

Uji Efektivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* Dc.) terhadap *Escherichia Coli*

Yuni Rahmayanti¹, T. Arjun Riski^{2*}, Abdul Wahab³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Abulyatama, Aceh Besar, Indonesia

^{2,3} Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Abulyatama, Aceh Besar, Indonesia

*Corresponding author: tarjunriski2@gmail.com

Abstrak: Infeksi *Escherichia coli* tetap menjadi masalah kesehatan penting, sementara peningkatan resistensi antibiotik mendorong pencarian antibakteri alternatif berbasis bahan alam. Kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, limonoid dan minyak atsiri yang berpotensi antibakteri. Penelitian ini bertujuan menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit jeruk purut terhadap *E. coli* serta menentukan konsentrasi dengan daya hambat terbesar. Desain penelitian adalah eksperimental laboratorium *post-test only control group*. Ekstraksi dilakukan melalui maserasi menggunakan etanol 70%, kemudian aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi cakram pada media Mueller-Hinton Agar (MHA) menggunakan empat konsentrasi ekstrak (5%, 10%, 20%, dan 40%). Kloramfenikol 30 µg digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Diameter zona hambat diukur setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C, kemudian dianalisis menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, *Levene*, *One-Way ANOVA* dan *Tukey HSD*. Hasil menunjukkan rerata diameter zona hambat meningkat seiring kenaikan konsentrasi, yaitu $6,11 \pm 0,51$ mm (5%), $6,24 \pm 0,10$ mm (10%), $6,85 \pm 0,24$ mm (20%), dan $7,52 \pm 0,55$ mm (40%), sedangkan kontrol positif menghasilkan zona hambat $32,59 \pm 0,67$ mm dan kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat. Uji *One-Way ANOVA* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p = 0,008$). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, dengan konsentrasi 40% memberikan efek penghambatan paling besar dibandingkan konsentrasi lainnya.

Kata kunci: difusi cakram; maserasi; resistensi antibiotik; zona hambat.

Abstract: *Escherichia coli* infection remains an important health problem, while the increasing prevalence of antibiotic resistance has encouraged the search for alternative antibacterial agents derived from natural sources. Kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) peel contains secondary metabolites, such as flavonoids, tannins, limonoids, and essential oils, which have potential antibacterial activity. This study aimed to analyze the antibacterial activity of ethanol extract of kaffir lime peel against *E. coli* and to determine the concentration with the greatest inhibitory effect. This study employed a laboratory experimental design using a post-test only control group design. The extraction was performed using the maceration method with 70% ethanol, followed by antibacterial activity testing using the disk diffusion method on Mueller-Hinton Agar (MHA) at four extract concentrations: 5%, 10%, 20%, and 40%. Chloramphenicol 30 µg was used as the positive control, while 5% DMSO was used as the negative control. The inhibition zone diameters were measured after 24 hours of incubation at 37°C and analyzed using the Shapiro-Wilk, Levene's, One-Way ANOVA and Tukey HSD tests. The results showed that the mean inhibition zone diameter increased with increasing extract concentration, measuring 6.11 ± 0.51 mm (5%), 6.24 ± 0.10 mm (10%), 6.85 ± 0.24 mm (20%), and 7.52 ± 0.55 mm (40%). The positive control produced an inhibition zone of 32.59 ± 0.67 mm, whereas the negative control showed no inhibition zone. One-Way ANOVA revealed a significant difference among the treatment groups ($p = 0.008$). It can be concluded that ethanol extract of kaffir lime peel exhibits antibacterial activity against *E. coli*, with the 40% concentration demonstrating the greatest inhibitory effect compared with the other concentrations.

Keywords: disc diffusion; maceration; antibiotic resistance; inhibition zone.

Pendahuluan

Indonesia memiliki kekayaan biodiversitas yang besar dengan lebih dari 7.000 spesies tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Potensi farmakologis tanaman tersebut berkaitan dengan kandungan senyawa fitokimia, seperti minyak atsiri, flavonoid, alkaloid,

steroid, dan triterpenoid (Siregar et al., 2020). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antibakteri alami adalah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dari famili Rutaceae. Selain dimanfaatkan sebagai penyedap makanan, kulit jeruk purut mengandung senyawa aktif seperti tanin, flavonoid, dan alkaloid yang memiliki aktivitas biologis, termasuk antibakteri (Habibi et al., 2024). Minyak atsiri kulit jeruk purut juga mengandung limonene, β -pinene, citronellol, dan linalool yang dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba terhadap berbagai bakteri, termasuk *Escherichia coli* (Pradita et al., 2025).

Escherichia coli merupakan bakteri Gram-negatif yang secara normal terdapat dalam mikrobiota saluran pencernaan, tetapi dapat menyebabkan infeksi, termasuk infeksi saluran kemih dan saluran pencernaan (Khairunnida et al., 2020). Infeksi bakteri masih menjadi permasalahan kesehatan karena dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas, sementara penggunaan antibiotik yang tidak tepat berkontribusi terhadap meningkatnya resistensi antimikroba (Baroroh et al., 2025). Kondisi tersebut mendorong perlunya pengembangan antibakteri alternatif berbasis bahan alam yang berpotensi efektif, aman dan terjangkau (Niswah et al., 2023).

Salah satu infeksi saluran pencernaan akibat *E. coli* adalah diare yang dapat disertai demam, nyeri perut, penurunan nafsu makan dan dehidrasi (Hutasoit, 2020). Data Survei Kesehatan Indonesia tahun 2023 menunjukkan prevalensi diare pada balita meningkat dari 6,7% menjadi 7,4%, dengan insidensi 10,6 per 1.000 penduduk, bahkan mencapai 43% di Gayo Lues. Kejadian tersebut berkaitan dengan infeksi bakteri seperti *E. coli*, sanitasi dan penerapan perilaku hidup bersih, termasuk kebiasaan mencuci tangan (Hutasoit, 2020). Berdasarkan kondisi tersebut, kulit jeruk purut berpotensi dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami terhadap *E. coli* sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terhadap bakteri tersebut.

Berdasarkan permasalahan tersebut, eksplorasi tanaman obat sebagai sumber antibakteri perlu terus dilakukan. Kulit buah jeruk purut memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian Azkia et al. (2023) telah menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terhadap *E. coli*, dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang diikuti peningkatan kemampuan penghambatan. Namun, penelitian tersebut menggunakan konsentrasi maksimum 30%, sehingga belum diketahui apakah peningkatan konsentrasi ekstrak di atas 30% masih dapat memberikan peningkatan aktivitas penghambatan terhadap *E. coli* serta konsentrasi yang menghasilkan daya hambat paling optimal. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terhadap *E. coli* secara *in vitro* dengan meningkatkan konsentrasi ekstrak hingga 40%. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai konsentrasi ekstrak yang menghasilkan aktivitas penghambatan optimal serta menjadi data awal dalam pengembangan kulit buah jeruk purut sebagai sumber bahan antibakteri alami, khususnya

terhadap bakteri yang berkaitan dengan infeksi penyebab diare.

Metode

Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorik dengan pendekatan kuantitatif yang dirancang untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak etanol kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Pendekatan eksperimental dilakukan dengan memberikan perlakuan tertentu kepada objek penelitian sehingga hubungan antara variabel bebas sebagai faktor perlakuan dan variabel terikat sebagai respons dapat diamati (Azkia et al., 2023; Kotronoulas & Papadopoulou, 2023). Dalam penelitian ini, perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol kulit buah jeruk purut pada konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40%, sedangkan respons yang diamati adalah diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli* yang terbentuk. Bakteri uji berupa biakan murni *E. coli* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala. Kultur bakteri diremajakan pada media Nutrient Agar dan dikonfirmasi melalui pengamatan morfologi koloni serta pewarnaan Gram. Suspensi bakteri kemudian disesuaikan dengan standar kekeruhan 0,5 McFarland sebelum digunakan sebagai inokulum pada pengujian antibakteri. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram pada media Mueller Hinton Agar (MHA) dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital dalam satuan milimeter (mm) dengan mengukur diameter zona bening secara keseluruhan dari satu sisi batas zona hambat ke sisi batas yang berlawanan melalui pusat cakram. Pengukuran dilakukan pada dua arah yang saling tegak lurus, kemudian hasilnya dirata-ratakan untuk memperoleh diameter zona hambat masing-masing cakram.

Rancangan yang dipergunakan yaitu *Post-test Only Control Group Design*. Setiap kelompok memperoleh perlakuan berupa ekstrak dengan konsentrasi berbeda, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Pengamatan dilakukan setelah proses inkubasi sehingga tidak terdapat pengukuran awal sebelum pemberian perlakuan. Desain ini dipilih karena sesuai untuk menilai aktivitas antibakteri suatu bahan terhadap bakteri uji serta membantu mengurangi pengaruh variabel luar terhadap hasil pengamatan. (Ishimora et al., 2023)

Variabel bebas dalam penelitian adalah konsentrasi ekstrak etanol kulit buah jeruk purut yang terdiri dari 5%, 10%, 20%, dan 40%. Adapun variabel terikat berupa diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli* yang dinyatakan dalam satuan milimeter. Kloramfenikol dipergunakan menjadi kontrol positif, sementara pelarut ekstrak dipergunakan menjadi kontrol negatif untuk membandingkan kemampuan antibakteri ekstrak dengan pembanding yang digunakan dalam penelitian. (Astriani et al., 2021; Maimunah et al., 2020)

Aktivitas antibakteri ditentukan dengan penggunaan metode difusi cakram atau Kirby–Bauer pada media Mueller-Hinton Agar (MHA). Suspensi *E. coli* terlebih dahulu disesuaikan dengan standar kekeruhan 0,5 McFarland. Selanjutnya, cakram kertas yang sudah diberi ekstrak pada tiap-

tiap konsentrasi, kontrol positif, serta kontrol negatif diposisikan di permukaan media yang sudah diinokulasi. Media kemudian diinkubasi bersuhu 37°C dalam waktu 18–24 jam. Setelah inkubasi, diameter daerah bening di sekitar cakram diukur dalam satuan milimeter menggunakan alat ukur yang sesuai.(Salam et al., 2023)

Data diameter zona hambat dianalisis secara bertahap. Uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk menilai normalitas data pada masing-masing kelompok konsentrasi. Selanjutnya, homogenitas varians diperiksa menggunakan Levene Test. Bila persyaratan terpenuhi, perbedaan rerata diameter zona hambat antar kelompok dianalisis dengan *One-Way* ANOVA. Bila ditemukan perbedaan bermakna, analisis diteruskan oleh *Tukey* HSD guna memahami pasangan kelompok yang menunjukkan perbedaan signifikan (Krum et al., 2026).

Hasil dan Pembahasan

Uji Aktivitas Bakteri

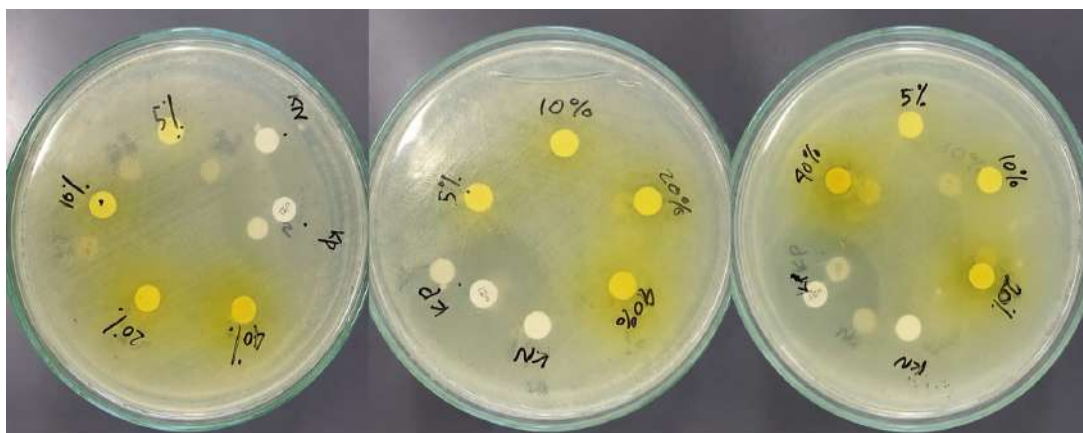
Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terhadap *E. coli* dilakukan melalui metode difusi cakram menggunakan media MHA. Kelompok perlakuan terdiri atas ekstrak berkonsentrasi 5%, 10%, 20% serta 40%, disertai kontrol positif serta kontrol negatif.

Setelah proses inkubasi selama 24 jam, terlihat adanya area bening di sekitar cakram yang mengandung ekstrak. Terbentuknya area tersebut menunjukkan adanya kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*. Berdasarkan hasil pengamatan, peningkatan konsentrasi ekstrak diikuti oleh kecenderungan bertambahnya ukuran zona hambat. Hasil pengukuran pada setiap kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 1. dan Gambar 1.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Purut Terhadap *Escherichia Coli*

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Mean ± SD (mm)
Kontrol Positif	32,11 mm	32,30 mm	33,35 mm	32,59 ± 0,67 mm
Kontrol Negatif	-	-	-	-
Konsentrasi 5%	5,56 mm	6,56 mm	6,20 mm	6,11 ± 0,51 mm
Konsentrasi 10%	6,32 mm	6,26 mm	6,13 mm	6,24 ± 0,10 mm
Konsentrasi 20%	7,12 mm	6,78 mm	6,65 mm	6,85 ± 0,24 mm
Konsentrasi 40%	8,00 mm	7,65 mm	6,92 mm	7,52 ± 0,55 mm

Hasil pengukuran memperlihatkan bahwa kelompok ekstrak 40% menghasilkan zona hambat rata-rata paling besar, yaitu 7,52 mm. Sebaliknya, kelompok 5% memberikan nilai rata-rata paling rendah, yaitu 6,11 mm. Dengan demikian, terdapat kecenderungan peningkatan daya hambat selaras akan bertambahnya konsentrasi ekstrak.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terhadap *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram.

Perhitungan Rata-rata Diameter Zona Hambat

Nilai rerata zona hambat pada kelompok ekstrak 5%, 10%, 20%, dan 40% masing-masing mencapai 6,11 mm, 6,24 mm, 6,85 mm, dan 7,52 mm. Kontrol positif menghasilkan diameter rata-rata 32,59 mm, sedangkan pada kontrol negatif tidak ditemukan pembentukan zona hambat. Temuan tersebut memperlihatkan bahwa ekstrak etanol kulit buah jeruk purut mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *E. coli*, walaupun besarnya efek penghambatan masih lebih rendah daripada kontrol antibiotik.

Kategori Daya Hambat

Berdasarkan klasifikasi daya hambat yang digunakan dalam penelitian, seluruh kelompok ekstrak termasuk kategori sedang, sedangkan kontrol positif ada di kategori sangat kuat. Hasil ini memperlihatkan bahwasanya ekstrak kulit buah jeruk purut telah memperlihatkan aktivitas antibakteri, tetapi kekuatan penghambatannya belum menyamai antibiotik standar yang digunakan sebagai kontrol positif.

Hasil Analisis Statistik

Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui apakah perbedaan konsentrasi ekstrak memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat *E. coli*. Pengujian normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa seluruh kelompok mempunyai distribusi data yang normal karena nilai p masing-masing berada di atas 0,05.

Selanjutnya, hasil *Levene Test* memperlihatkan bahwasanya varians antar kelompok bersifat homogen dengan nilai $p > 0,05$. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, data selanjutnya dapat dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA*.

Hasil *One-Way ANOVA* memperoleh nilai $F = 8,053$ dan $p = 0,008$. Karena nilai p lebih kecil dari 0,05, terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik di antara kelompok perlakuan. Oleh karena itu, dilakukan analisis lanjutan menggunakan *Tukey HSD*. Hasil lengkap analisis statistik disajikan pada Tabel 2 sampai Tabel 5.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas Menggunakan *Shapiro-Wilk*

Variabel	Normality Test	p-value
Konsentrasi 5%	<i>Shapiro Wilk</i>	0,302
Konsentrasi 10%		0,600
Konsentrasi 20%		0,518
Konsentrasi 40%		0,167

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas Menggunakan *Levene Test*

Homogenitas Test	p-value
<i>Levene Test</i>	0,161

Tabel 4. Hasil *One Way* ANOVA

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (JK)	db	Kuadrat Tengah (KT)	F Hitung	Sig.
Antar Kelompok	3,796	3	1,265	8,053	0,008
Dalam Kelompok	1,257	8	0,157	-	-
Total	5,053	11	-	-	-

Tabel 5. Hasil Uji *Tukey* HSD

Perbandingan Perlakuan	p-value	Keterangan
5% vs 10%	0,977	Tidak berbeda signifikan
5% vs 20%	0,178	Tidak berbeda signifikan
5% vs 40%	0,010	Berbeda signifikan
10% vs 20%	0,302	Tidak berbeda signifikan
10% vs 40%	0,017	Berbeda signifikan
20% vs 40%	0,238	Tidak berbeda signifikan

Analisis *Tukey* memperlihatkan bahwasanya perbedaan bermakna terutama ada di perbandingan konsentrasi 5% dengan 40% serta 10% dengan 40%. Sementara itu, pasangan kelompok lainnya belum menunjukkan perbedaan yang signifikan. Nilai zona hambat terbesar tetap ditemukan pada konsentrasi 40% dengan rerata 7,52 mm, sedangkan nilai terendah terdapat pada konsentrasi 5% dengan rerata 6,11 mm.

Aktivitas Antibakteri

Peningkatan diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dapat dikaitkan dengan naiknya jumlah senyawa bioaktif yang tersedia untuk berdifusi dari ekstrak menuju media MHA. Dengan semakin banyaknya komponen aktif yang mencapai lingkungan pertumbuhan bakteri, kemampuan ekstrak dalam menghambat *E. coli* juga cenderung meningkat.

Temuan tersebut sesuai dengan penelitian Azkia et al. (2023), yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah jeruk purut mempunyai aktivitas terhadap *E. coli* dan memperlihatkan kecenderungan peningkatan zona hambat ketika konsentrasi ekstrak dinaikkan. Pada penelitian tersebut, aktivitas antibakterinya termasuk dalam kategori kuat.(Azkia et al., 2023)

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Astriani et al. (2021). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak jeruk purut dapat menghambat *E. coli*, dengan ukuran zona hambat yang cenderung meningkat pada konsentrasi yang lebih tinggi. Analisis statistik pada penelitian tersebut juga menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan.(Astriani et al., 2021).

Perbedaan hasil antara penelitian ini dengan penelitian terdahulu dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor. Beberapa di antaranya adalah jenis pelarut, teknik dan lama ekstraksi, kandungan metabolit sekunder, metode pengujian, media pertumbuhan, serta kondisi bakteri yang digunakan. Selain itu, karakteristik tanaman seperti umur tanaman, lokasi pertumbuhan, kondisi iklim, dan waktu pemanenan juga dapat memengaruhi kadar senyawa aktif sehingga berdampak terhadap aktivitas antibakteri ekstrak.

Secara umum, penelitian ini memperlihatkan bahwasanya ekstrak etanol kulit buah jeruk purut mempunyai potensi sebagai antibakteri alami terhadap *E. coli*. Meskipun efek penghambatannya masih lebih rendah dibanding antibiotik standar, ekstrak tersebut tetap berpeluang dikaji lebih lanjut sebagai bahan alam pendukung. Penelitian lanjutan dapat diarahkan pada penggunaan konsentrasi yang lebih tinggi, pemisahan atau fraksinasi senyawa aktif, serta penentuan nilai KHM/MIC dan KBM/MBC agar karakteristik aktivitas antibakterinya dapat diketahui dengan lebih lengkap.

Zona Hambat Masih Tergolong Sedang

Mengacu pada klasifikasi Davis dan Stout, diameter zona hambat yang dihasilkan oleh seluruh konsentrasi ekstrak berada pada rentang 6,11–7,52 mm dan termasuk kategori sedang. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah jeruk purut mempunyai aktivitas terhadap *E. coli*, tetapi kekuatan penghambatannya belum tergolong tinggi.

Kemampuan antibakteri itu berkenaan pada keberadaan senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, limonoid serta minyak atsiri. Berbagai senyawa tersebut dapat berperan melalui beberapa mekanisme, termasuk memengaruhi integritas dan permeabilitas membran sel, mengganggu aktivitas enzim, serta memengaruhi proses sintesis protein bakteri.

Selain itu, ekstrak yang dipergunakan dalam penelitian masih berupa *crude extract*, sehingga komponen aktif di dalamnya belum dipisahkan dan dimurnikan. Keberadaan komponen lain yang tidak secara langsung berperan sebagai antibakteri dapat menyebabkan konsentrasi senyawa aktif yang berdifusi ke media menjadi lebih rendah. Kondisi tersebut dapat menjadi salah satu alasan mengapa zona hambat yang terbentuk masih berada pada kategori sedang.

Kontrol Positif Jauh Lebih Besar

Kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat rerata sebesar $32,59 \pm 0,67$ mm. Nilai tersebut jauh lebih besar dibandingkan diameter yang diperoleh pada seluruh kelompok ekstrak. Salah satu faktor yang dapat menjelaskan perbedaan tersebut adalah sifat kloramfenikol sebagai antibiotik dengan kandungan yang terstandarisasi dan mekanisme antibakteri yang spesifik, yaitu menghambat sintesis protein melalui interaksi dengan subunit ribosom 50S.

Sebaliknya, ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terdiri atas campuran berbagai senyawa fitokimia dengan konsentrasi yang tidak seragam. Tidak semua komponen tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Oleh sebab itu, efek penghambatan ekstrak secara keseluruhan dapat lebih rendah dibandingkan antibiotik standar yang memiliki zat aktif spesifik dan terukur

Faktor yang Menyebabkan Ekstrak Belum Seefektif Antibiotik

Beberapa aspek dapat menjelaskan mengapa aktivitas ekstrak etanol kulit buah jeruk purut belum menyamai kloramfenikol. Pertama, ekstrak yang digunakan masih berupa ekstrak kasar sehingga komponen antibakteri belum terkonsentrasi secara maksimal. Kedua, *E. coli* sebagai bakteri Gram-negatif mempunyai membran luar yang memuat kandungan lipopolisakarida, yang bisa menjadi salah satu penghalang masuk senyawa antibakteri. Ketiga, kemampuan senyawa aktif ekstrak untuk berdifusi melalui media MHA dapat berbeda dengan antibiotik murni.

Selain faktor tersebut, ukuran zona hambat juga dapat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak, kelarutan senyawa aktif, kestabilan senyawa selama proses ekstraksi, serta variasi kandungan metabolit sekunder antar sampel tanaman. Walaupun demikian, pola peningkatan diameter zona hambat tetap terlihat sejalan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Temuan ini mendukung adanya potensi antibakteri dari ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terhadap *E. coli*. Namun, efektivitasnya masih berada di bawah antibiotik standar sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh fraksi atau senyawa aktif dengan konsentrasi dan kemurnian yang lebih optimal.

Pembahasan Analisis Statistik

Hasil penelitian memperlihatkan kecenderungan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak diikuti oleh peningkatan kemampuan penghambatan bakteri. Kondisi tersebut dapat berkaitan dengan semakin banyaknya senyawa aktif, seperti flavonoid, tanin, limonoid dan minyak atsiri, yang tersedia pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi. Meskipun demikian, seluruh kelompok ekstrak masih menghasilkan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan kloramfenikol sebagai kontrol positif.

Hasil *One-Way* ANOVA memperlihatkan terdapatnya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan $p = 0,008$. Uji *Tukey* selanjutnya memperlihatkan bahwasanya perbedaan

signifikan terdapat pada kelompok 5% dibandingkan 40% ($p = 0,010$) dan kelompok 10% dibandingkan 40% ($p = 0,017$).

Perbandingan dengan Penelitian Sebelumnya

Hasil penelitian ini memiliki kesesuaian dengan temuan Azkia et al. (2023), yang melaporkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terhadap *E. coli*. Penelitian tersebut juga memperlihatkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berkaitan dengan peningkatan kemampuan penghambatan bakteri. (Azkia et al., 2023) Perbedaan nilai zona hambat antara penelitian ini dan penelitian Azkia et al. kemungkinan berkaitan dengan perbedaan prosedur ekstraksi, jenis pelarut, konsentrasi ekstrak, metode pengujian, maupun kondisi inokulum bakteri. Dengan demikian, variasi metode penelitian perlu dipertimbangkan ketika membandingkan besarnya aktivitas antibakteri antar penelitian.

Penelitian Azkia et al. menggunakan konsentrasi maksimum 30%, sedangkan penelitian ini meningkatkan konsentrasi hingga 40%. Penggunaan konsentrasi yang lebih tinggi dimaksudkan untuk mengevaluasi apakah peningkatan kadar ekstrak masih memberikan tambahan efek penghambatan terhadap *E. coli* serta menentukan konsentrasi dengan aktivitas paling optimal.

Temuan penelitian ini juga didukung oleh Warsito et al. (2017), yang melaporkan aktivitas antimikroba minyak atsiri kulit jeruk purut terhadap beberapa jenis bakteri, termasuk *E. coli*. Aktivitas tersebut dikaitkan dengan komponen utama seperti citronellal, limonene, dan β -pinene yang dapat memengaruhi membran sel dan proses metabolisme bakteri. (Warsito et al., 2017)

Pradita et al. (2025) menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri kulit jeruk purut berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif, khususnya flavonoid serta minyak atsiri. Senyawa tersebut dapat memengaruhi bakteri melalui berbagai mekanisme, seperti gangguan terhadap integritas membran sel, proses sintesis asam nukleat, serta aktivitas enzim yang terlibat dalam metabolisme. Penjelasan tersebut mendukung pola hasil penelitian ini, yaitu meningkatnya daya hambat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. (Pradita et al., 2025)

Secara keseluruhan, hasil penelitian mendukung penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Namun, diameter zona hambat yang diperoleh masih lebih rendah daripada kontrol antibiotik. Oleh karena itu, kulit buah jeruk purut dapat dipertimbangkan sebagai sumber bahan antibakteri alami yang masih memerlukan pengembangan lebih lanjut.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak etanol kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Aktivitas tersebut terlihat dari pembentukan zona hambat pada seluruh konsentrasi ekstrak yang diuji, yakni 5%, 10%, 20%, dan 40%. Di antara seluruh perlakuan, konsentrasi 40% menghasilkan aktivitas penghambatan paling tinggi dengan diameter zona hambat rata-rata 7,52 mm, yang berdasarkan klasifikasi yang

digunakan termasuk kategori daya hambat sedang.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan apresiasi terhadap semua pihak yang sudah memberi dukungan pada proses penyusunan penelitian dan artikel ini. Ucapan terimakasih secara khusus diberi terhadap institusi pendidikan serta dosen pembimbing yang sudah memberi arahan, masukan, serta dukungan akademik selama penelitian dan penyusunan artikel.

Referensi

- Astriani NK, Chusniasih D, Marcellia S. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*. 8(3):291–301. DOI: <https://doi.org/10.33024/jikk.v8i3.4350>
- Azkiya H, Kulla PDK, Zulwanis, Kesumawati, Astryna SY. (2023). Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap bakteri Gram-negatif *Escherichia coli*. *Journal of Healthcare Technology and Medicine*. 9(2):1094–1100. DOI: <https://doi.org/10.33143/jhtm.v9i2.3362>
- Baroroh HN, Ekowati H, Kosasih ED, Warsinah, Utami VVFR. (2025). Edukasi penggunaan antibiotik rasional sebagai upaya pengendalian resistensi antimikroba di Desa Mandirancan. *Prosiding Seminar Nasional LPPM UNSOED*. ;14:145–146. web source: <https://jos.unsoed.ac.id/index.php/seminaslppm/article/view/15332>
- Habibi AR, Arfan AR, Susanti R, Gustiansyah RD. (2024). Uji bioaktivitas fraksi etanol ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix*) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat dan Sosial*. 2(3):51–52. DOI: <https://doi.org/10.59024/jikas.v2i3.869>
- Hutasoit DP. (2020). Pengaruh sanitasi makanan dan kontaminasi bakteri *Escherichia coli* terhadap penyakit diare. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*. 9(2):780–784. web source: <https://www.academia.edu/download/73496105/296.pdf>
- Ishimora R, et al. (2023). Antibacterial activity of robusta and arabica coffee husks extracts against *Lactobacillus acidophilus*: experimental study. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*. 7(3). DOI: <https://doi.org/10.24198/pjdrs.v7i3.48658>
- Khairunnida GR, Rusmini H, Maharyuni E, Warganegara E. (2020). Isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli* penyebab *waterborne disease* pada air minum isi ulang dan air minum kemasan dan isi ulang. *Jurnal Kesehatan Sandi Husada*;6(2):636–638. DOI: <https://www.academia.edu/download/74408509/275.pdf>
- Kotronoulas G, Papadopoulou C. (2023). A primer to experimental and nonexperimental quantitative research: the example case of tobacco-related mouth cancer. *Seminars in Oncology Nursing*. 39(2):151396. DOI: [10.1016/j.soncn.2023.151396](https://doi.org/10.1016/j.soncn.2023.151396)
- Krumm P, Böttcher N, Ottermanns R, Pufe T, Fragoulis A. (2026). BioMedStatX – statistical workflows for reliable biomedical data analysis. *MethodsX*. 16:103776. DOI: [10.1016/j.mex.2025.103776](https://doi.org/10.1016/j.mex.2025.103776)
- Maimunah S, et al. (2020). Aktivitas ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus*. 6(2):129–138. DOI: [10.36987/jpbn.v6i2.1767](https://doi.org/10.36987/jpbn.v6i2.1767)
- Niswah SU, Indrayati A, Sari GNF. (2023). Efek kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dan daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode pita kertas. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 27(3):110–111. DOI: <https://doi.org/10.20956/mff.v27i3.27092>
- Pradita D, Pertiwi I, Limbong YS. (2025). Tinjauan literatur: mekanisme antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.). *Jurnal Indah Sains dan Klinis*. 6(1):26–39. DOI: <https://doi.org/10.52622/jisk.v6i1.04>
- Salam MA, Al-Amin MY, Pawar JS, Akhter N, Lucy IB. (2023). Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 30(3):103582. DOI: [10.1016/j.sjbs.2023.103582](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103582)

- Siregar S, Indriani, Rizky VA, Krisdianilo V, Marbun RAT. (2020). Perbandingan aktivitas antibakteri infusa daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasimed (JFM)*. 3(1):40–46.
DOI: <https://doi.org/10.35451/jfm.v3i1.524>
- Warsito W, Noorhamdani N, Sukardi S, Suratmo S. (2017). Aktivitas antioksidan dan antimikroba minyak jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dan komponen utamanya. *Journal of Environmental Engineering and Sustainable Technology*. 4(1):13–18.
DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.jeest.2017.004.01.3>