

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Jeruk Kalamansi**

##### **1. Uraian Tumbuhan**

Uraian tumbuhan meliputi daerah tumbuh, sistematika tumbuhan, sinonim tumbuhan, nama daerah, nama asing, morfologi tumbuhan, kandungan kimia dan kegunaan dari tumbuhan.

###### **1.1 Sistematika Tumbuhan.**

Kerajaan	: Plantae
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Eudikotil
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus microcarpa</i> Bunge. (Nuraini, 2011)

###### **1.2 Sinonim Tumbuhan.**

Sinonim *Citrus mitis*

*Citrus fortunella* (Setiadi dan Parimin, 2004)

**1.3 Nama Daerah.**Indonesia: Jeruk kesturi, jeruk potong, jeruk peras, jeruk kalamansi, lemong cui.

**1.4 Nama Asing.***Calamondin, china orange, dan golden lime* (Setiadi dan Parimin, 2004).

**1.5 Daerah Tumbuh.** Jeruk peras atau jeruk kesturi tumbuh baik di daerah dataran rendah beriklim panas dengan curah hujan rata-rata 1500-2000 mm<sup>3</sup>/tahun. Tanah tempat tumbuhnya mengandung bahan organik, bisa berupa tanah liat-berlempung, tanah berkapur, atau tanah berpasir. Derajat keasaman (pH) tanah antara 5,5-7,0. Meskipun toleran terhadap kekeringan, jeruk peras tidak begitu tahan terhadap terpaan angin kencang (Setiadi dan Parimin, 2004).

## 2. Morfologi

Susunan tubuh (morfologi) tanaman terdiri dari :

**2.1 Akar.** Tanaman jeruk memiliki akar tunggang dan akar serabut (akar rambut). Akar tunggang tumbuh cukup dalam bisa mencapai kedalaman 4 meter lebih. Akar serabut tumbuh agak dangkal, akar serabut (akar lateral) memiliki 2 tipe, yaitu akar cabang yang berukuran besar dan akar serabut yang berukuran kecil. Pada akar serabut yang kecil hanya terdapat bulu akar. Sel-sel akar tanaman jeruk sangat lembut dan lemah sehingga sulit tumbuh pada tanah yang keras dan padat (Cahyono, 2005).

**2.2 Batang.** Batang tanaman jeruk berkayu dan keras. Batang jeruk tumbuh tegak dan memiliki percabangan serta ranting yang jumlahnya banyak sehingga dapat membentuk mahkota yang tinggi hingga mencapai 15 meter atau lebih. Cabang tanaman jeruk ada yang tumbuh tegak bersudut  $>45^{\circ}$  dan ada yang bersudut  $<45^{\circ}$ , tergantung jenisnya. Batang tanaman ada yang berduri dan tidak, batang tanaman jeruk berkulit halus, warna kulit batang kecoklatan (Cahyono, 2005).

**2.3 Daun.** Daun tanaman jeruk termasuk daun tunggal, berbentuk bulat telur (oval), memiliki tangkai daun pendek. Daun terdiri dari 2 bagian, yaitu lembaran daun besar dan kecil. Ujung daun runcing, demikian pula pangkalnya juga meruncing, tetapi daun agak rata, helai daun kakuh dan tebal. Permukaan daun bagian atas mengandung lilin, pectin, licin dan mengkilap berwarna hijau tua dan memiliki tulang-tulang daun menyirip, sedangkan permukaan daun bagian bawah berwarna hijau muda (Cahyono, 2005).

**2.4 Bunga.** Bunga tanaman jeruk tergolong bunga sempurna, yakni dalam satu bunga terdapat kelamin jantan dan kelamin betina. Tanaman jeruk berbunga tunggal, tetapi kadang-kadang 2-4 (majemuk), bunga tanaman jeruk berbentuk bintang dan memiliki tipe bunga radikal simetris. Bunga berbau harum dan banyak menandung nektar (Cahyono, 2005)

**2.5 Buah.** Buah jeruk berbentuk bulat sampai gepeng dan memiliki ukuran yang bervariasi, tergantung dari jenisnya. Buah jeruk terdiri dari kulit luar (albedo), kulit dalam (flavedo), segmen buah (endocarp), yang terdiri dari

gelembung-gelembung kecil berisi cairan dan terbungkus oleh segmen (endocarp), berwarna orange, lunak, teksturnya halus, banyak mengandung air dan rasanya manis sampai agak asam segar. Dalam satu buah jumlah segmen buah berkisar antara 8-15 tergantung pada varietas (Cahyono, 2005). Buah jeruk kesturi berbentuk bulat dan bergaris tengah 4,5 cm. Bagian atas buah memipih atau rata (bulat menggepeng). Kulit buah kuning kehijau hijauan sampai jingga (buah tua). Bobot buah kurang lebih sama dengan jeruk nipis, yaitu antara 20-30 buah per kg (Setiadi dan Parimin, 2004).

**2.6 Jeruk Kalamansi.** Jeruk ini kurang populer di Indonesia, banyak di temui di Sulawesi Utara dan Maluku Utara, Di Sulawesi Utara jeruk ini disebut lemon Cina atau lemong cui. Bentuk jeruk bulat kecil seperti jeruk nipis, namun bila dikupas seperti jeruk. Pontianak karena kulitnya yang tipis tidak setebal jeruk nipis. Rasanya asam menyegarkan dan aromanya harum. Oleh karena itu sering digunakan sebagai bahan masakan untuk menghilangkan bau amis pada ikan (sementara di Jawa lebih sering menggunakan jeruk nipis).

Buah yang dipetik saat masih hijau, digunakan untuk masakan. Sedangkan buah yang berwarna kuning digunakan untuk minuman. Jeruk yang banyak airnya ini dan dikenal juga dengan nama jeruk calamodin atau kalamansi justru banyak dikenal di Eropa. Bahkan di Amerika Serikat sering dijadikan suguhan di white house.

**2.7 Kandungan Kimia.** Kulit buah jeruk kalamansi memiliki rasa pahit yang disebabkan oleh adanya kandungan naringin. Flavedo mengandung senyawa steroid, sedangkan albedo kaya akan senyawa fenolik.

**2.8 Kegunaan.** Kulit buah jeruk kalamansi biasanya diolah menjadi manisan, sari buah sirup, selai, dan konsentrat.

## B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang telah dikeringkan dan dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apa pun juga kecuali dinyatakan lain. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral).

## **1. Simplisia Nabati**

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Simplisia nabati juga merupakan tanaman atau bagian tanaman yang telah dikeringkan. Bagian yang dibuat simplisia bisa seluruh tanaman atau hanya sebagian. Jika dimaksudkan sebagian tumbuhan bisa berupa batang, kulit batang, akar, daun, umbi, bunga, buah atau biji tanaman (Djumidi, 1998). Bagian tanaman yang dibuat simplisia secara utuh misalnya kayu angin dan rumput laut. Sedangkan yang diambil akarnya misalnya pule pandak dan pasak bumi. Umbi (rimpang tanaman) misalnya jahe dan temulawak. Kulit batang misalnya kayumanis, pule pohon. Batang tanaman misalnya kayu sintok, cendana dan brotowali. Bunga misalnya cengkeh. Buah dan biji misalnya kemukus dan cabe jawa. Daun tanaman umumnya paling banyak dibuat simplisia, misalnya sambiloto, meniran, tempuyung, saga, sirih dan masih banyak lagi.

## **2. Simplisia Hewani**

Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan (*Oleum icoris asselli*) dan madu (*Mel depuratum*).

## **3. Simplisia Pelikan atau Mineral**

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga.

## **4. Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Simplisia**

**4.1 Bahan baku simplisia.** Bahan baku simplisia biasa diperoleh dari tanaman liar atau tanaman yang dibudidayakan. Jika simplisia diambil dari tanaman budidaya, keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul dan garis keturunan) dapat dipantau. Sementara jika diambil dari tanaman liar, banyak kendala yang biasa dikendalikan seperti asal, umur dan tempat tumbuh.

**4.2 Proses pembuatan simplisia.** Pada dasarnya pembuatan simplisia meliputi beberapa tahap, dimulai pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk (perajangan), pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan.

### C. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa serbuk atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995). Proses ekstraksi bahan nabati/bahan obat alami dapat dilakukan berdasarkan teori penyarian. Penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan aktif dalam cairan penyari tersebut. Terdapat 4 metode ekstraksi yaitu :

#### 1. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak, dan lain-lain. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna . Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara: 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang - ulang diaduk. Setelah 5 hari sari dikerai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya

diaduk dan diserkai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Benjana ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari. Kemudian endapan dipisahkan.

## **2. Perkolasi**

Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah sebagai berikut: Serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang dibagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan (Depkes RI, 1986).

Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosis, adhesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi). Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi. Ruang antara butir – butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi. Alat yang digunakan untuk perkolasi disebut perkolator, cairan yang digunakan untuk menyari disebut cairan penyari atau menstrum, larutan zat aktif yang keluar dari perkolator disebut sari atau perkolat, sedang sisa setelah dilakukannya penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi (Depkes RI, 1986). Kalau tidak dinyatakan lain perkolasi dilakukan dengan membasahi 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok dibasahi dengan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari, lalu dimasukkan ke dalam bejana tertutup sekurang - kurangnya selama 3 jam. Kemudian massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan hati - hati. Selanjutnya dituangi dengan cairan penyari secukupnya sampai cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih terdapat selapis cairan

penyari. Kemudian perkolator ditutup dan dibiarkan selama 24 jam. Selanjutnya cairan dibiarkan menetes dengan kecepatan 1 ml/menit dan ditambahkan berulang-ulang cairan penyari berikutnya sehingga selalu terdapat selapis cairan penyari di atas simplisia, hingga jika 500 mg perkolat yang keluar terakhir diuapkan, tidak meninggalkan sisa. Perkolat kemudian disuling atau diuapkan dengan tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga konsistensi yang dikehendaki. Pada pembuatan ekstrak cair 0,8 bagian perkolat pertama dipisahkan, perkolat selanjutnya diuapkan hingga diperoleh 0,2 bagian yang selanjutnya dicampurkan ke dalam perkolat pertama.

Keuntungan metode ini adalah tidak memerlukan langkah tambahan yaitu sampel padat (marc) telah terpisah dari ekstrak. Sedangkan kerugiannya adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien (Depkes RI, 1985).

### **3. Refluks**

Refluks adalah penyarian untuk mendapatkan ekstrak cair yaitu dengan proses penguapan dengan menggunakan alat refluks. Prinsip kerja refluks yaitu dengan cara cairan penyari diisikan pada labu, serbuk simplisia diisikan pada tabung dari kertas saring atau tabung yang berlubang-lubang dari gelas, baja tahan karat atau bahan lain yang cocok. Cairan penyari dipanaskan hingga mendidih. Uap penyari akan naik ke atas melalui serbuk simplisia. Uap penyari mengembun karena didinginkan oleh pendingin balik. Embun turun melalui serbuk simplisia sambil melarutkan zat aktifnya dan kembali ke labu. Cairan akan menguap kembali berulang seperti proses di atas (Depkes RI, 1985). Keuntungan dari metode refluks ini yaitu menggunakan pelarut yang sedikit, hemat serta ekstrak yang didapat lebih sempurna. Sedangkan kerugian metode ini yaitu uap panas langsung melalui serbuk simplisia (Depkes RI, 1985).

### **4. Sokletasi**

Sokletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam

klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon (Depkes RI, 1985). Alat soxhletasi merupakan penyempurnaan alat ekstraksi, alat tersebut disebut alat "Soxhlet". Uap cairan penyari naik ke atas melalui pipa samping, kemudian diembunkan kembali oleh pendingin tegak. Cairan turun ke labu melalui tabung yang berisi serbuk simplisia. Cairan penyari sambil turun melarutkan zat aktif serbuk simplisia. Karena adanya sifon maka setelah cairan mencapai permukaan sifon, seluruh cairan kembali ke labu. Cairan ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia, tetapi melalui pipa samping. Ekstraksi sempurna ditandai bila cairan di sifon tidak berwarna, tidak tampak noda jika di KLT, atau sirkulasi telah mencapai 20-25 kali. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan (Depkes RI, 1985).

#### **D. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop) dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi) komposisi perubahan menurut kelandaian. Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedang fraksi yang lebih ringan akan berada diatas. Fraksinasi bertingkat biasanya menggunakan pelarut organik seperti eter, aseton, benzena, etanol, diklorometana, atau campuran pelarut tersebut. Asam lemak, asam resin, lilin, tanin, dan zat warna adalah bahan yang penting dan dapat diekstraksi dengan pelarut organik. Fraksinasi bertingkat umumnya diawali dengan pelarut yang kurang polar dan dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar. Tingkat polaritas pelarut dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik pelarut. Empat tahapan fraksinasi bertingkat dengan menggunakan empat macam pelarut yaitu (1) ekstraksi aseton, (2) fraksinasi n-heksan, (3) fraksinasi etil eter, dan (4) fraksinasi etil asetat.

Macam – macam proses fraksinasi:

1. Proses Fraksinasi Kering (Winterization) Fraksinasi kering adalah suatu proses fraksinasi yang didasarkan pada berat molekul dan komposisi dari

suatu material. Proses ini lebih murah dibandingkan dengan proses yang lain, namun hasil kemurnian fraksinasinya rendah.

2. Proses Fraksinasi Basah (Wet Fractination) Fraksinasi basah adalah suatu proses fraksinasi dengan menggunakan zat pembasah (Wetting Agent) atau disebut juga proses Hydrophilization atau detergent proses. Hasil fraksi dari proses ini sama dengan proses fraksinasi kering.
3. Proses Fraksinasi dengan menggunakan Solvent (pelarut)/ Solvent Fractionation Ini adalah suatu proses fraksinasi dengan menggunakan pelarut. Dimana pelarut yang digunakan adalah aseton. Proses fraksinasi ini lebih mahal dibandingkan dengan proses fraksinasi lainnya karena menggunakan bahan pelarut.
4. Proses Fraksinasi dengan Pengembunan (Fractional Condensation) Proses fraksinasi ini merupakan suatu proses fraksinasi yang didasarkan pada titik didih dari suatu zat / bahan sehingga dihasilkan suatu produk dengan kemurnian yang tinggi. Fraksinasi pengembunan ini membutuhkan biaya yang cukup tinggi namun proses produksi lebih cepat dan kemurniannya lebih tinggi.

## E. Uraian Mikroba Uji

### 1. *Escherichia coli*

#### 1.1 Klasifikasi

- Filum : Proteobacteria  
 Kelas : Gamma Proteobacteria  
 Ordo : Enterobacteriales  
 Familia : Enterobacteriaceae  
 Genus : Escherichia  
 Spesies : *Escherichia coli* (Garrity, Bell, Lilburn. 2004)

**1.2 Sifat dan Morfologi.** *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek dan lurus dengan ukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$  dan kadang kadang lebih pendek membentuk rantai. Bergerak dengan flagel peritrik atau tidak bergerak. Mudah tumbuh pada pembenihan sederhana, tidak

mempunyai spora dan kapsul. Umumnya menfermentasikan laktosa membentuk asam dan gas, ada pula yang tidak menfermentasikan glukosa dan maltosa. Dapat ditemukan dalam usus mamalia, tumbuh optimal pada suhu 37° C.

## 2. *Staphylococcus aureus*

### 2.1 Klasifikasi.

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Garrity, Bell, Lilburn. 2004)

**2.2 Sifat dan Morfologi.** *Staphylococcus aureus* adalah bakteri berbentuk bulat, bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikemia yang fatal. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologik dibawah suasana aerobik atau mikro-aerobik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah pada temperatur kamar (20 - 35°C). Koloni pada media yang padat akan berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau-kilau, membentuk berbagai pigmen berwarna kuning keemasan.

## F. Metode Sterilisasi

### 1. Sterilisasi secara fisik

#### 1.1 Pemanasan basah.

**1.1.1 Autoklaf.** Alat ini serupa tangki minyak yang dapat diisi dengan uap air. Otoklaf memiliki suatu ruangan yang mampu menahan tekanan di atas 1

atm. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 Psi (*pounds per square inch*) atau sekitar 1,5-2 atm. Perhitungan waktu 15 atau 20 menit dimulai semenjak termometer pada autoklaf menunjuk  $121^{\circ}$  C.

**1.1.2 Tindalisasi.**Proses sterilisasi dengan cara menggunakan pemanasan dengan suhu  $100^{\circ}$ Cselama 30 menit dan dilakukan setiap hari berturut-turut selama tiga hari.

**1.1.3 Pasteurisasi.**Proses pemanasan pada suhu rendah yaitu  $63 - 70^{\circ}$  C selama 30 menit dan dilakukan setiap hari selama tiga hari berturut-turut.

## **1.2 Pemanasan kering.**

**1.2.1 Oven.**Sterilisasi ini dengan menggunakan udara panas. Alat-alat yang disterilkan ditempatkan dalam oven dimana suhunya dapat mencapai  $160-180^{\circ}$  C. Oleh karena daya penetrasi panas kering tidak sebaik panas basah, maka waktu yang diperlukan pada sterilisasi cara ini lebih lama yakni selama 1-2 jam.

**1.2.2 Pembakaran.**Pembakaran merupakan cara sterilisasi yang 100 % efektif, tetapi cara ini terbatas penggunaannya. Cara ini biasa dipergunakan untuk mensterilkan alat penanam kuman (jarum ose/sengkelit). Yakni dengan membakarnya sampai pijar. Dengan cara ini semua bentuk hidup akan dimatikan. Pembakaran juga dilakukan untuk bangkai binatang percobaan yang mati.

**1.2.3 Penyinaran dengan sinar gelombang pendek.**Mikroorganisme di udara dapat dibunuh dengan penyinaran memakai sinar ultra violet. Panjang gelombang yang dapat membunuh mikroorganisme adalah di antara 220-290 nm; radiasi yang paling efektif adalah 253,7 nm.

## **2. Sterilisasi secara kimia**

Antiseptik kimia biasanya dipergunakan dan dibiarkan menguap seperti halnya alkohol. Umumnya isopropil alkohol 70-90 % adalah yang termurah namun merupakan antiseptik yang sangat efektif dan efisien.

## **3. Sterilisasi secara mekanik**

Untuk beberapa bahan yang akibat pemanasan ataupun tekanan tinggi akan mengalami perubahan ataupun penguraian, sterilisasinya harus dilakukan secara mekanik. Misalnya dengan saringan.

## **G. Uraian Umum Antimikroba**

### **1. Pengertian Antimikroba**

Antimikroba (AM) adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang bersifat merugikan manusia (mikroba patogen). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba yang dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh mikroba yang dikenal sebagai aktivitas bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM.

### **2. Mekanisme Kerja Antimikroba**

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi menjadi 4 kelompok yaitu :

**2.1 Penginaktifan enzim tertentu.** Penginaktifan enzim tertentu adalah mekanisme umum dari senyawa antiseptik dan desinfektan, seperti turunan aldehid, amida, karbanilida, etilen oksida, halogen, senyawa merkuri dan senyawa ammonium kuartener.

Aldehid dan etilen oksida bekerja dengan mengalkilasi secara langsung gugus nukleofil seperti gugus-gugus amino, karboksil, hidroksil, fenol dan tiol dari protein sel bakteri. Reaksi alkilasi tersebut menyebabkan pemblokkan sisi aktif dan perubahan konformasi enzim sehingga terjadi hambatan pertumbuhan bakteri. Iodin secara langsung dapat mengadakan iodinasi rantai polipeptida protein sel bakteri, mengoksidasi gugus tirosin dan sulhidril protein, dan menyebabkan penginaktifan protein enzim tertentu sehingga bakteri mengalami kematian.

**2.2 Denaturasi protein.** Turunan alkohol, halogen dan halogenofor, senyawa merkuri, peroksida dan turunan fenol dan senyawa ammonium kuartener bekerja sebagai antiseptik dan desinfektan. Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antimikroba kemoterapeutik, umpamanya antiseptik *surface active agents*. Polimiksin sebagai senyawa

ammonium-kuarten turunan fenol dan senyawa ammonium kuartener bekerja sebagai dapat merusak dinding sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Polimiksin tidak efektif terhadap bakteri gram-positif karena jumlah fosfor bakteri ini rendah. Kuman gram-negatif yang menjadi resisten terhadap polimiksin, ternyata jumlah fosfornya menurun. Antibiotik polien bereaksi dengan struktur sterol yang terdapat pada membra sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut.

**2.3 Bakteri tidak sensitif.** Bakteri tidak sensitif terhadap antibiotik polien, karena tidak memiliki struktur sterol pada membran selnya. Antiseptik yang mengubah tegangan permukaan (*surface-active agents*), dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain – lain.

Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba. Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah golongan aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol. Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di robosom, dengan bantuan m-RNA dan t-RNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai m-RNA menjadi ribosom 70S. Penghambat sintesis protein terjadi dengan berbagai cara.

**2.4 Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba.** Antimikroba yang termasuk dalam golongan ini adalah rifampisin, dan golongan kuinolon. Yang lainnya walaupun bersifat antimikroba, karena sifat sitotoksiknya, pada umumnya digunakan hanya sebagai obat antikanker; tetapi beberapa obat dalam kelompok terakhir ini dapat pula sebagai antivirus. Yang akan dikemukakan disini hanya mekanisme kerja obat yang berguna sebagai antimikroba, yaitu rifampisin dan golongan kuinolon. Salah satu derivat rifampisin, berikatan dengan enzim polymerase-RNA (pada subunit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon

menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel kuman yang kecil.

### **H. Siprofloksasin**

Siprofloksasin adalah antibiotika yang termasuk dalam golongan Kuinolon, yang merupakan suatu preparat sintetik. Obat ini memiliki spectrum antimikrobia yang luas sekali, serta memiliki aktifitas yang tinggi pada pemberian per oral untuk mengobati berbagai macam penyakit infeksi. Disamping itu, siprofloksasin memiliki efek samping yang relatif sangat ringan, serta sedikit sekali menjadi resisten terhadap kuman. Siprofloksasin diabsorpsi sangat baik setelah pemberian per oral, dan secara luas didistribusikan ke seluruh tubuh, kemudian diekskresikan melalui urine dalam jumlah tertentu. Obat ini mengalami metabolisme di dalam hepar. Efek samping penggunaan obat ini sangat jarang, namun bisa berinteraksi dengan theofilin, yaitu dengan menghambat metabolisme theofilin, serta dapat meningkatkan konsentrasi *methylxanthine*. Siprofloksasin tersedia dalam bentuk tablet 250 mg., 500 mg., dan 750 mg. Dosis yang lazim untuk berbagai macam infeksi adalah 250 mg - 500 mg setiap kali minum, sebanyak 2 kali dalam sehari. Dosis yang dianjurkan untuk *gonorrhoea*, adalah 250 mg sampai dengan 500 mg sebagai dosis tunggal.

### **I. Landasan Teori**

Jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa*) merupakan jenis buah jeruk yang memiliki rasa asam ketika sudah masak dan pahit ketika masih mentah. Secara fisik, buah jeruk kalamansi ukurannya kecil seperti jeruk nipis. Buahnya berdiameter 3-4 meter dan berwarna kuning semburat hijau. Kulit buahnya lebih halus dan lunak seperti jeruk siam Medan yang berukuran kecil. Daunnya berwarna hijau tua mengkilap dan berakar tunggang.

Keistimewaan buah ini diantaranya pertumbuhannya terbilang mudah dan cepat, serta memiliki aroma yang sangat kuat, dan memiliki rasa asam yang khas. Jeruk ini banyak terdapat di daerah Bengkulu, Sulawesi dan Maluku. Nama

daerah dari jeruk ini yaitu Jeruk kesturi, jeruk potong, jeruk peras, jeruk kalamansi. Jeruk kalamansi digunakan sebagai penambah cita rasa masam pada makanan dan di daerah timur jeruk ini digunakan untuk menghilangkan hamis padaikan juga masyarakat percaya bahwa jeruk kalamansi digunakan sebagai obat herbal menghilangkan radang tenggorokan dan menekan infeksi pada luka tusukan. Daun dan kulit jeruk kalamansi memiliki kandungan minyak atsiri masing-masing sebesar 1,20% dan 0,93% dengan kemampuan aktivitas antibakteri yang jauh lebih baik terhadap bakteri gram positif seperti pada *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* dibanding pada bakteri gram negatif seperti pada bakteri *Escherchia coli* dan *Salmonella enetridis* dikarenakan minyak atsiri lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram positif yang lebih tipis (Yulliasri,2000).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Rubiatal,2015) menyatakan bahwa adanya senyawa bioaktif yang diisolasi dari *Citrus microcarpa* memiliki sifat antimikroba. Kulit jeruk kalamansi memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen seperti *Streptococcus spp*, *Salmonella spp*, *Bacillus subtilis* dan *Escherchia coli* karena mengandung senyawa flavonoid dalam jumlah tinggi dibandingkan dengan bagian buah lainnya, senyawa tersebut memungkinkan adanya potensi kulit jeruk kalamansi digunakan sebagai agen antimikroba.

Flavonoid adalah kelompok fenolik pada tumbuhan yang bertanggung jawab atas aktivitas antimikroba dimana dapat menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, dan metabolisme energi. Flavonoid utama dalam jeruk ialah naringin, narirutin, dan hesperidin (Jacob, 2000) yang terdapat pada kulit buah dan daging buah jeruk (Tripoli,2007). Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik. Berdasarkan penelitian (Bhat, 2011), komponen bioaktif jeruk kalamansi meliputi asam askorbat sebesar  $40,20 \pm 0,5$  mg/100ml, flavonoid  $1,41 \pm 1,2$  mg/100 ml, dan aktivitas antioksidan  $777,0 \pm 1,7$  mg/100 ml.

Penelitian dari (Wang, 2008) mengklasifikasikan komponen bioaktif dari berbagai varian jenis jeruk (*citrus*) yang terdapat pada daging buah dan kulit dan didapatkan hasil bahwa jeruk kalamansi memiliki total polifenol sebesar  $52,3 \pm 1,55$  mg/g, total flavonoid pada daging sebesar  $8,41 \pm 0,32$  mg/g dan pada kulit jeruk  $41,0 \pm 1,37$  mg/g. Sedangkan total karotenoid pada daging sebesar  $0,11 \pm 0,003$  mg/g dan kulit jeruk sebesar  $0,74 \pm 0,029$  mg/g.

### J. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu :

1. Ekstrak dan fraksi n-heksan, air, etil asetat kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. Ekstrak metanol kulit jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa*) adalah yang paling aktif dan memiliki diameter zona hambat sebagai antibakteri untuk menghambat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
3. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak kulit jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat ditentukan.