



Pengaruh Antibakteri Kombinasi Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis* (L.) Osbeck) dan Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*

Regitha Adiba Fayza Purwoko ^{1*}, Riana Putri Rahmawati ², Muhammad Khudzaifi ³

¹⁻³ Universitas Muhammadiyah Kudus, Indonesia

Email : regithaadibaf@gmail.com ¹, rianaputri@umkudus.ac.id ², khudzaifi@umkudus.ac.id ³

Korespondensi penulis: rianaputri@umkudus.ac.id *

Abstract, Sweet orange peel and papaya leaves have been used by the community to prevent and treat various diseases caused by bacterial, fungal, and viral infections. Sweet orange peel contains flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, and terpenoids that can inhibit bacterial growth. While papaya leaves contain active compounds such as alkaloids, flavonoids, steroids, tannins, and terpenoids that can inhibit bacterial growth. *Escherichia coli* bacteria are gram-negative, facultative anaerobic bacteria that can cause intestinal infections, causing diarrhea. The combination of extracts from several plants has greater inhibitory power so that it has greater antibacterial activity than a single plant. The purpose of this study was to determine whether the combination of sweet orange peel and papaya leaf extracts has an effect on the growth of *Escherichia coli* bacteria. The test method used was the disc diffusion method on TSA agar media. Sweet orange peel and papaya leaf extracts in this study were obtained by the maceration method with 96% ethanol solvent. The ratio of extracts used was sweet orange peel and papaya leaves 1:3; 2:2; 3:1. The positive control used was ciprofloxacin. The negative control used was 10% dimethyl sulfoxide (DMSO). The results of this study indicate that the combination of sweet orange peel extract (*Citrus sinensis* L. Osbeck) and papaya leaves (*Carica papaya* L.) has an effect on the growth of *Escherichia coli* bacteria because it produces an inhibition zone around the disc paper. All comparisons, namely 1: 3; 2: 2; 3: 1 are optimal in inhibiting the growth of *Escherichia coli* bacteria with a diameter of the inhibition zone in sequence of 17.78 mm (strong category), 22.14 mm (very strong category), and 26.28 mm (very strong category). Likewise, the positive control produces an inhibition zone of 34.25 (very strong category). The most optimum antibacterial combination shows the diameter of the inhibition zone against *Escherichia coli* bacteria, namely at a ratio of 3: 1.

Keywords: *Escherichia Bacteria*, *Papaya Leaves*, *Sweet Orange Peel*

Abstrak, Kulit jeruk manis dan daun pepaya telah digunakan oleh masyarakat untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri, jamur, virus. Kulit jeruk manis mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan daun pepaya mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, steroid, tannin, dan terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif, fakultatif anaerob yang dapat menyebabkan infeksi pada usus sehingga membuat diare. Kombinasi ekstrak beberapa tanaman memiliki daya hambat yang lebih besar sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang besar dibandingkan tanaman tunggal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah kombinasi ekstrak kulit jeruk manis dan daun pepaya memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Metode pengujian yang digunakan adalah metode difusi cakram pada media agar TSA. Ekstrak kulit jeruk manis dan daun pepaya pada penelitian ini diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Perbandingan ekstrak yang digunakan adalah kulit jeruk manis dan daun pepaya 1:3 ; 2:2 ; 3:1. Kontrol positif yang digunakan adalah *ciprofloxacin*. Kontrol negatif yang digunakan adalah dimetil sulfoksida (DMSO) 10%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Kombinasi antara ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* karena menghasilkan zona hambat pada sekitar kertas cakram. Semua perbandingan yaitu 1:3 ; 2:2 ; 3:1 optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan besar diameter zona hambat secara berurutan yaitu 17,78 mm (kategori kuat), 22,14 mm (kategori sangat kuat), dan 26,28 mm (kategori sangat kuat). Begitupun kontrol positif menghasilkan zona hambat sebesar 34,25 (kategori sangat kuat). Kombinasi antibakteri paling optimum menunjukkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu pada perbandingan 3:1.

Kata kunci: Bakteri *Escherichia*, Daun Pepaya, Kulit Jeruk Manis

1. LATAR BELAKANG

Indonesia negara yang memiliki potensi sumber daya alam yang melimpah, tentunya harus dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dengan mengolah sumber daya alam tersebut secara maksimal (Friatna et al., 2021). Jeruk manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) merupakan salah satu tanaman yang banyak ditanam di pulau Jawa yang memiliki banyak manfaat. Jeruk manis hidup di daerah beriklim sedang di daerah pegunungan dengan ketinggian 1000m di atas permukaan laut (Wijayanti et al., 2019). Produksi buah jeruk manis di Indonesia menduduki peringkat ketiga dari total produksi buah-buahan mengakibatkan tingginya limbah kulit jeruk. Kulit jeruk manis yang saat ini belum banyak masyarakat tau dan belum banyak dimanfaatkan sehingga hanya menjadi sampah (Lestari et al., 2020). Selain jeruk manis salah satu tanaman yang sering ditanam adalah tanaman pepaya. Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman yang memiliki nilai gizi tinggi mulai dari buah, daun, batang, dan akarnya. Pepaya dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan herbal untuk berbagai penyakit sebab diyakini dan telah teruji memiliki nilai obat yang tinggi (Putri & Trimulyono, 2023).

Kulit jeruk manis merupakan salah satu limbah organik yang mempunyai banyak manfaat seperti melindungi kulit dari penuaan dini, melindungi kesehatan mata, mengurangi risiko kanker hati dan mencegah kanker. Kulit jeruk manis juga mampu sebagai penenang, penghalus kulit, hingga obat anti nyamuk. Kulit jeruk manis mempunyai efek antibakteri, antioksidan, dan antidiabetes terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi* (Friatna et al., 2021). Kulit jeruk manis memiliki kandungan senyawa aktif yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin dan terpenoid. Senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas farmakologis sebagai antibakteri (Octaviani et al., 2023). Tanin merupakan salah satu komponen fenolik yang dimanfaatkan sebagai antidiare, detoksikan, anemia dan pencampuran bahan obat (Michiko et al., 2020).

Daun pepaya juga dapat dimanfaatkan berbagai macam penyakit, seperti pengobatan untuk membantu pencernaan, pengobatan kanker, peradangan, mencegah komplikasi diabetes mellitus, pengobatan psoriasis, kronis tukak kulit, kurap, dan pencegahan Human papilloma Virus (HPV). Daun pepaya kaya akan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan papain. Senyawa tersebut mampu berperan sebagai antibakteri. Alkaloid karpain memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Selain sebagai antibakteri, daun pepaya mengandung beberapa senyawa kimia yang bersifat antiseptik, antiinflamasi, antifungal (Hartini & Mursyida, 2019).

Escherichia coli biasanya hidup di saluran pencernaan pada makhluk hidup. *Escherichia coli* patogen pertama kali terdeteksi pada tahun 1935 sebagai penyebab diare. *Escherichia coli* patogen penyebab diare atau disebut juga sebagai diarrheagenic *E. coli* (DEC).

Escherichia coli hidup didalam usus besar manusia yang menyebabkan infeksi pada usus sehingga membuat diare. (Rahayu et al., 2018).

Berdasarkan informasi dari Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) diare menjadi penyebab utama kematian pada bayi dan balita diseluruh dunia. Pada umumnya penyebab diare karena adanya infeksi virus atau bakteri di saluran cerna. Di indonesia diare merupakan penyakit yang sering terjadi terus menerus dan menjadi penyakit potensial Kejadian Luar Biasa yang sering menyebabkan kematian (Zulwanis et al., 2024). Diare yang sampai menyebabkan kematian pada anak balita di indonesia berdasarkan hasil survey demografi kesehatan indonesia masih cukup tinggi kejadiannya (Utami et al., 2022). Pada beberapa kasus dapat menimbulkan gejala haemolytic uraemic syndrom (HUS) yang dapat berakibat gagal ginjal sampai mengakibatkan kematian (Rahayu et al., 2018).

Diare menyebabkan gizi buruk yang mengakibatkan kegagalan pertumbuhan bahkan sampai terjadi penurunan berat badan secara permanen akibat kehilangan cairan dan dehidrasi. Penyebab utama diare pada umumnya adalah mikroba seperti *Escherichia coli*, *Shigella*, *Rotavirus*, *Entamoeba histolytica*, *Salmonella sp*, *Yersinia sp*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* dan juga dapat disebabkan oleh makanan yang terkontaminasi, alergi dan malnutrisi (Hutasoit, 2020). Penularan bakteri *Escherichia coli* dapat melalui buah dan sayuran, bisa juga melalui feses yang mencemari daging pada saat proses penyembelihan, air minum, daging, susu, pangan siap saji, dan jajanan pinggir jalan (Wibawati et al., 2023). Salah satu cara untuk mengobati infeksi bakteri adalah dengan menggunakan antibiotik (Fadrian, 2023). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat atau tidak sesuai dosis yang dianjurkan dapat menyebabkan resisten terhadap antibiotik (Arman et al., 2021). Jika seseorang sudah resisten terhadap antibiotik menyebabkan terapi antibiotik tidak lagi efisien (Putri et al., 2023). Banyaknya kasus kegagalan dalam penggunaan antibiotik sehingga diperlukan pengobatan alternatif lain seperti menggunakan bahan alami yang memiliki senyawa antibakteri sebagai obat tradisional. Bahan alami dianggap lebih aman dan efektif daripada obat dari bahan kimia (Siregar, 2020). Pemanfaatan kulit jeruk manis dan daun pepaya sebagai antibakteri penyebab diare dengan konsentrasi perbandingan kulit jeruk manis dan daun pepaya 1:3 ; 2:2 ; 3:1 sebagai alternatif pengobatan alami dengan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid.

Berdasarkan penelitian Octaviani et al., (2023) membuktikan bahwa ekstrak kulit jeruk manis memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 50% dengan diameter 8,77 mm (Octaviani et al., 2023). Berdasarkan penelitian Hasriyani et al., (2021) ekstrak daun

pepaya memiliki kandungan senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan Konsentrasi ekstrak tertinggi 100% dengan diameter zona hambat sebesar 22,3 mm (Hasriyani et al., 2021). Penelitian dengan kombinasi ekstrak kulit jeruk manis dan daun pepaya telah diteliti oleh Cahyanta et al., (2020) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter zona hambat terbesar diperoleh dari kombinasi ekstrak daun pepaya 1:3 ekstrak kulit jeruk manis dengan rata-rata diameter zona hambat 10,08 mm (Cahyanta et al., 2020).

Kombinasi ekstrak beberapa tanaman memiliki daya hambat yang lebih besar sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang besar pula dibandingkan ekstrak tanaman tunggal (Ngibad, 2019). Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram dapat digunakan untuk menguji Aktivitas antibakteri dengan cara mengukur besarnya daya hambat yang terbentuk pada media agar (Intan et al., 2021). Dengan demikian berdasarkan penelitian terdahulu yang membuktikan bahwa kombinasi ekstrak kulit jeruk manis dan daun pepaya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan perbandingan 1:3 ; 2:2 ; 3:1 sehingga penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan kombinasi ekstrak kulit jeruk dan daun pepaya dengan menggunakan perbandingan 1:3 ; 2:2 ; 3:1 terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi cakram dengan cara mengukur besarnya daya hambat yang terbentuk pada media agar. Penulis mengharapkan bahwa kombinasi ekstrak kulit jeruk manis dan daun pepaya juga mampu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yang lebih kuat dan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan alternatif terapi antibakteri berbasis bahan alami yang lebih efektif dalam menghadapi masalah resistensi antibiotik.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan menggunakan jenis eksperimental laboratorium. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh antibakteri kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) pada perbandingan 1:3 ; 2:2 ; 3:1 terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram. Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Kudus. Populasi penelitian ini adalah tanaman jeruk manis yang diperoleh dari Wisata Argo Petik Jeruk di Jalan Watu Gede RT 03 RW 01 Desa Selorejo Kecamatan Dau Kabupaten Malang Provinsi Jawa Timur yang digunakan bagian kulit jeruk manis sebanyak 4 kg dan tanaman pepaya yang diperoleh dari Griya Sehat Hudaya

Bhakti Wonosobo di Desa Sariyoso RT 01 Rw 02 Kecamatan Wonosobo Kabupaten Wonosobo Provinsi Jawa Tengah yang digunakan bagian daun pepaya sebanyak 3 kg. Sampel penelitian ini adalah simplisia kulit jeruk manis sebanyak 500 gram dan simplisia daun pepaya sebanyak 500 gram. Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah observasi. Data yang diperoleh dari penelitian ini bersifat kualitatif dan kuantitatif. Data yang bersifat kualitatif adalah seperti uji flavonoid, uji alkaloid, uji saponin, dan uji tanin. Data yang bersifat kuantitatif diperoleh dari uji antibakteri dengan difusi cakram. Data yang diperoleh dari analisis kuantitatif kemudian di analisis menggunakan program SPSS. Pengolahan data menggunakan program SPSS dipilih karena SPSS dapat mengakses data dari berbagai format yang ada sehingga data yang telah tersedia dalam beberapa format dapat digunakan secara langsung untuk menganalisis data dan juga data yang diberikan lebih informatif sehingga memudahkan penggunaan untuk membaca hasil yang diberikan. Pertama dilakukan uji normalitas, tujuan dari uji normalitas adalah untuk mengetahui data zona hambat yang diperoleh dalam penelitian terdistribusi normal dimana nilai signifikan $p\text{-value} > 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas. Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan varian setiap data kelompok dimana nilai signifikan $p\text{-value} > 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji One Way ANOVA (Analysis of Variance) dengan sig $p\text{-value} < 0,05$ dan dilanjutkan dengan uji Post hoc dengan sig $p\text{-value} < 0,05$ untuk mengetahui perbedaan signifikan antar diameter zona hambat (Bachtiar et al., 2023).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman uji dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hasil dari determinasi tanaman jeruk manis adalah b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15b - 197a - 198b - 200b - 201b - 202b - 203a Rutaceae 1a Citrus 1a - 2b Citrus sinensis Osb. Sinonim : Citrus sinensis (L.) Osbeck. Hasil dari determinasi tanaman pepaya adalah 1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15a - 109b - 119b - 120a - 121b - 124b - 125a - 126a Caricaceae 1 Carica Carica papaya L. Hasil determinasi yang dilakukan menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini benar mempunyai ciri-ciri kulit dari buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun dari tanaman pepaya (*Carica papaya* L.).

Hasil Pembuatan Serbuk Simplisia

Pembuatan serbuk simplisia kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) menggunakan blender dan kemudian diayak menggunakan mesh no 40. Hasil pembuatan serbuk simplisia dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Hasil Pembuatan Serbuk Simplisia Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Tanaman	Bobot Simplisia (gram)	Bobot Serbuk (gram)
Kulit jeruk manis	800	500
Daun pepaya	700	500

Berdasarkan tabel 1 hasil pembuatan serbuk simplisia kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dengan menggunakan simplisia sebanyak 800 gram diperoleh serbuk simplisia sebanyak 500 gram. Sedangkan hasil pembuatan serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan simplisia sebanyak 700 gram diperoleh serbuk simplisia sebanyak 500 gram.

Hasil Ekstraksi

Proses ekstraksi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol selama 5 hari yang kemudian di evaporator menggunakan alat *vaccum rotary evaporator*. Hasil ekstrak kental dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Tanaman	Bobot Simplisia (gram)	Bobot Serbuk (gram)	Bobot Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%)	Syarat FHI
Kulit Jeruk Manis	700	500	167	33,4	> 10%
Daun Pepaya	800	500	148	29,6	> 10%

Berdasarkan tabel 2 hasil ekstraksi 500 gram serbuk kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) didapatkan ekstrak kental sebanyak 167 gram dengan rendemen 33,4%. Sedangkan

hasil ekstraksi 500 gram serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) didapatkan ekstrak kental sebanyak 248 gram dengan rendemen 49,6%.

Hasil Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan menggunakan prinsip esterifikasi. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 3. Hasil Uji Bebas Etanol Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L. *Osbeck*) Dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Ekstrak Kental	Perlakuan	Hasil	Kesimpulan
Kulit Jeruk Manis	Asam Asetat (CH_3COOH) + Asam Sulfat (H_2SO_4) + dipanaskan	Tidak tercium bau ester	Bebas etanol
Daun Pepaya	Asam Asetat (CH_3COOH) + Asam Sulfat (H_2SO_4) + dipanaskan	Tidak tercium bau ester	Bebas etanol

Berdasarkan tabel 3 hasil uji bebas etanol kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. *Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) didapatkan hasil bahwa ekstrak keduanya positif bebas etanol yang ditandai dengan tidak terciumnya bau ester. Maka dari itu ekstrak yang digunakan sudah tidak terdapat etanol sehingga dapat dipastikan bahwa ekstrak tersebut merupakan ekstrak murni.

Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada dan tidaknya senyawa aktif yang terkandung dalam kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. *Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.). Uji skrining fitokimia pada penelitian ini meliputi uji flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4. Hasil Uji Skrining Fitokimia Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L. *Osbeck*) Dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Uji	Perlakuan	Hasil		Keterangan	Gambar
		Kulit Jeruk Manis	Daun Pepaya		

Flavonoid	Etanol + FeCl ₃ + dididihkan + kocok kuat	Kuning kehitaman	Hijau ke- hitaman	+	
Alkaloid	HCl 2N + reagen mayer	Endapan putih	Endapan putih	+	
Saponin	Air panas + dinginkan + kocok kuat	Terbentuk buih	Terbentuk buih	+	
Tanin	Dipanaskan + FeCl ₃	Coklat ke- hitaman	Hijau ke- hitaman	+	

Berdasarkan tabel 4 hasil uji skrining fitokimia menunjukkan hasil bahwa ekstrak kulit jeruk manis *Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin.

Hasil Uji Aktivitas Bakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Pada uji ini dilakukan terhadap beberapa perlakuan perbandingan ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yaitu 1:3 ; 2:2 ; 3:1, kontrol positif yaitu ciprofloxacin, dan kontrol negatif yaitu DMSO 10%. Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini ditentukan dengan mengukur zona hambat atau zona bening yang terbentuk pada sekitar kertas cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada gambar dan tabel berikut:



Gambar 1
Hasil uji antibakteri kombinasi
ekstrak kulit jeruk manis dan
daun pepaya terhadap bakteri
Escherichia coli



Gambar 2.
Hasil uji kontrol positif dan
kontrol negatif terhadap bakteri
Escherichia coli

Tabel 5. Data Hasil Pengukuran Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Kulit Jeruk Manis
(*Citrus sinensis* L. Osbeck) Dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Kelompok	Variasi	Hasil (mm)			Rata-Rata $\pm$ SD (mm)	Kategori
		R1	R2	R3		
1	1:3	18,06	17,05	18,25	17,78 $\pm$ 0,64	Kuat
2	2:2	20,80	23,28	22,35	22,14 $\pm$ 1,25	Sangat Kuat
3	3:1	25,67	26,14	27,28	26,28 $\pm$ 0,82	Sangat Kuat
Kontrol Positif	ciprofloxacin	42,07	31,00	29,67	34,25 $\pm$ 6,80	Sangat Kuat
Kontrol Negatif	DMSO 10%	0	0	0	0	Tidak Ada

Keterangan :

1:3 = 1 gram Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) : 3 gram Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

2:2 = 2 gram Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) : 2 gram Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

3:1 = 3 gram Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) : 1 gram Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Berdasarkan tabel 5 hasil uji aktivitas antibakteri pada penelitian ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa kelompok 1 dengan variasi perbandingan ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) 1:2 menghasilkan zona hambat sebesar 17,78 mm yang termasuk dalam kategori kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil dari kelompok 2 dengan variasi perbandingan ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) 2:2 menghasilkan zona hambat sebesar 22,14 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil dari kelompok 3 dengan variasi perbandingan ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) 3:1 menghasilkan zona hambat sebesar 26,28 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil dari kontrol positif menggunakan ciprofloxacin menghasilkan zona hambat sebesar 34,25 mm yang memiliki respon hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang paling efektif. Lalu hasil dari kontrol negatif menggunakan DMSO 10% tidak terdapat zona hambat yang terbentuk yang artinya tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Hasil Analisis Data Dengan SPSS

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dianalisis secara statistik menggunakan metode *One Way Anova*. Sebelumnya melalui uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *levene* yang selanjutnya uji *One Way Anova* dan dilanjut dengan uji *post hosc games-howell*.

1. Uji Normalitas

Uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* karena jumlah sampel yang digunakan < 50. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 6. Hasil Uji Normalitas

	KELOMPOK	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diameter zona hambat	Kelompok 1	.860	3	.268
	Kelompok 2	.980	3	.726
	Kelompok 3	.967	3	.652
	Kelompok kontrol positif	.829	3	.187

	Kelompok kontrol negatif	.	3	.
--	--------------------------	---	---	---

Berdasarkan tabel 6 hasil uji normalitas data shapiro-wilk didapatkan hasil sig ($>0,05$) maka data tersebut berdistribusi normal karena syarat dari data terdistribusi normal adalah jika hasil nilai sig $>0,05$.

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas menggunakan uji *levene*. Uji homogenitas untuk menentukan apakah data dalam penilitin homogen atau tidak. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 7. Hasil Uji Homogenitas

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter zona hambat	Based on Mean	11.365	4	10	.001
	Based on Median	1.132	4	10	.395
	Based on Median and with adjusted df	1.132	4	2.123	.513
	Based on trimmed mean	9.517	4	10	.002

Berdasarkan tabel 7 hasil uji homogenitas data didapatkan hasil sig 0,001 ($<0,05$) maka data tersebut tidak homogen. Data diartikan homogen apabila nilai sig $>0,05$. Maka selanjutnya dilakukan uji *ANOVA* dan uji *post hoc Games-Howell*.

3. Uji One Way ANOVA

Uji One Way ANOVA bertujuan mengetahui perbedaan efektivitas antibakteri pada setiap kelompok perlakuan. Hasil uji One Way ANOVA dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 8. Hasil Uji One Way Anova

Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1955.778	4	488.944	50.070	.000
Within Groups	97.652	10	9.765		
Total	2053.430	14			

Berdasarkan tabel 8 hasil uji One Way Anova didapatkan hasil sig 0,000 ($<0,05$) maka data tersebut ada perbedaan karena hasil dari sig $<0,05$. Sehingga secara keseluruhan terdapat pengaruh antara ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan diameter zona hambat.

4. Uji Post Hoc

uji *post hoc* menggunakan *Games-Howell* karena dalam uji homogenitas didapatkan hasil yang tidak homogen. Uji ini dilakukan untuk mengetahui antar kelompok memiliki perbedaan yang nyata atau tidak. Hasil uji post hoc dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 9. Hasil Uji Post Hoc

Dependent Variable: Diameter Zona Hambat						
Games-Howell						
(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	-4.357*	.814	.049	-8.68	-.03
	Kelompok 3	-8.500*	.550	.001	-10.96	-6.04
	Kelompok kontrol positif	-16.460*	3.948	.048	-46.23	13.31
	Kelompok kontrol negatif	17.787*	.372	.001	14.92	20.65
Kelompok 2	Kelompok 1	4.357*	.814	.049	.03	8.68
	Kelompok 3	-4.143	.829	.054	-8.40	.11
	Kelompok kontrol positif	-12.103	3.996	.254	-40.70	16.50
	Kelompok kontrol negatif	22.143*	.723	.003	16.58	27.71
Kelompok 3	Kelompok 1	8.500*	.550	.001	6.04	10.96
	Kelompok 2	4.143	.829	.054	-.11	8.40
	Kelompok kontrol positif	-7.960	3.951	.469	-37.64	21.72
	Kelompok kontrol negatif	26.287*	.405	.001	23.17	29.40
Kelompok kontrol positif	Kelompok 1	16.460*	3.948	.048	-13.31	46.23
	Kelompok 2	12.103	3.996	.254	-16.50	40.70
	Kelompok 3	7.960	3.951	.469	-21.72	37.64
	Kelompok kontrol negatif	34.247*	3.930	.039	4.01	64.49
	Kelompok 1	-17.787*	.372	.001	-20.65	-14.92

Kelompok kontrol negatif	Kelompok 2	-22.143*	.723	.003	-27.71	-16.58
	Kelompok 3	-26.287*	.405	.001	-29.40	-23.17
	Kelompok kontrol positif	-34.247*	3.930	.039	-64.49	-4.01

Berdasarkan tabel 9 hasil uji pos hoc jika data memiliki nilai $p < 0,05$ maka data tersebut terdapat perbedaan yang nyata dengan kelompok yang lain. Jika nilai $p > 0,05$ maka data tersebut tidak terdapat perbedaan yang nyata dengan kelompok yang lain. Hasil uji post hoc menunjukkan diameter zona hambat pada kelompok 1 memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 2, kelompok 3, kontrol positif, dan kontrol negatif ($p < 0,05$). Pada kelompok 2 memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 1 dan kontrol negatif ($p < 0,05$) tetapi tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 3 dan kontrol positif ($p > 0,05$). Pada kelompok 3 memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 1 dan kontrol negatif ($p < 0,05$) tetapi tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 2 dan kontrol positif ($p > 0,05$). Pada kontrol positif memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 1 dan kontrol negatif ($p < 0,05$) tetapi tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Pada kontrol negatif memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 1, kelompok 2, kelompok 3, dan kontrol positif ($p < 0,05$).

Pembahasan

Determinasi Tanaman

Penelitian ini menggunakan kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.). Tanaman jeruk manis dan daun pepaya dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Tujuan dilakukannya determinasi tanaman ini adalah untuk memastikan kebenaran identitas dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian (Astika et al., 2022). Berdasarkan hasil dari determinasi tanaman jeruk manis adalah b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15b – 197a – 198b – 200b – 201b – 202b – 203a Rutaceae 1a Citrus 1a – 2b *Citrus sinensis* Osb. Sinonim : *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Hasil dari determinasi tanaman pepaya adalah 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a – 109b – 119b – 120a – 121b – 124b – 125a – 126a Caricaceae 1 *Carica* *Carica papaya* L. Maka dari itu hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini benar mempunyai ciri-ciri kulit dari buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun dari tanaman pepaya (*Carica papaya* L.).

Pembuatan Serbuk Simplisia

Simplisia kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) pada penelitian ini diperoleh dari Griya Sehat Hudaya Bhakti Wonosobo yang dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat yang teduh tetapi masih terkena sinar matahari setelah itu di oven selama 1,5 jam pada suhu 60°C. Sebelum proses ekstraksi perlu dilakukan penyerbukan simplisia dengan cara menghaluskan simplisia kulit jeruk manis dan daun pepaya menggunakan blender kemudian diayak menggunakan mesh 40 sehingga diperoleh derajat kehalusan yang homogen. Penyerbukan ini bertujuan agar mendapatkan partikel dengan luas permukaan kecil sehingga pelarut ekstrak dapat kontak dan menyari senyawa yang terkandung secara optimal (Azis et al., 2024). Berdasarkan tabel 1 Hasil pembuatan serbuk simplisia kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dengan menggunakan simplisia sebanyak 800 gram diperoleh serbuk simplisia sebanyak 500 gram. Sedangkan hasil pembuatan serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan simplisia sebanyak 700 gram diperoleh serbuk simplisia sebanyak 500 gram.

Ekstraksi

Proses ekstraksi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) pada penelitian ini dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi memiliki banyak keuntungan dalam isolasi senyawa dari bahan alam karena selain ekonomis, metode ini juga sederhana untuk dilakukan (Fakhruzy et al., 2020). Etanol 96% dipilih sebagai pelarut pada penelitian ini karena etanol 96% memiliki kemampuan penyerapan yang tinggi sehingga dapat menyerap berbagai jenis senyawa dengan baik, baik yang bersifat non-polar, semi polar, dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk menembus ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah sehingga dapat menghasilkan ekstrak yang lebih pekat (Ananta et al., 2021). Perbandingan pelarut dan simplisia yang digunakan yaitu 1:10. Hal ini karena semakin banyak pelarut yang di tambahkan maka semakin besar tekanan yang diberikan, sehingga menghasilkan ekstrak yang lebih banyak (Asworo & Widwastuti, 2023)

Proses maserasi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) pada penelitian ini menggunakan 500 gram serbuk kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan 500 gram serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan 5000 ml etanol 96% yang direndam masing-masing selama 5 hari dan sesekali diaduk. Setelah 5 hari perendaman kemudian di saring dan didapatkan ekstrak cair. Selanjutnya filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C dengan tekanan 100 mBar untuk menghilangkan pelarut yang terdapat pada ekstrak sehingga didapatkan ekstrak kental, hal ini sudah sesuai dengan literatur

agar menjaga zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak (Purba et al., 2019). Berdasarkan tabel 4.2 hasil ekstaksi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) didapatkan ekstrak kental sebanyak 167 gram dengan rendemen 33,4%. Sedangkan hasil ekstraksi daun pepaya (*Carica papaya L.*) didapatkan ekstrak kental sebanyak 148 gram dengan rendemen 29,6%. Syarat rendemen ekstrak menurut farmakope Herbal Indonesia tahun 2017 yaitu tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Sehingga dapat dikatakan bahwa hasil rendemen kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik karena menurut literatur sudah memenuhi syarat.

Uji Bebas Etanol

Berdasarkan tabel 3 hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa hasil uji ekstrak kental kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang diperoleh tidak tercium bau ester, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak kental kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) sudah bebas etanol. Dengan demikian hasil ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) sudah termasuk ekstrak murni karena menurut literatur bahwa ekstrak yang murni yaitu ekstrak yang sudah tidak mengandung etanol ditandai dengan tidak terciumnya bau ester pada saat dipanaskan setelah penambahan asam asetat (CH_3COOH) dan asam sulfat (H_2SO_4) (Tivani et al., 2021).

Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa tertentu yang terkandung dalam suatu ekstrak. Uji skrining fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk menentukan keberadaan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel (Qomaliyah et al., 2023). Untuk memastikan adanya senyawa antibakteri maka perlu dilakukan uji identifikasi senyawa metabolit sekunder atau uji skrining fitokimia. Jenis senyawa metabolit sekunder yang di uji pada penelitian ini adalah flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin.

Berdasarkan tabel 4 pada uji skrining fitokimia flavonoid didapatkan hasil pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) terjadi perubahan warna menjadi kuning kehitaman, sedangkan pada daun pepaya (*Carica papaya L.*) terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Hasil tersebut dapat dikatakan bahwa kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) mengandung senyawa flavonoid. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa ekstrak yang positif mengandung senyawa flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru, ungu, hijau, merah maupun hitam (Kumalasari & Andiarna, 2020).

Hasil uji skrining fitokimia flavonoid didapatkan hasil pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) keduanya sama-sama terdapat endapan berwarna putih. Hasil tersebut dapat dikatakan bahwa kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung senyawa alkaloid. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa ekstrak yang positif mengandung senyawa alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna putih (Cahyanta et al., 2020).

Hasil uji skrining fitokimia saponin didapatkan hasil pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) keduanya sama-sama terbentuk busa. Hasil tersebut dapat dikatakan bahwa kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung senyawa saponin. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa ekstrak yang positif mengandung senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa atau buih (Kumalasari & Andiarna, 2020).

Hasil uji skrining fitokimia tanin didapatkan hasil pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) terjadi perubahan warna menjadi coklat kehitaman, sedangkan pada daun pepaya (*Carica papaya* L.) terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Hasil tersebut dapat dikatakan bahwa kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung senyawa tanin. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa ekstrak yang positif mengandung senyawa tanin ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau kecoklatan atau biru hitam (Kumalasari & Andiarna, 2020).

Pada penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) keduanya positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan literatur yang ada yaitu menurut penelitian dari (Cahyanta et al., 2020) menyatakan bahwa ekstrak kental kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Cahyanta et al., 2020)

Uji Aktivitas Antibakteri

Penelitian ini untuk menguji pengaruh antibakteri dari kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini dapat menyebabkan diare. Metode yang digunakan pada uji antibakteri adalah metode difusi cakram (Kirby-Bauer). Difusi cakram merupakan metode konvensional untuk pengujian kerentanan antimikroba dengan melakukan pengukuran daerah zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Metode difusi cakram memiliki kelebihan

yaitu proses pengujian yang lebih cepat, biaya murah serta tidak perlu keahlian khusus. Pengujian daya hambat bakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sekitar kertas cakram (Intan et al., 2021).

Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) pada penelitian ini terbentuk daerah zona bening disekitar kertas cakram pada perbandingan kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) 1:3 ; 2:2 ; 3:1. Kontrol positif pada penelitian ini menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 34,25 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Diameter zona hambat dari kontrol positif lebih besar dibandingkan dengan ekstrak dan kontrol negatif. Untuk kontrol negatif tidak terbentuk adanya zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antibakteri, sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut akan tetapi karena aktivitas senyawa yang terkandung pada kombinasi ekstrak kulit jeruk manis dan daun pepaya.

Hasil uji dikatakan lemah apabila zona hambat yang dihasilkan memiliki diameter < 5 mm. Zona hambat dengan diameter 5-10 mm masuk dalam kategori sedang. Zona hambat dengan diameter 10-20 mm masuk dalam kategori kuat. Zona hambat dengan diameter >20 mm masuk dalam kategori sangat kuat (Masykuroh & Heny, 2022). Hasil rata-rata diameter zona hambat pada perbandingan kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) 1:3 sebesar 17,78 mm yang termasuk dalam kategori kuat. Hasil rata-rata diameter zona hambat pada perbandingan kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) 2:2 sebesar 22,14 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Hasil rata-rata diameter zona hambat pada perbandingan kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) 3:1 sebesar 26,28 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat.

Hasil uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini diketahui bahwa semakin tinggi kandungan ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Penelitian ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat terbesar adalah pada perbandingan kombinasi ekstrak 3:1 dengan kategori sangat kuat, dimana dengan kandungan ekstrak kulit jeruk yang lebih banyak daripada ekstrak daun pepaya. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Cahyanta et al., 2020) yang juga meneliti aktivitas antibakteri kombinasi kulit jeruk manis *Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) menggunakan bakteri *Propionibacterium acne*. Akan tetapi pada penelitian ini menggunakan bakteri *Escherichia coli* menghasilkan zona hambat yang lebih besar daripada

penelitian sebelumnya yang menggunakan bakteri *Propionibacterium acne*. Hal ini disebabkan oleh variasi sensitivitas bakteri terhadap senyawa aktif dalam ekstrak atau juga adanya perbedaan respon antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, dan juga dapat diakibatkan karena perbedaan varian bahan uji yang digunakan (Prasasti et al., 2024). Selain itu juga dapat disebabkan oleh kekeruhan suspensi bakteri. Jika suspensi bakteri kurang keruh maka diameter zona hambat akan semakin besar, begitupun sebaliknya jika suspensi bakteri semakin keruh maka diameter zona hambat akan semakin kecil (Malik et al., 2023).

Berdasarkan penelitian Octaviani et al., (2023) menyatakan bahwa ekstrak tunggal kulit jeruk manis pada konsentrasi tertinggi yaitu 50% memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar 8,77 mm termasuk dalam kategori sedang. Berdasarkan penelitian Hasriyani et al., (2021) membuktikan bahwa ekstrak tunggal daun pepaya pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar 22,3 mm termasuk dalam kategori sangat kuat. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki efek sinergisme yang dimana interaksi dua senyawa aktif yang terkandung pada kedua tanaman tersebut dapat menghasilkan efek yang lebih optimal dibandingkan menggunakan bahan tunggal.

Aktivitas senyawa metabolit sekunder berkontribusi terhadap efek antibakteri kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.). Dari uji fitokimia kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin yang merupakan senyawa antibakteri. Hal ini didukung oleh penelitian marfu'ah (2021) yang menyatakan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid, terpenoid, saponin, tanin, dan alkaloid memiliki potensi antibakteri (Marfu'ah et al., 2021). Flavonoid bersifat antibakteri memiliki mekanisme kerja yaitu dengan merusak dinding sel yang terdiri dari lipid dan asam amino. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat komponen penyusun peptidoglikan pada sintesis dinding sel sehingga menjadikan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri akibatnya bakteri akan mati. Mekanisme kerja saponin yaitu menyebabkan membran sel bakteri rusak dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga menghambat permeabilitas membran sel. Mekanisme tanin sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat permeabilitas sel bakteri dengan cara mengerutkan dinding sel. (Rahmawati et al., 2021). Berdasarkan penelitian ini kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebagai alternatif

antibiotik. Hal ini dibuktikan oleh hasil uji antibakteri kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi sangat kuat.

Analisis Data SPSS

Hasil analisis statistik uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menggunakan program SPSS. Pertama dilakukan uji normalitas, tujuan dari uji normalitas adalah untuk mengetahui data zona hambat yang diperoleh dalam penelitian terdistribusi normal dimana nilai signifikan $p\text{-value} > 0,05$. Dikarenakan data yang di uji berjumlah kurang dari 50 maka normalitas data di uji dengan uji Saphiro-Wilk. Hasil uji normalitas pada penelitian ini didapatkan hasil signifikan karena semua data bernilai $p > 0,05$ yang mempunyai arti signifikan. Hal ini menandakan data pada penelitian ini terdistribusi normal (Bachtiar et al., 2023). Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas. Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan varian setiap data kelompok dimana nilai signifikan $p\text{-value} > 0,05$. Hasil uji Levene didapatkan hasil yang tidak signifikan karena bernilai 0,001 dimana data bernilai $p < 0,05$, yang memiliki arti tidak signifikan. Hal ini menandakan data pada penelitian ini tidak terdistribusi homogen. Dikarenakan masing-masing kelompok uji berjumlah sama, uji statistik *One Way ANOVA* masih dapat memberikan hasil yang akurat walaupun data tidak terdistribusi homogen (Rishliani, 2022) Selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA* (Analisis of Variance). Hasil uji *One Way Anova* didapatkan hasil sig 0,000 ($<0,05$) maka data tersebut ada perbedaan yang signifikan, karena hasil dari sig $<0,05$. Sehingga secara keseluruhan terdapat pengaruh antara ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan diameter zona hambat. Untuk mengetahui antar kelompok memiliki perbedaan yang nyata selanjutnya dilakukan uji post-hoc (Bachtiar et al., 2023).

Uji post-hoc dilakukan menggunakan uji *Games-Howell*. Uji *Games-Howell* adalah prosedur yang paling akurat digunakan ketika analisis uji homogenitas tidak terdistribusi homogen, tetapi memiliki jumlah data yang sama pada masing-masing kelompok uji (Malik et al., 2023). Hasil uji pos-hoc jika data memiliki nilai $p < 0,05$ maka data tersebut terdapat perbedaan yang nyata dengan kelompok yang lain. Jika nilai $p > 0,05$ maka data tersebut tidak terdapat perbedaan yang nyata dengan kelompok yang lain.

Hasil uji post hoc menunjukan diameter zona hambat pada kelompok 1 memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 2, kelompok 3, kontrol positif, dan kontrol negatif ($p < 0,05$). Hal ini karena kelompok 1 memiliki diameter zona hambat yang lebih kecil dari

kelompok yang lain. Pada kelompok 2 memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 1 dan kontrol negatif ($p < 0,05$) tetapi tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 3 dan kontrol positif ($p > 0,05$). Pada kelompok 3 memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 1 dan kontrol negatif ($p < 0,05$) tetapi tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 2 dan kontrol positif ($p > 0,05$). Pada kontrol positif memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 1 dan kontrol negatif ($p < 0,05$) tetapi tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Pada kontrol negatif memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 1, kelompok 2, kelompok 3, dan kontrol positif ($p < 0,05$), yang berarti kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) 1:3 ; 2:2 ; 3:1 memiliki aktivitas antibakteri.

Maka dari itu pada kelompok 2, kelompok 3, dan kontrol positif tidak ada perbedaan yang nyata. Hal ini sejalan dengan hasil uji aktivitas antibakteri yang menunjukkan rata-rata diameter zona hambat yang hampir sama antara kelompok 2, kelompok 3, dan kontrol positif. Pada kelompok 1 dan kontrol negatif memiliki perbedaan yang nyata. Hal ini sejalan dengan hasil uji aktivitas antibakteri yang menunjukkan hasil nilai rata-rata zona hambat kelompok 1 dan negatif yang berbeda dengan kelompok 2, kelompok 3, dan kontrol positif. Pada kelompok 3 adalah kelompok tertinggi dengan nilai daerah hambat terbaik antar variasi perbandingan dan kelompok 2 adalah kelompok terendah dengan daerah hambat terbaik antar variasi perbandingan.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* karena menghasilkan zona hambat disekitar kertas cakram. Hasil dari zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada perbandingan ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) 1:3 mendapatkan hasil 17,78 termasuk dalam kategori kuat, pada perbandingan kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) 2:2 mendapatkan hasil 22,14 mm termasuk dalam kategori sangat kuat, pada perbandingan kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) 3:1 mendapatkan hasil 26,28 termasuk dalam kategori sangat kuat. Kombinasi antibakteri paling optimum menunjukan diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu pada perbandingan kombinasi ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*

L. Osbeck) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) 3:1. Semakin tinggi kandungan ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk.

Saran

Perlu dilakukan pengujian dengan menggunakan bakteri lain serta peningkatan jumlah pelarut. Diharap peneliti selanjutnya dapat menyertakan pengujian kadar senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) agar dapat diketahui jumlah kadar dari masing-masing senyawa aktif, dan juga dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri kombinasi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L. Osbeck*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) untuk pengembangan menjadi obat herbal alternatif.

DAFTAR REFERENSI

- Ananta, D., Putra, G., & Arnata, I. W. (2021). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*). *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 9(2), 186–197.
- Arman, E., Pebriansyah, R., & Novita Yusuf, R. (2021). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kesehatan Saintika Meditory*, 6, 296–296. <https://jurnal.syedzasaintika.ac.id>
- Astika, R. Y., Sani K, F., & Elisma. (2022). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(1), 14–23. <https://doi.org/10.51352/jim.v8i1.465>
- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), 256–263. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>
- Azis, M. A., Wardani, T. S., & Fitriawati, A. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi n- Heksan , Etil Asetat , Air Kulit Buah Naga Putih (*Hylocereus Undatus*) Terhadap *Staphylococcus Epidermidis* ATCC 12238. *OBAT: Jurnal Riset Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 2(4), 41–56.
- Cahyanta, A. N., Listina, O., & Chairunnisa, D. C. (2020). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Pepaya Dan Kulit Jeruk Manis *Propionibacterium acne* Penyebab Jerawat Secara In-Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 22. <https://doi.org/10.30591/pjif.v9i1.1845>
- Cahyanta, A. N., Listina, O., & Chairunnisa, D. C. (2020). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Pepaya Dan Kulit Jeruk Manis *Propionibacterium acne* Penyebab Jerawat Secara In-Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 22. <https://doi.org/10.30591/pjif.v9i1.1845>
- Fadrian. (2023). Antibiotik, Infeksi Dan Resistensi. Andalas University Press.

- Fakhruzy, Kasim, A., Asben, A., & Anwar, A. (2020). Review: Optimalisasi Metode Maserasi Untuk Ekstraksi Tanin Rendemen Tinggi. *Menara Ilmu*, XIV(2), 38–41.
- Farmakope Herbal Indonesia. (2017). Herbal Indonesia Herbal. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Friatna, E., Rizqi, A., & Tanti Hidayah, D. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis*) Sebagai Alternatif Bahan Pembuatan Masker Wajah. *Pelita*, 6(2), 1–10.
- Hartini, S., & Mursyida, E. (2019). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. *Klinikal Sains : Jurnal Analis Kesehatan*, 7(1), 8–17. https://doi.org/10.36341/klinikal_sains.v7i1.590
- Hasriyani, Nurul Muzayyanah, M., Zulfah Primananda, A., & S, I. (2021). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Seminar Nasional Farmasi UAD*, 1, 146–157.
- Hutasoit, D. P. (2020). Pengaruh Sanitasi Makanan dan Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli* Terhadap Penyakit Diare. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 779–786. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i2.399>
- Intan, K., Diani, A., Suci, A., Nurul, (2021). Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*, 8(2), 121–127.
- Kumalasari, M., & Andiarna, F. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Indonesia Journal for Health Sciences*, 4(1), 39–44.
- Lestari, D., Vidayanti, E., & Jumari, A. (2020). Lilin Aromaterapi dari Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*). *Equilibrium Journal of Chemical Engineering*, 3(2), 69. <https://doi.org/10.20961/equilibrium.v3i2.43098>
- Malik, A., Nurdiana, H., & Setiawan, I. (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R.br) yang Tumbuh di Desa Bolok Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi*. *Jurnal Kajian Veteriner*, 11(1), 28–37. <https://doi.org/10.35508/jkv.v11i1.10387>
- Marfu'ah, N., Sha'sha, Luthfiana, & Ichwanuddin. (2021). Uji Potensi Antibakteri *Staphylococcus aureus* Dari Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.). *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 5(2), 1–10. <https://ejournal.unida.gontor.ac.id/index.php/pharmasipha/issue/archive>
- Masykuroh, A., & Heny, P. (2022). Aktivitas Anti Bakteri Nano Partikel (NPP) Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Keladi Sarawak *Alocasia macrorrhizos* Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 7(1), 76–85. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Michiko, M., Manalu, C. V., & Mutia, M. S. (2020). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*, 5(1), 6–9.

<https://doi.org/10.37887/jimkesmas.v5i1.10552>

- Ngibad, K. (2019). Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Bunga Matahari dan Tanaman Anting-Anting sebagai Antimalaria Secara In Vivo. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(1), 12–19. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i1.11860>
- Octaviani, M., Masnun, L., Nasution, M. R., Susanti, E., Utami, R., & Furi, M. (2023). Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Jeruk Manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *JFIONline | Print ISSN 1412-1107 | e-ISSN 2355-696X*, 15(2), 126–133. <https://doi.org/10.35617/jfionline.v15i2.140>
- Prasasti, A., Fitria Lestari, I., & Anggraini, A. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Nursing Update : Jurnal Ilmiah Ilmu Keperawatan P-ISSN : 2085-5931 e-ISSN : 2623-2871*, 15(2), 429–434. <https://doi.org/10.36089/nu.v15i2.2196>
- Putri, C. I., Wardhana, M. F., Andrifanie, F., & Iqbal, M. (2023). Kejadian Resistensi Pada Penggunaan Antibiotik. *Medula*, 13(3), 219–225.
- Putri, D., & Trimulyono, G. (2023). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *12(1984)*, 172–178.
- Qomaliyah, E. N., Indriani, N., Rohma, A., & Islamiyati, R. (2023). Skrining Fitokimia, Kadar Total Flavonoid dan Antioksidan Daun Cocor Bebek. *Current Biochemistry*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.29244/cb.10.1.1>
- Rachmi Bachtiar, Asmah, N., & Chikarina Arif, A. (2023). Efek Antibakteri Ekstrak Buah Kurma Ajwa (*Phoenix Dactylifera* L). *DENThalib Journal*, 1(1), 1–6.
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli*: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko. *IPB Press*, 1–151.
- Rahmawati, R. P., Anggun, L., Primandana, A. Z., & Dwiyaniti, U. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Daun Suruhan (*Peperonia pellucida* (L.) Kunth) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* dengan Metode Difusi Cakram. *IJF (Indonesia Jurnal Farmasi)*, 6(1), 22–27.
- Rishliani, Y. R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr.) Terhadap *Propionibacterium Acnes*. In *Skripsi*.
- Siregar, I. P. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Mandi Celup Daun Binahong Dalam Membantu Mengurangi Jerawat Punggung. *HEJ (Home Economics Journal)*, 4(2), 56–61.
- Tivani, I., Amananti, W., Putri, A. R., & Bersama, P. H. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri handwash Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *7(1)*, 86–91.
- Utami, P. R., Indrayati, S., & Satya, W. (2022). Kombinasi Ekstrak Lidah Buaya dengan Antibiotik Ciprofloxacin dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*, 9(1), 7–14.

<https://doi.org/10.33653/jkp.v9i1.772>

- Wibawati, P. A., Hartadi, E. B., Kartikasari, A. M., Wardhana, D. K., & Abdramanov, A. (2023). *Prevalence and profile of antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from broiler meat in East Java, Indonesia. International Journal of One Health*, 9(1), 27–31. <https://doi.org/10.14202/IJOH.2023.27-31>
- Wijayanti, M., Putri, T. N., Widowati, D. W., Wijayanti, R. T., Triasningrum, M. J., & Setyaningsih, E. (2019). Potensi Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis*) Untuk Mengatasi Masalah Ketombe. *Artikel Pemakalah Paralel*, 4(1), 310–313.
- Zulwanis, Z., Kulla, P. D. K., & Saulie, D. A. (2024). Uji Efektivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) dan Batang Serai (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Journal of Healthcare* 10(1), 475–485. <https://jurnal.uui.ac.id/index.php/JHTM/article/view/4034%0Ahttps://jurnal.uui.ac.id/index.php/JHTM/article/viewFile/4034/1964>