., 2011), dengan cara

menghambat sintesis enzim *reverse transcriptase* dan sintesis DNA (Schmeller dkk., 1997). Selain itu alkaloid melepaskan senyawa asam lipoteikoat dari permukaan membrane sel (Mawan dkk., 2018) yang dapat mempengaruhi permeabilitas dari membran dan menyebabkan lisis pada lapisan dinding sel bakteri. Senyawa terpenoid yang terkandung pada kulit buah ini juga dapat mencegah perkembangbiakan bakteri (Mariajancyrani dkk., 2013). Namun Aktivitas pengaruhnya dalam pertumbuhan koloni bakteri belum sepenuhnya dipahami, namun diperkirakan, adanya senyawa lipofilik yang mengganggu membran sel bakteri (Cowan, 1999).

Senyawa tanin memiliki efek berupa spasmolitik yang dapat menurunkan aktivitas gerak peristaltik pada usus, serta mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengakibatkan terganggunya permeabilitas bakteri. Senyawa tanin dapat mencegah pembentukan enzim *reverse transkriptase* serta *DNA topoisomerase* yang memiliki peran dalam pembelahan sel sehingga bakteri tidak dapat bereplikasi (Mukhriani dkk., 2014).

Kemampuan saponin sebagai antibakteri adalah sebagai bahan kimia penghalang pada sistem pertahanan

tanaman untuk menghadapi invasi patogen. Saponin dapat mengakibatkan kerusakan protein serta tidak berfungsinya enzim tertentu pada bakteri (Ravi dkk., 2016). Selain dapat menghambat perkembangbiakan bakteri, saponin juga bersifat anti jamur (Yuliana dkk., 2015). Cara kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran sel dengan menurunkan permeabilitas membran sel (Sulastrianah dkk., 2014). Selain itu, saponin dapat menghambat perkembangbiakan koloni bakteri dengan menurunkan efisiensi penggunaan glukosa, sehingga mempengaruhi proliferasi, mengganggu aktivitas kerja enzim dalam metabolisme fisiologis serta menekan produksi protein pada bakteri, sehingga dapat menyebabkan kematian sel (Zhi-hui dkk., 2013).

SIMPULAN

Ekstrak kulit buah kawista efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp., ekstrak kulit buah Kawista pada konsentrasi 100% paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp serta menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan dengan antibiotik tetrasiklin.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks GF. et al. *Medical Microbiology Textbook*. Jakarta: Salemba Medika. 2005. 364-370
- Cowan, M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *J. Microbiology Reviews*. 12(4):564-582.
- Dyozem, J. P., Hamamoto, H., Ngameni, B., Ngadjui, B. T., dan Sekimizu, K. 2013. Antimicrobial Action Mechanism of Flavonoids from *Dorstenia* species. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 7(2): 66-72.
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Institut Teknologi Bandung (Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro)
- Manik, D.F., Hertiani, T., dan Anshory, H. 2014. Analisis kolerasi antara kadar flavanoid dengan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun kersen (*Muntingia calaburam* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah*, 6(2):1-11.
- Mariajancyrani, J., Chandramohan, G., Saravanan, dan Elayaraja, A. 2013. Isolation and Antibacterial Activity of Terpenoid from *Bougainvillea glabra* Choisy Leaves. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3(3):70-73.
- Mawan, A. R., Indriwati, S. E., & Suhadi.(2018). Aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah *Syzygium polyanthum* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Bioeksperimen*, 4(1), 64-68.
- Mukhriani, Nurlina, Baso FF. 2014. Uji aktivitas antimikroba dan identifikasi ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota* L.) terhadap beberapa mikroba patogen dengan metode difusi agar. *JF FIK UINAM*. 2(2):69-74.
- Panda N, Patro VJ, Jena BK, Panda PK. 2013. Evaluation of phytochemical and anti-microbial activity of *Limonia acidissima* L. *Int J Herbal Med*. 2013; 1(1):22-27.
- Pfoze, N. L., Kumar, Y., Myrboh, B., Bhagobaty, R. K., dan Joshi, S. R. 2011. *In vitro* Antibacterial Activity of Alkaloid Extract from Stem Bark of *Mahonia manipurensis* Takeda. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5): 859-861.
- Pui CF. *Salmonella*: A foodborne pathogen. *International Food Research Journal*. 2011. 18: 465-470
- Radar Bromo. 2018. Artikel : Hasil laut melimpah dijadikan kerupuk ikan desa pasinan. Sabtu 8 september 2018
- Ravi, L., Manasvi, V., dan Praveena, L.B. 2016. Antibacterial and antioxidant activity of saponin from *Abutilon indicum* leaves. *Asian J Pharm Clin Res*, 9:344-347.
- Rini, dkk., 2017. Phytochemical Screening and Antibacterial Test of Ethanolic Extract of Kawista (*Limonia Acidissima* L.) From Aceh Besar Against *Escherichia Coli*. *Jurnal Ilmiah Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*. 2(1), 12.
- Schmeller, T., Latz-Brüning, B., dan Wink, M. 1997. Biochemical Activities of Berberine, Palmatine and Sanguinarine Mediating Chemical Defence Against Microorganisms and Herbivores. *Phytochemistry*. 44(2): 257-266.
- Sukamto, L. A. 2000. Kultur Biji Kupas dan Tanpa Kupas Kawista Secara in Vitro. Dalam: Prosiding Seminar Nasional III. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 160-163.
- Sulastrianah., Imran, dan Fitria, E.S. 2014. Uji daya hambat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) dan daun sirih (*Piper betle* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal UHO*, 1(1):76-84.
- Susanti, N. 2016. Aktivitas antimikroba ekstrak rimpang jeringau terhadap

- pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Biodjati*, 1(1):55-58.
- Taufiq, S., Umi, Y. dan Siti, H. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Eschericia coli* dan *Salmonella typhi*. *Prosiding Penelitian Spesia Unisba*. ISSN 2460-6472.
- Wibowo, Muliana, dan Prabowo. 2010. Analisis Residu Antibiotik Kloramfenikol Dalam Daging Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy, Lac*) Menggunakan Metode High Performance Liquid Chromatography. *Jurnal Ilmiah Farmasi* Volume 7 Nomor 1 Tahun 2010
- Yuliana, S.R.I., Leman, M.A., dan Anindita, P.S. 2015. Uji daya hambat senyawa saponin batang pisang (*Musa paradisiacal*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal e-GiGi*, 3(2):2.
- Zhi-hui, Y., Xue-zhi, D., Li-qiu, X., Xiu-ying, X., Sha, X., Shuang, L., dan Xue-mei, L. 2013. Antimicrobial Activity and Mechanism of Total Saponins from *Allium chinense*. *Food Science*, 34(15): 75-80.