



SKRINING FITOKIMIA DAN UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK KOMBINASI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix*) DAN KELOR (*Moringa oleifera L.*) SEBAGAI ZAT AKTIF PADA SABUN ANTIBAKTERI

PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIBACTERIAL TEST COMBINATION OF KAFFIR LIME LEAVES (*Citrus hystrix*) AND MORINGA LEAVES (*Moringa oleifera L.*) EXTRACTS AS ACTIVE SUBSTANCES IN ANTIBACTERIAL SOAP

Iin Nurjannah^{1*}, Baiq Ayu Aprilia Mustariani², & Novia Suryani³

^{1,2,3}Program Studi Tadris Kimia, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Mataram, Indonesia.

DOI: 10.20414/spin.v4i1.4801

History Article

Submitted:

16 February 2022

Accepted:

27 June 2022

Published:

30 June 2022

Kata Kunci:

Antibakteri; daun jeruk purut; daun kelor, skrining fitokimia; *Staphylococcus aureus*.

Keywords:

Antibacterial; Kaffir lime leaves; Moringa leaves; phytochemical screening; *Staphylococcus aureus*.

© 2022 CC:BY

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan pengaruh konsentrasi terhadap diameter zona hambat antibakteri ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*). Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif. Ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) diperoleh dari metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Skrining fitokimia yang dilakukan yaitu uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid. Sedangkan uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan menggunakan metode sumuran dengan variasi konsentrasi ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor 20%, 40%, 60% 80% dan 100%. Hasil penelitian skrining fitokimia menunjukkan hasil positif untuk alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Adapun hasil pengujian zona hambat bakteri masing-masing secara berturut-turut yaitu 7,20 mm; 8,45 mm; 8,70 mm; 9,20 mm dan 10,68 mm. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa adanya kenaikan konsentrasi ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor berpengaruh pada semakin bertambahnya diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

*This study aims to determine the content of secondary metabolites and the effect of concentration on the diameter of the antibacterial inhibition zone of the combination extracts of kaffir lime leaves (*Citrus hystrix*) and Moringa leaves (*Moringa oleifera L.*). This study use experimental methods with qualitative and quantitative approaches. Combination extracts of kaffir lime leaves (*Citrus hystrix*) and Moringa leaves (*Moringa oleifera L.*) were obtained by maceration method using 96% ethanol as solvent. Phytochemical screenings were carried out by testing for alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, steroids, and terpenoids. While the antibacterial test against *Staphylococcus aureus* was carried out using the well method with various concentrations combination extracts of kaffir lime leaves and moringa leaves 20%, 40%, 60% 80% and 100%. The results of the phytochemical screening study showed positive results for alkaloids, flavonoids, tannins, and steroids. The results of the bacterial inhibition zone testing were respectively 7.20 mm; 8.45 mm; 8.70 mm; 9.20 mm and 10.68 mm. Based on the results obtained indicate that an increase in concentration combination extracts of kaffir lime leaves and moringa leaves affects the increasing diameter of the inhibition zone on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.*

How to Cite

Nurjannah, I., Mustariani, B. A. A., & Suryani, N. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Kelor (*Moringa oleifera L.*) Sebagai Zat Aktif pada Sabun Antibakteri. *SPIN-Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*. 4(1), 23-36.

*Correspondence Author:

Jl. Gajah Mada No. 100, Kota Mataram, Indonesia
Email: iinnurjannah70@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan luas sekitar 9 juta km², terletak di antara dua samudera (Pasifik dan Hindia) dan dua benua (Australia dan Asia), memiliki 17.504 pulau dan garis pantai sekitar 95.181 km (Fitriani, dkk., 2018). Kondisi geografis ini menjadikan Indonesia sebagai negara yang kaya akan keanekaragaman hayati yang berpotensi, salah satunya sebagai obat atau antibakteri (Dewantari, dkk., 2018).

Tumbuhan memiliki potensi sebagai antibakteri dikarenakan tumbuhan memiliki beberapa cara untuk melindungi diri dari bakteri, salah satunya adalah dengan menghasilkan senyawa yang bersifat racun atau penolak bagi bakteri. Senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan dikenal sebagai senyawa metabolit sekunder yang berasal dari proses metabolisme sekunder. Beberapa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid yang saat ini banyak digunakan sebagai antibakteri (Goa, dkk., 2021).

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix*) memiliki potensi sebagai antibakteri karena merupakan salah satu tanaman yang menghasilkan senyawa metabolit berupa flavonoid, tanin, saponin, steroid dan terpenoid sekunder (Maulida, dkk., 2020). Bagian daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tanin dan minyak atsiri. Berdasarkan penelitian (Arfania, 2017) yang telah melakukan skrining fitokimia daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dengan menggunakan etanol sebagai pelarut didapatkan hasil dari skrining fitokimia menunjukkan bahwa kandungan di dalam daun jeruk purut

(*Citrus hystrix*) positif mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid.

Adapun tanaman lain yang diketahui mempunyai kemampuan daya hambat antibakteri adalah kelor (*Moringa oleifera L.*). Kelor merupakan tumbuhan perdu dengan tinggi maksimal 10 meter, berbatang lunak dan rapuh, daun sebesar ujung jari berbentuk bulat telur dan tersusun majemuk (Nurhayati, dkk., 2016). Tumbuhan kelor sering disebut “miracle tree” dikarenakan semua bagian tumbuhan kelor sangat bermanfaat bagi kehidupan masyarakat. Mulai dari daun, kulit batang, biji hingga akarnya, tumbuhan ini sudah dikenal luas sebagai tumbuhan obat (Harahap, dkk., 2020). Kandungan kimia daun kelor terutama adalah protein dan sejumlah vitamin A, B dan C; β-karoten; santin: neosantin, violasantin dan zeasantin; flavonoid: astragalin serta glikosida flavonoid dari kuersetin, kaemferol, mirisetin dengan berbagai ragam gula dengan kombinasi gula glukosa, galaktosa, ramnosa, silosa, dan apiosa; kumarin; steroid; alkaloid trigonelin; dan asam lemak (BPOM, 2016).

Adapun penelitian (Dima, dkk., 2016) yang melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan pelarut etanol 95% didapatkan hasil kadar hambat minimum sebesar 12 mm pada bakteri *E. coli* dan 11 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Sampai saat ini belum ada penelitian yang mengkombinasikan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) dalam hal skrining fitokimia dan penghambatan bakterinya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk

mengetahui apa saja kandungan metabolit sekunder dan untuk mengetahui bagaimana pengaruh konsentrasi ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *rotary evaporator* B-ONE, gelas arloji, gelas kimia, ayakan 80 mesh, blender PANASONIC, timbangan analitik EXCELLENT, batang pengaduk, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, stopwatch, plat tetes, corong, hot plate THERMO, gelas ukur, wadah ekstrak, oven MEMMERT, inkubator CO₂ MEMMERT, mikro pipet, dan autoklaf.

Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.), etanol 96% Merch, klorofom

(CHCl₃) Merch, besi (III) klorida (FeCl₃) Merch, serbuk magenesium (Mg) Merch, asam klorida (HCl) Merch, NaOH 10% Merch, reagen Mayer Sigma-Aldrich, reagen Dragendorff Sigma-Aldrich, reagen Wagner Sigma-Aldrich, reagen Liebermann-Burchard Sigma-Aldrich, amoksilin Merch, aquades, kertas saring dan media NA, bakteri uji *Staphylococcus aureus*.

Prosedur

Pengumpulan sampel

Pengumpulan sampel dilakukan tanpa membandingkan dengan daerah lain. Daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) di petik di perkebunan desa Jurumapin, Kec. Buer, Kab. Sumbawa Besar, Nusa Tenggara Barat. Kemudian dilakukan pencucian di bawah air yang mengalir sampai bersih dan ditiriskan, lalu dikeringkan menggunakan oven temperatur ± 55°C sampai kering, dihitung massa sampel setelah kering dan dihitung kadar air yang terdapat pada sampel:

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{(\text{berat awal} - \text{berat akhir})}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

Ekstraksi

Ekstraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menggunakan metode maserasi. Simplisia daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) masing-masing sebanyak 100 g dimasukkan ke dalam wadah yang berbeda dan kemudian ditambahkan etanol 96% (700 mL) dibuat dengan perbandingan 1:7, ditutup menggunakan aluminium foil dan didiamkan selama 1 x 24 jam dan setiap 24 jam dilakukan pengadukan, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan masing-masing ekstrak. Masing-masing ekstrak dievaporasi dengan menggunakan menggunakan *rotary*

evaporator dengan temperatur 89°C dan kecepatan *rotary evaporator* yaitu 183 rpm, sehingga diperoleh ekstrak kental dari daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L) serta dilakukan pengukuran % rendemen. Dilakukan penimbangan masing-masing 10 g ekstrak kental yang didapatkan lalu dilakukan pengkombinasian ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) (Aulyawati et al., 2021).

Pengukuran % Rendemen

Pengukuran % rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal dikalikan dengan 100% (Rekayasa et al., n.d.):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100 \%$$

Sampel yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender hingga halus dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh hingga didapatkan serbuk yang halus dan homogen. Setelah itu dimasukkan ke dalam wadah tertutup yang telah disediakan (Savitri, dkk., 2018).

Pembuatan ekstrak

Ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor diperoleh menggunakan metode maserasi. Dimasukkan simplisia daun jeruk purut dan daun kelor masing-masing 100 gram ke dalam erlenmeyer kemudian direndam dengan pelarut etanol

96% sebanyak 1000 ml, ditutup menggunakan aluminium foil dan didiamkan selama 1 x 24 jam dan setiap 24 jam dilakukan pengadukan, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan tempertaur 70°C, hingga diperoleh ekstrak kental kombinasi daun jeruk purut dan kelor. lalu ditimbang ekstrak yang didapatkan dan dihitung % rendemen, kemudian dilanjutkan dengan menghitung % rendemen ekstrak menggunakan rumus di bawah (Syamsul, dkk., 2020):

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100 \%$$

Skrining fitokimia

Metode pengujian skrining fitokimia yang dilakukan mengikuti dan memodifikasi secara kualitatif dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi, yang telah dilakukan oleh Nugrahani, dkk., 2016.

Uji Flavonoid

Pereaksi HCl

Ditambahkan 3 ml aquades ke dalam 1 ml ekstrak, dididihkan selama 5 menit, kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 fase, dipisahkan fase atas (air) dan fase bawah (kloroform) ke dalam tabung reaksi yang berbeda, dipipet fase air secukupnya ke dalam plat tetes, ditambahkan serbuk Mg secukupnya dan 1 ml HCl ke dalam plat tetes kemudian diaduk, uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada plat tetes.

Pereaksi NaOH 10%

Dimasukkan 1 ml fase air ke dalam plat tetes, ditambahkan 5 tetes pereaksi NaOH 10%, uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna oren atau jingga.

Uji Steroid dan Terpenoid

Dimasukkan 1 mL fase kloroform ke dalam plat tetes, kemudian ditambahkan 5 tetes reagen Liebermann-Burchard ke dalam plat tetes, adanya steroid akan membentuk lapisan cincin warna biru atau hiau, sedangkan terpenoid memberikan warna hijau pekat.

Uji Alkaloid

Diambil sampel sebanyak 1 gram, ditambahkan 1 ml HCl 2N dan 9 ml aquades, kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring, digunakan filtrat untuk uji alkaloid, diambil 3 buah tabung reaksi, lalu dimasukkan 1 ml filtrat ke dalam masing-masing tabung reaksi, ditambahkan masing-masing 5 tetes reagen Mayer, Dragendorff, dan Wagner ke dalam tabung reaksi, uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi pertama, endapan jingga pada tabung reaksi kedua dan endapan coklat pada tabung reaksi ketiga.

Uji saponin

Dimasukkan 1 ml ekstrak ke dalam gelas kimia, ditambahkan 10 ml aquades

dan didihkan selama 5 menit, disaring menggunakan kertas saring, dan filtrat hasil penyaringan digunakan sebagai larutan uji, dimasukkan filtrat ke dalam tabung reaksi kemudian ditutup dan di kocok selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit, ditambahkan 1 ml HCl 2 M, uji positif ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil.

Uji Tanin

Didihkan 1 ml ekstrak dengan 10 ml air lalu disaring, ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%, terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin.

Uji Antibakteri

Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor diuji menggunakan metode sumuran, karena sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Dima, dkk., (2016), dengan modifikasi variasi konsentrasi uji yang digunakan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Disterilisasi alat menggunakan oven dengan temperatur 120°C selama 20-30 menit, pembuatan media NA (*Nutrient agar*), dilarutkan 5 g NA (*Nutrient agar*) ke dalam 250 ml aquades, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dipanas hingga homogen, ditutup mulut erlenmeyer menggunakan aluminium foil, dan disterilisasi di dalam autoklaf pada temperatur 121°C selama ± 15 menit. Bakteri yang sudah diencerkan dengan campuran 100 se susensi bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl dan telah distandarisasi sesuai konsentrasi 0,5 Mc Farland. Kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri di seluruh permukaan media agar tetap tertutup *staphylococcus aureus*. Medium uji didiamkan pada temperatur kamar selama 15 menit untuk

adaptasi bakteri dalam medium, dibuat lubang di media NA yang telah diinokulasikan bakteri menggunakan tabung yang diameternya disesuaikan seperti *paper disk*, kemudian dimasukkan stok konsentrasi ekstrak menggunakan mikropipet sebanyak 50 µl ke dalam setiap lubang di media NA. Media yang telah berisi bakteri uji kemudian diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam. Biarkan bakteri dalam media NA tersebut diamati ada atau tidak zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui zona hambat antibakteri daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) mempunyai potensi sebagai antibakteri diakarenakan kedua tanaman tersebut mempunyai senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid. Untuk menguji daya hambat antibakteri daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dilakukan dengan metode maserasi, dimana maserasi yaitu perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan.

Tahap awal yang dilakukan dalam proses maserasi adalah menyiapkan sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) masing-masing sebanyak 150 gram dan 140 gram yang telah dicuci bersih, pencucian tersebut bertujuan untuk membersihkan kotoran yang menempel di permukaan daun sehingga resiko dari terkontaminasi dapat diminimalkan, pembersihan dilakukan di air yang mengalir. Sampel yang sudah bersih diletakkan di atas loyang dan diratakan, selanjutnya di oven dengan

temperatur 55°C, tujuan penggunaan temperatur 55°C agar menjaga senyawa metabolit yang terdapat pada sampel, dan pengovenan dilakukan sampai kering selama kurang lebih 1 jam, dimana hasil pengeringan diperoleh berat daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) masing-masing sebanyak 140,69 gram dan 126,16 gram. Tujuan pengeringan yaitu untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat di dalam daun jeruk purut dan daun kelor (Saadah, 2020). Setelah itu dilakukan penimbangan massa sampel kering untuk mengetahui kadar air, setelah dilakukan perhitungan kadar air daun jeruk purut adalah 6,21%, dan kadar daun kelor adalah 9,89%.

Sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dihaluskan menggunakan blender, dan disaring menggunakan ayakan 80 mesh, dimana tujuan penghalusan sampel adalah untuk memperluas permukaan sehingga memudahkan masuknya cairan penyari pada proses ekstraksi (Siregar, dkk., 2020). Setelah itu dilakukan proses maserasi, maserasi dilakukan di tempat yang tidak terkena sinar matahari atau cahaya lampu agar sampel tidak rusak. Pelarut yang digunakan pada maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, pemilihan pelarut tersebut karena dapat melarutkan senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan terpenoid senyawa metabolit sekunder memiliki polaritas yang sama akan mempermudah senyawa tersebut larut dalam pelarut etanol 96%, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat sama. Etanol juga mempunyai keuntungan mudah didapat dan murah dibandingkan pelarut yang lainnya (Haryani, dkk., 2021). Perbandingan sampel dan pelarut yang digunakan yaitu

1:5, maka pengeluaran senyawa target ke dalam pelarut dapat berjalan lebih optimal dan pelarut mengalami kejemuhan juga dapat dihindari (Munawar, 2021).

Merasasi dilakukan dalam 3 x 24 jam, setiap 24 jam dilakukan pengadukan. Tujuan pengadukan untuk melarutkan kembali senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Selanjutnya filtrat dari ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur 70°C. Proses evaporasi ini bertujuan untuk menguapkan pelarut etanol yang terdapat pada filtrat, sehingga didapatkan ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor yang lebih pekat (Rosaini, dkk., 2015). Setelah itu ditimbang ekstrak pekat untuk menghitung % rendemen, dan didapatkan berat ekstrak sebesar 24,90 gram dan % rendemen 12,45%. Tujuan perhitungan % rendemen untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu bahan terhadap berat awal simplisia. Ekstrak pekat yang diperoleh pada proses evaporasi digunakan untuk skrining fitokimia dan uji antibakteri.

Skrining fitokimia

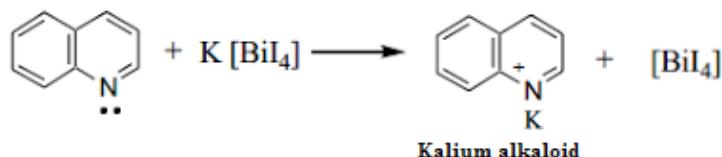
Skrining fitokimia dalam penelitian ini untuk mengetahui metabolit sekunder apa saja yang terkandung di dalam ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor. Adapun senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid.

Alkaloid

Prinsip yang digunakan pada uji alkaloid yaitu reaksi pengikatan yang terjadi karena adanya pengikatan logam. Atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam. Dalam penelitian ini dilakukan 3 percobaan untuk uji alkaloid yaitu menggunakan reagen Mayer, Dragendorff,

dan Wagner. Berdasarkan hasil penelitian, uji positif terdapat pada reagen Dragendorff, karena terbentuknya endapan berwarna jingga setelah penambahan reagen, warna jingga tersebut adalah kalium alkaloid. Nitrogen pada uji alkaloid dengan

reagen Dragendorff digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan K^+ yang merupakan ion logam (Febrianti, dkk., 2020). Adapun reaksi pada uji Dragendorff adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Reaksi Alkaloid dengan reagen Dragendorff (Nugrahani, dkk., 2016).

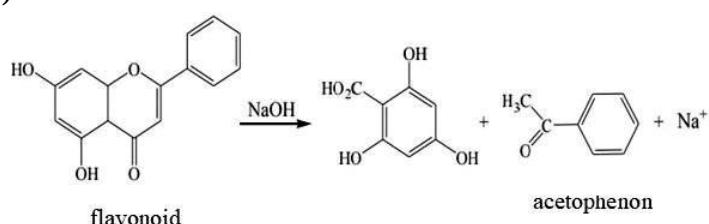


Gambar 2. Hasil skrining fitokimia alkaloid

Flavonoid

Uji flavonoid menggunakan 2 pereaksi yaitu larutan NaOH 10% dan logam Mg dan HCl 10% yang bertujuan untuk mengidentifikasi golongan flavonoid. Pereaksi NaOH 10% digunakan untuk mengidentifikasi kemungkinan adanya golongan flavonoid yang terindentifikasi adalah golongan fenol, sedangkan menggunakan logam Mg dan HCl 10% golongan flavonoid yang terindentifikasi adalah golongan flavonol dan flavon (Salim, dkk., 2021).

Berdasarkan hasil penelitian dari kedua uji yang dilakukan, diperoleh hasil positif menggunakan pereaksi NaOH 10%. Hasil positif dikarenakan ekstrak mengalami perubahan warna menjadi merah, maka sampel dinyatakan positif flavonoid golongan fenol. Hal ini dapat terjadi karena terbentuknya senyawa asetofenon saat sampel direaksikan dengan NaOH (Aribowo, dkk., 2021). Adapun persamaan reaksinya adalah sebagai berikut:

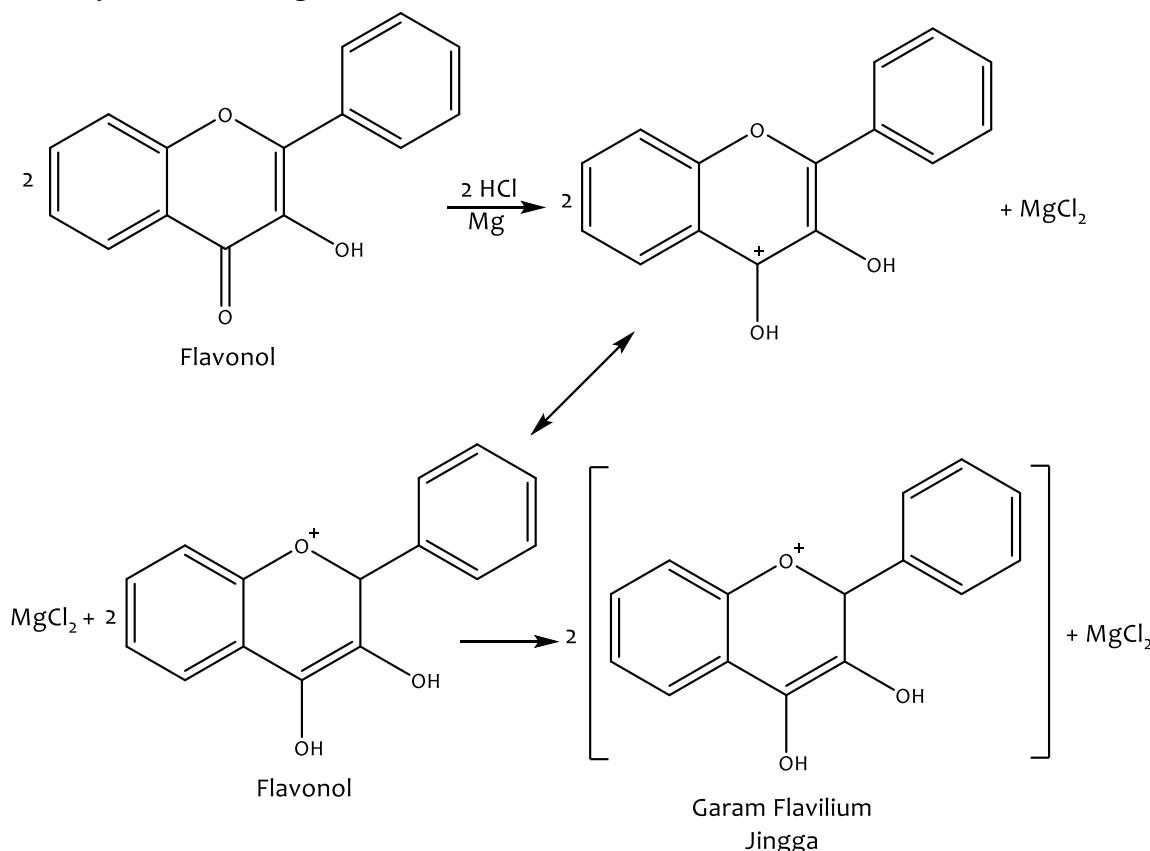


Gambar 3. Reaksi Flavonoid dengan NaOH (Researchgate, 2019).

Uji flavonoid menggunakan pereaksi Mg dan HCl 10% menunjukkan hasil positif dengan terjadinya perubahan warna larutan dari hijau menjadi warna

jingga. Penambahan serbuk Mg bertujuan agar gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg dan fungsi penambahan HCl untuk membentuk garam flavilium yang

berwarna merah jingga. Adapun persamaan reaksinya adalah sebagai berikut:



Gambar 4. Reaksi Flavonoid dengan Mg dan HCl (Ramayani, dkk., 2021).



Gambar 5. Hasil skrining fitokimia flavonoid

Saponin

Uji saponin menunjukkan positif jika terbentuk buih pada saat dikocok selama 10 detik dan didiamkan selama \pm 10 menit. Hasil percobaan yang dilakukan tidak

terbentuk buih. Hal ini menunjukkan hasil negatif dikarenakan ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor tidak terdapat senyawa saponin.

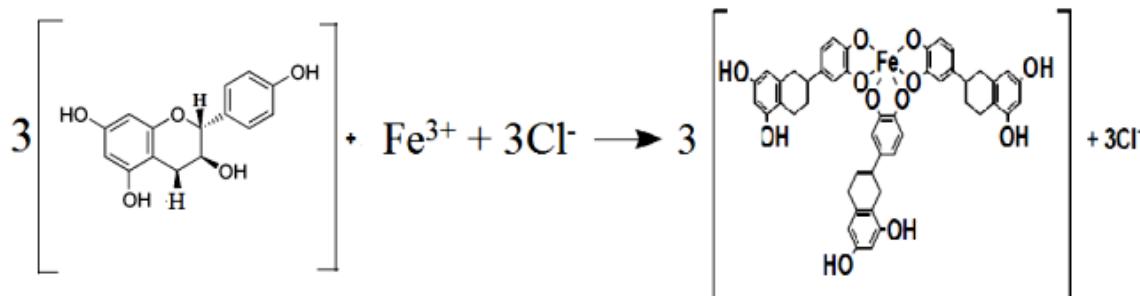


Gambar 6. Hasil skrining fitokimia saponin

Tanin

Uji tanin menggunakan reaksi FeCl_3 1%, menunjukkan hasil positif mengandung tanin yang ditunjukkan dengan perubahan adanya perubahan warna menjadi hijau kecoklatan dengan uji

FeCl_3 . Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara atom logam (logam pusat) dengan atom non logam (atom donor) (Khoiroh, dkk., 2018). Adapun persamaan reaksi tanin dengan FeCl_3 1% adalah sebagai berikut:



Gambar 7. Reaksi Tanin dengan FeCl_3 (Datu, dkk., 2021).

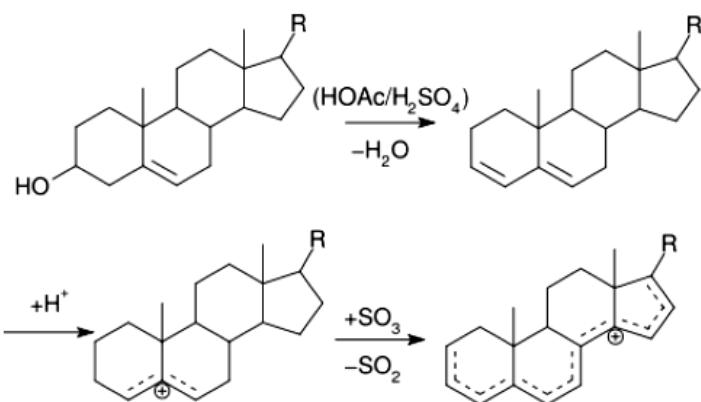
Steroid dan Terpenoid

Uji steroid dan terpenoid menggunakan reagen Liebermann-Burchard. Tujuan penambahan Liebermann-Burchard adalah untuk membentuk turunan asetil dari reaksi asetilasi gugus OH membentuk cincin warna biru atau hijau dan berwarna merah atau ungu (Meigaria, dkk., 2016). Uji steroid menunjukkan hasil positif sedangkan uji terpenoid menunjukkan hasil yang negatif pada pengujian steroid, terjadi perubahan warna menjadi hijau pada larutan uji yang menunjukkan adanya senyawa steroid (Nugrahani, dkk., 2016).

Uji steroid menunjukkan hasil positif karena terjadi kondensasi atau

pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi diawali dengan pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil dan karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya lepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin merah.

Adapun persamaan reaksi dari uji steroid adalah sebagai berikut:



Gambar 9. Reaksi steroid dengan Liebermann-Burchard (Zaini, 2020).



Gambar 10. Hasil skrining fitokimia steroid dan terpenoid.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*)

No.	Skrining fitokimia	Warna standar	Perubahan warna	Hasil
1.	Flavonoid	- Merah, kuning dan jingga (NaOH 10%)	Larutan warna oren	+
		- Merah, kuning dan jingga (Mg dan HCl)	Larutan warna jingga	+
2.	Alkaloid	- Endapan putih (Mayer)	Warna larutan oren dan tidak terdapat endapan	-
		- Endapan merah (Dragendorff)	Terdapat endapan merah	+
		- Endapan coklat Wagner	Warna larutan merah bata	-
3.	Saponin	Busa tetap stabil ± 10 menit	Tidak terbentuk busa	-
4.	Tanin	Coklat kehitaman atau biru kehitaman	Larutan warna coklat kehitaman	+
5.	Steroid	Hijau	Larutan berwarna hijau	+
6.	Terpenoid	Merah-ungu	Larutan berwarna hijau pekat	-

Keterangan:

(+) = Mengandung senyawa

(-) = Tidak mengandung senyawa

Berdasarkan Tabel 1, ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid. Mekanisme kerja dari flavonoid adalah senyawa OH yang terdapat dalam flavonoid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut (Kurama, dkk., 2020). Mekanisme kerja dari tanin

adalah dengan cara menginaktivasi adhesi sel bakteri dan menginaktivasi enzim, serta mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel. Tanin merusak polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna, hal ini yang menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Kurama, dkk., 2020). Mekanisme kerja dari steroid dan terpenoid adalah dengan merusak membran sel bakteri dengan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga terjadi kebocoran sel yang diikuti keluarnya

material intra seluler (Moerena, dkk., 2020). Senyawa fitokimia ini bekerja secara bersama sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Uji Antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang dilakukan menggunakan metode difusi sumuran terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan terdapat

perbedaan diameter zona hambat pada tiap variasi kombinasi ekstrak. Alasan menggunakan metode sumuran karena metode ini dapat mengukur seberapa besar zona hambatan yang terbentuk selain itu zona hambat merupakan petunjuk kepekaan mikroba terhadap antibakteri. Adapun data hasil uji antibakteri untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Pengulangan				Rata-rata (mm)	Diameter Zona Hambat (mm) + SD	Kategori
	I	II	III	IV			
K ₁	6,60	7,30	7,50	7,40	7,20	7,20 ± 0,35	Sedang
K ₂	8,80	7,80	8,50	8,70	8,45	8,45 ± 0,40	Sedang
K ₃	8,30	8,90	8,70	8,90	8,70	8,70 ± 0,25	Sedang
K ₄	9,50	9,50	8,80	9,00	9,20	9,20 ± 0,31	Sedang
K ₅	11,50	10,80	9,50	10,90	10,68	10,68 ± 0,73	Kuat
C+	10,60	10,60	10,60	10,60	10,60	10,60 ± 0,00	Kuat

Keterangan:

K₁ = Konsentrasi 1 K₄ = Konsentrasi 4
K₂ = Konsentrasi 2 K₅ = Konsentrasi 5
K₃ = Konsentrasi 3 C+ = Kontrol positif

Berdasarkan Tabel 2 uji antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat perbedaan diameter zona hambat. Rata-rata zona hambat paling tinggi dimiliki pada konsentrasi 5 (K₅) sebesar 10,68 mm. Pada konsentrasi 5 menggunakan ekstrak konsentrasi kombinasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) 100% yang menunjukkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori kuat, kemudian dilanjutkan pada kontrol positif (C+) sebesar 10,6 mm, kontrol positif merupakan antibiotik pada pengujian antibakteri ini, yang menunjukkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori kuat, dan dilanjutkan berturut-turut pada K₄, K₃, K₂, K₁ sebesar 9,20 mm, 8,70 mm, 8,45 mm,

dan 7,20 mm menunjukkan diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori sedang, sedangkan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* terendah pada kontrol negatif (C-) yang tidak mempunyai diameter zona hambat antibakteri, dikarenakan kontrol negatif digunakan untuk membuktikan bahwa tidak ada diameter zona hambat untuk melarutkan ekstrak.

Berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor dengan berbagai variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki nilai diameter yang berbeda dan memiliki kriteria kekuatan daya hambat sebagai antibakteri berbeda pula. Varian konsentrasi ekstrak kombinasi daun jeruk

purut dan daun kelor sebesar 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% memiliki diameter zona hambat masing-masing sebesar 12,30 mm; 12,70 mm; 13,20 mm; 13,80 mm; 14,50 mm. Berdasarkan hasil diameter zona hambat bakteri tersebut, semakin tinggi konsentrasi ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Simanungkalit, dkk., (2020), semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak, maka semakin tinggi pula kemampuan penghambatannya terhadap pertumbuhan bakteri (Simanungkalit, dkk., 2020).

Terjadinya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor dikarenakan adanya senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak kombinasi daun jeruk purut dan daun kelor berupa alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Adapun cara kerja dari alkaloid adalah dengan cara menghambat penyusunan peptidoglikan pada dinding bakteri oleh senyawa nitrogen pada alkaloid serta menghambat enzim topoisomerase pada sintesis protein sehingga menyebabkan bakteri tersebut lisis (pecah atau rusaknya membran sel pada bakteri yang menyebabkan keluarnya organel sel bakteri) (Liling, dkk., 2020).

Mekanisme kerja dari flavonoid adalah gugus OH yang terdapat pada struktur flavonoid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut. Mekanisme kerja dari tanin adalah dengan cara menginaktivasi adhesi sel bakteri dan menginaktivasi enzim, serta mengganggu transpor protein pada lapisan

dalam sel. Tanin merusak polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna, hal ini yang menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Kurama, dkk., 2020). Mekanisme kerja dari steroid dan terpenoid adalah dengan merusak membran sel bakteri dengan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga terjadi kebocoran sel yang diikuti keluarnya material intra seluler (Mourena, dkk., 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang skrining fitokimia dan uji antibakteri ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) sebagai zat aktif pada sabun antibakteri, dapat disimpulkan bahwa: Ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid. Variasi konsentrasi yang terdiri dari 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki pengaruh terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara berturut-turut 7,20 mm; 8,45 mm; 8,70 mm; 9,20 mm; dan 10,68 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi maka diameter zona hambat bakteri semakin besar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Terpadu UIN Mataram yang telah menyediakan alat dan bahan untuk skrining fitokimia dan Laboratorium Biologi Medica Farma Husada Mataram yang telah menyediakan alat dan bahan untuk pengujian antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Arfania, M. (2017). Telaah Fitokimia Ekstrak Etanol daun Jeruk Purut

- (*Citrus hystrix DC*) Di Kabupaten Karawang. *Pharma Xplore*. 2(2). 131-135.
<https://doi.org/10.36805/farmasi.v2i2.323>
- BPOM RI. (2016). *Serial The Power Of Obat Asli Indonesia Kelor (Moringa oleifera Lam.)*. Jakarta: Badan pengawas Obat dan Makanan.
- Datu, F. N. S., Hasri, & Pratiwi, D. E. (2021). Identifikasi dan Uji Kestabilan Tanin dari Daging Biji Panggi (*Pangium edule Reinw.*) sebagai Bahan Pewarna Alami. *Chemica Jurnal Ilmiah Kimia & Pendidikan Kimia*. 22(1). 29-34.
<https://doi.org/10.35580/chemica.v22i1.21726>
- Dewantari, R., Lintang, M., & Nurmiyati. (2018). Jenis Tumbuhan yang digunakan sebagai Obat Tradisional di Daerah Eks-Karesidenan Surakarta. *Bioedukasi Jurnal Pendidikan Biologi*. 11(2). 118-123.
<https://doi.org/10.20961/bioedukasi-uns.v11i2.19672>
- Dima, L. R. H., Fatimawali, & Lolo, W. A. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 5(2). 282-288.
<https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.12273>
- Febrianti, D. R. & Ariani, N. (2020). Uji Potensi Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 3(1). 66-74.
<https://doi.org/10.36387/jifi.v3i1.458>
- Fitriani, I. N., Arifien, M., & Juhadi. (2018). Fenomena Pulau-Pulau Kecil Terluar dan Wilayah Administratif Indonesia. *Edu Geography*. 6(1). 24-32.
- Goa, R. F., Kopon, A. M., & Boelan, E. G. (2021). Skrining Fitokimia Seyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*) dan Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Asal Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Beta Kimia*. 1(1). 37-41.
- Harahap, A. U, Warly, L., & Evitayani. (2022). *Potensi Daun Kelor (Moringa oleifera) dan Daun Nangka (Artocarpus heterophyllus) Sebagai Pakan Aditif Fungsional Bagi ternak Ruminansia*. Jawa Tengah: CV. Pena Persada.
- Haryani, F., Hakim, A., & Hanifa, N. I. (2021). Perbandingan Pelarut Etanol 96% dan Aseton pada Ekstraksi dan Isolasi Kurkuminoid dari Rimpang Kunyit. *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2(2). 112-117.
<https://doi.org/10.31764/lf.v2i2.5493>
- Ichsani, A., Lubis, C. F., Urbaningrum, L. M., Rahmawati, N. D., & Anggraini, S. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Tanaman. *Jurnal Health Sains*. 2(6). 751-757.
<https://doi.org/10.46799/jhs.v2i6.188>
- Khoiroh, N., Lukiat, B., & Parabaningtyas, S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus epidermidis* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Hayat*. 2(1). 34-44.
- Kurama, G. M., Maarisit, W., Karundeng, E., & Potalangi, N. O. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsat (*Dendroptheo sp*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*. 3(2). 27-33.
<https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i2.281>

- Liling, V. V., Lengkey, Y. K., Sambou, C. N., & Palandi, R. R. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Pepaya *Carica papaya* L. Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*. 3(1). 112-121. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i1.266>
- Maulida, H., Rochman, N., & Setyono. (2020). Daya Insektisida Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan Formula Carrier Zeolit Hama Gudang *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Jurnal Agronida*. 6(2). 90-97. <https://doi.org/10.30997/jag.v6i2.3352>
- Munawar, F. (2021). *Karakteristik dan Aktivitas Antibakteri Larutan Kumur Berbahan Dasar Ekstrak Kombinasi Daun Kunyit (Curcuma longa Linn.) dan Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix)*. (Skripsi). Fakultas Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Mataram, Mataram.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 2(1). 96-103. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.38>
- Nuryanti, S., Mustapa, K., & Sudarmo, I. G. (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Kelor (*Moringa oleifera Lamk*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Akademika Kim*. 5(4). 178-184. <https://dx.doi.org/10.22487/j24775185.2016.v5.i4.8067>
- Ramayani, S. L., Octaviana, R. W., & Asokawati, S. S. (2021). Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Kadar Total Fenolik dan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.)). *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*, 6(2). 1-10.
- Researchgate. (2019). <https://images.app.goo.gl/RdJu2YNyzDAWAi82A>, Diakses pada tanggal 7 Desember 2021, pukul 18,27 WITA.
- Rosaini, H., Rasyid, R., & Hagramida, V. (2015). Penetapan Kadar Protein Secara Kjeldhal Beberapa Makanan Olahan Kerang Remis (*Corbicula moltkina Prime*) Dari Singkrak. *Jurnal Farmasi Higea*. 7(2). 120-127. <http://dx.doi.org/10.52689/higea.v7i2.123>
- Savitri, E., Fakhrurrazi, Harris, A., Sutriana, A., Lubis, T. M. (2018). Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. 2(3). 373-379. <https://doi.org/10.21157/jim%20vet..v2i3.8227>
- Simanungkalit, E. R., Duniaji, A. S., & Ekawati, I. G. A. (2020). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*. *Itepa: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 9(2). 202-210.
- Siregar, S., Indriani., Rizky, V. A., Krisdianilo, V., & Marbun, R. A. T. (2020). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasimed*. 3(1). 39-46. <https://doi.org/10.35451/jfm.v3i1.524>
- Syamsul, E. S., Anugerah, O., & Supriningrum, R. (2020). Penetapan

- Rendemen Ekstrak Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos* L. Alston) Berdasarkan Variasi Konsentrasi Etanol Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 2(3). 147-157.
<https://doi.org/10.33759/jrki.v2i3.98>
- Widjaya, V. M. P., Komala, O., & Ismanto. (2021). Uji Aktivitas *Padina australis* Sebagai Antibakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat. *Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*. 21(1). 27-34.
<https://doi.org/10.33751/ekologia.v21i1.3147>
- Zaini, M., & Shofia, V. (2020). Skrininig Fitokimia Ekstrak *Carica papaya radix*, *Piper ornatum folium* dan *Nephelium lappaceum semen* Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi*. 2(1). 15-27.
<https://doi.org/10.52674/jkikt.v2i1.30>