

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah bagian kulit buah dan daun jeruk sundai. Pengambilan sampel dilakukan di daerah Kamang, kecamatan Ampek Angkek, kabupaten Agam. Sampel diidentifikasi di Herbarium ANDA Fakultas Matematika dan Ilmu Alam, Universitas Andalas. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah jeruk sundai yang merupakan hasil persilangan dari jeruk nipis dan jeruk purut (19), dengan nama latin *Citrus x aurantiifolia* "Sundai" tergolong ke dalam famili Rutaceae. Hasil identifikasi dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Pada penelitian ini minyak atsiri diisolasi dari kulit buah dan daun jeruk sundai. Sampel disiapkan dengan cara mencuci bersih terlebih dahulu supaya tidak ada pengotor yang tertinggal. Bagian kulit didapatkan dengan cara dikupas dari buah jeruk. Kulit buah dan daun kemudian masing-masing dirajang untuk memperoleh sampel dengan ukuran yang kecil tujuannya untuk memperbesar ukuran luas permukaan partikel, sehingga memperbesar kontak bahan dengan pelarut (62). Hasilnya pelarut mudah berpenetrasi ke pori-pori sampel dan senyawa kimia beserta minyak atsiri yang ada di dalam sampel akan lebih mudah di tarik oleh pelarut.

Untuk memperoleh minyak atsiri masing-masing sampel dilakukan dengan cara distilasi air. Metode ini digunakan pada minyak yang tahan panas, proses sederhana, dan biaya yang dibutuhkan relatif kecil. Proses distilasi air ini sampel direndam dalam labu dengan air, kemudian dipanaskan hingga keluar uap air, kemudian uap air didinginkan kembali dengan kondensor, air dan minyak yang terbentuk ditampung pada wadah destilat. Proses destilasi ini berlangsung selama 4 jam terhitung setelah tetesan pertama uap air dan minyak pada wadah destilat. Pada wadah destilat terlihat dua lapisan yang tidak tercampur satu sama lain berupa campuran air dan minyak. Hal ini disebabkan karena perbedaan bobot jenis antara minyak dan air.

Bobot jenis air (bobot jenis air = 1g/mL) lebih besar daripada minyak sehingga berada pada lapisan bawah sedangkan minyak yang memiliki bobot jenis yang lebih

rendah berada pada lapisan atas. Setelah itu, minyak atsiri ditampung pada wadah botol coklat, untuk memisahkan air yang terdapat pada campuran itu ditambahkan Na_2SO_4 (Natrium Sulfat) anhidrat untuk menyerap sisa-sisa air yang masih ada di dalam minyak atsiri. Minyak atsiri dimasukkan ke dalam wadah botol coklat dilapisi dengan aluminium foil untuk mencegah terjadinya reaksi oksidasi dan disimpan dalam lemari pendingin untuk mengurangi terjadinya perubahan sifat fisika kimia minyak atsiri karena kondisi penyimpanan.

Minyak atsiri berupa cairan jernih, tidak berwarna, beraroma khas sesuai aroma tanaman pernghasilnya (35,38). Hasil destilasi minyak atsiri ini diperoleh minyak atsiri memiliki warna kuning pucat, beraroma khas buah jeruk sundai dengan persen rendemen dapat dilihat pada **Tabel 2**. Bobot jenis merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Nilai bobot jenis minyak atsiri berada pada rentang 0,696-1,188 (37). Pada penelitian ini penentuan nilai bobot jenis dilakukan pada suhu ruang dengan perolehan bobot jenis dapat dilihat pada **Tabel 2**. Nilai bobot jenis pada yang didapatkan pada penelitian ini sesuai dengan Kar (2019), yang mengatakan bahwa nilai bobot jenis minyak atsiri berkisar antara 0,8-1,17 (29).

Tabel 1. Hasil penentuan bobot jenis dari minyak atsiri

No	Sampel	Rendemen (%)	Bobot Jenis (g/mL)	Indeks Bias
1	Minyak atsiri kulit buah	1.13	0.86	1.47
2	Minyak atsiri daun	0.64	0.83	1.48

Selanjutnya penentuan indeks bias minyak atsiri. Indeks bias merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan kemurnian minyak atsiri. Hasil penentuan bobot jenis dan indeks bias dari masing-masing minyak atsiri dapat dilihat pada **Tabel 2**. Penentuan indeks bias menggunakan alat refraktometer tipe Abbe dengan nilai indeks bias berada pada kisaran 1,3-1,7 (37). Hasil penentuan indeks bias pada penelian Ramadhani (2020) didapatkan 1.4707, sedangkan pada penelitian Putri (2020) indeks bias minyak atsiri kulit jeruk sundai dari tiga daerah (Pariaman, Bukittinggi, Solok)

masing-masing sebagai berikut 1.4716, 1.4698, 1.4687. Nilai indeks bias pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya.

Adanya perbedaan nilai indeks bias minyak atsiri dipengaruhi oleh komposisi kimia yang terdapat di dalamnya, seperti jumlah ikatan rangkap, panjang rantai karbon dan fraksi- fraksi berat. Jika jumlah senyawa dengan ikatan rangkap memiliki jumlah yang banyak maka kerapatan minyak juga bertambah besar akibatnya cahaya sulit dibiaskan. Oleh karena itu, nilai indeks bias minyak semakin besar apabila kerapatan minyak semakin tinggi. Selain itu, kandungan air juga mempengaruhi indeks bias minyak atsiri. Semakin besar jumlah air dalam minyak nilai indeks bias semakin kecil (38,63). Dari hasil analisis GC-MS minyak atsiri terdapat perbedaan komponen penyusun minyak atsiri kulit buah dan daun jeruk sundai.

Analisis komponen kimia yang terdapat dalam minyak atsiri menggunakan instrumen GC-MS karena merupakan metode yang sesuai untuk senyawa yang mudah menguap. Komponen kimia dalam minyak atsiri terdapat dalam jumlah besar adalah senyawa hidrokarbon dan fenol (7). Minyak atsiri dari Citrus mengandung senyawa yang mudah menguap besar dari 90 % yang mayoritas terdiri dari senyawa monoterpen dan sesquiterpen (8).

Dari hasil penelitian ini didapatkan terdapat perbedaan komponen kimia dari minyak atsiri kulit buah dan daun, masing-masing dapat dilihat pada **Lampiran 1.1** dan **Lampiran 1.2** yang sebagian besar terdiri dari senyawa monoterpen dan sesquiterpen yang dapat dilihat pada keterangan **Tabel 3, dan Tabel 4.**

Tabel 2. Hasil Analisis Komponen Kimia Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Sundai

No	Waktu Retensi	Komponen Kimia	Berat Molekul	% Kandungan
1	15.216	D-Limonene	136.13	44.12
2	17.032	γ -Terpinene	136.13	20.89
3	11.412	Camphene	136.13	14.51
4	8.864	α -Pinene	136.13	3.95
5	15.23	D-Limonene	136.13	2.16

6	18.611	alfa terpinolene	136.13	2.09
7	12.348	β -Myrcene	136.13	2.04
8	25.418	D-sylvestrene	170.13	1.64
9	8.516	α -Thujene	136.23	1.60
10	24.546	γ -Terpinene	136.13	1.52
11	13.737	α -Terpinene;	136.13	1.38
12	17.667	cis-Linalool oxide	136.13	1.20
13	37.264	Germacrene D	204.19	1.15
14	38.212	β -Bisabolene	204.35	0.75
15	13.052	Octanal	128.12	0.52
16	18.682	trans-Linalool oxide	170.13	0.50

Hasil analisis komponen kimia pada minyak atsiri kulit buah sundai terdapat 16 senyawa yang teridentifikasi. Sebagian besar merupakan senyawa golongan monoterpen yang menjadi komponen utama seperti D-limonen, γ -terpinen, Camphene, selebihnya terdapat senyawa lainya dengan persentase yang kecil seperti α -Thujene, germacrene D dan β -bisabolone, octanal, linalool oxide, D-sylvestrene.

Pada penelitian ini hasil identifikasi minyak atsiri kulit buah dan daun dengan instrumen GC-MS menggunakan metode yang sebelumnya telah digunakan untuk menganalisis minyak atsiri dari kulit buah jeruk sundai. Namun daerah tempat tumbuhnya berbeda dengan sampel yang digunakan pada penelitian ini. Pada penelitian Putri (2020), tentang analisis komponen kimia minyak atsiri kulit jeruk dari tiga daerah yang berbeda yaitu Bukittinggi, Pariaman, dan Solok. Terdapat persamaan senyawa dominan yang terdapat pada minyak atsiri kulit jeruk sundai dari ketiga daerah tersebut, yaitu Cyclohexene, 2(10)-Pinene dan Cholest-5-en-3. Kadar dan senyawa minor lainnya memiliki perbedaan dari ketiga daerah tersebut yang dipengaruhi oleh lingkungan tempat tumbuh masing-masing tanaman (12). Pada penelitian lainnya yang dilakukan oleh Ramadhani (2020) tentang minyak atsiri kulit jeruk sundai dari daerah Pariaman didapatkan hasil senyawa dominan γ -Terpinene, (+)-4-carene, terpineol, α -Pinene, dan 4(10) – Thujene (13).

Minyak Citrus tersusun dari berbagai campuran senyawa, sebagian besar didominasi oleh senyawa hidrokarbon monoterpen. Komponen kimia yang terkandung dalam minyak atsiri dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti kondisi geografi tempat tanaman tumbuh, kematangan buah, waktu panen, cuaca selama pertumbuhan dan sewaktu panen, genetik dari tanaman, metode dan durasi ekstraksi minyak atsiri. Oleh karena itu, minyak atsiri dari tanaman yang sama bisa memiliki perbedaan komponen kimia serta bioaktivitasnya (11,60).

Senyawa yang terdapat pada minyak atsiri daun jeruk sundai terdiri dari sebagian besar merupakan golongan monoterpen dan sesquiterpen yang dapat dilihat pada keterangan **Tabel 4**.

Tabel 3. Hasil Analisis Komponen Kimia Minyak Atsiri Daun Jeruk Sundai

No	Waktu Retensi	Komponen Kimia	Berat Molekul	% Kandungan
1	17.042	γ -Terpinene	136.13	21.97
2	14.591	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-(durene)	134.11	15.67
3	17.139	γ -Terpinene	136.13	5.97
4	11.257	β -Pinene	136.13	5.56
5	14.763	D-Limonene	136.13	4.40
6	8.878	α -Pinene	136.13	4.06
7	18.668	Terpinolene	136.13	3.74
8	38.283	β -Bisabolene	204.19	3.05
9	19.723	(+)-3-Carene	136.13	2.83
10	17.168	γ -Terpinene	136.13	2.39
11	8.533	Athujene	136.13	2.35
12	18.757	p-cimenene	132.09	2.07
13	37.296	Germacrene D	204.19	2.06
14	16.073	B-Ocimene	136.13	1.91
15	39.69	Germacrene B	204.19	1.84

16	35.172	Caryophyllene	204.19	1.72
17	13.726	(+)-4-Carene	136.13	1.39
18	12.309	β - Myrcene	136.13	1.23
19	30.575	Thymol	150.10	1.22
20	14.616	1,2,3,4-Tetramethylfulvene	134.11	1.18
21	40.322	1,1,7,7a-Tetramethyl-1a,2,6,7,7a,7b-hexahydro-1H-cyclopropa[a]naphthalene	202.17	0.93
22	41.847	L-calamenene	202.17	0.83
23	32.186	σ -Elemene	204.19	0.81
24	14.605	1,2,3,4-Tetramethylfulvene	134.11	0.74
25	17.674	trans-Linalool oxide	170.13	0.74
26	34.242	β -Elemene	204.19	0.72
27	35.793	trans- α -Bergamot	204.19	0.66
28	24.51	γ -Terpinene	136.13	0.59
29	42.561	γ -Muurolene	204.19	0.59
30	54.027	Neophytadiene	204.19	0.58
31	25.368	D-sylvestrene	136.13	0.55
32	38.039	cis- α -Bisabolene	204.19	0.54
33	22.066	Cosmene	134.11	0.48
34	36.324	Humulene	204.19	0.46
35	44.068	Aristoleadiene	202.17	0.44
36	41.52	Muurolene	204.19	0.42
37	43.447	α -Bisabolene	204.19	0.38
38	40.462	1S,2S,5R-1,4,4-Trimethyltricyclo[6.3.1.0(2,5)]dodec-8(9)-ene	204.19	0.37
39	38.671	δ -Cadinene	204.19	0.36
40	40.393	(3E,7E)-4,8,12-Trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene	218.20	0.37
41	42.425	β -Selinene	204.19	0.31

42	45.644	β -Vetivenene	202.17	0.30
43	41.33	Dehydroaromadendrene	202.17	0.27
44	42.163	γ -Muurolene	204.19	0.27
45	37.763	γ -Gurjunene	204.19	0.26
46	47.933	Ledene alcohol	220.18	0.26
47	22.533	Cosmene	134.11	0.24

Komponen kimia yang teridentifikasi dari minyak atsiri daun jeruk sundai terdiri dari senyawa monoterpen seperti γ -terpinen, β -pinene, D-limonen, α -pinene, (+)-3-Carene, p-cimenene, α -thujene, β -Ocimene, (+)-4-Carene. Terdapat senyawa seskiterpen seperti B-Bisabolene, Germacrene D, Caryophyllene. Senyawa Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl- (durene) dan senyawa fenol yaitu thymol. Sisanya merupakan senyawa dengan persentase kandungan kurang dari 1%.

Pada satu tumbuhan komposisi minyak atsiri bisa berbeda antara satu bagian dengan bagian lainnya (35). Hasil penelitian didapatkan komponen pada bagian kulit buah dan daun jeruk sundai terdapat perbedaan dari segi jumlah senyawa, kadar senyawa pada masing-masing minyak atsiri.

Tabel 4. Komponen kimia minyak atsiri kulit buah dan daun jeruk sundai

No	Komponen Kimia	Kulit (%)	Daun (%)
1	γ -Terpinene	20.88	21.97
2	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl- (durene)	0	15.67
3	β -Pinene	0	5.56
4	D-Limonene	44.12	4.40
5	α -Pinene	3.95	4.06
6	Terpinolene	0	3.74
7	β -Bisabolene	0.75	3.05
8	(+)-3-Carene	0	2.83
9	Athujene	1.60	2.35
10	p-cimenene	0	2.07

11	Germacrene D	1.15	2.05
12	B-Ocimene	0	1.91
13	Germacrene B	0	1.84
14	Caryophyllene	0	1.72
15	(+)-4-Carene	0	1.39
16	β - Myrcene	2.04	1.23
17	Thymol	0	1.22
18	1,2,3,4-Tetramethylfulvene	0	1.18
19	1,1,7,7a-Tetramethyl-1a,2,6,7,7a,7b-hexahydro-1H-cyclopropa[a]naphthalene	0	0.93
20	L-calamenene	0	0.83
21	σ -Elemene	0	0.81
22	1,2,3,4-Tetramethylfulvene	0	0.74
23	trans-Linalool oxide	0.50	0.74
24	β -Elemene	0	0.72
25	trans- α -Bergamot	0	0.66
26	γ -Muurolene	0	0.59
27	Neophytadiene	0	0.58
28	D-sylvestrene	1.64	0.55
29	cis- α -Bisabolene	0	0.54
30	Cosmene	0	0.48
31	Humulene	0	0.46
32	Aristoladiene	0	0.44
33	α -Bisabolene	0	0.38
34	1S,2S,5R-1,4,4-Trimethyltricyclo[6.3.1.0(2,5)]dodec-8(9)-ene	0	0.37
35	δ -Cadinene	0	0.36

36	(3E,7E)-4,8,12-Trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene	0	0.33
37	β -Selinene	0	0.31
38	β -Vetivenene	0	0.30
39	Dehydroaromadendrene	0	0.27
40	γ -Gurjunene	0	0.26
41	Ledene alcohol	0	0.26
42	Camphene	14.51	0
43	alfa terpinolene	2.09	0
44	α -Terpinene;	1.38	0
45	cis-Linalool oxide	1.20	0
46	Octanal	0.52	0

Dari tabel di atas dapat diketahui terdapat perbedaan senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri dari kulit buah dan daun dari jeruk sundai baik dari segi jumlah, komponen mayor, minor dan persentase kandungannya. Komponen kimia pada minyak atsiri kulit buah teridentifikasi 16 senyawa dengan komponen utama D-limonen (44,12%), γ -terpinen (20,89%), Camphene (14,51%), sedangkan pada daun jeruk sundai teridentifikasi 47 senyawa dengan komponen utamanya adalah γ -terpinen (21,97%), Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl- (durene) (15.67%), β -pinene (5.56%). Hakim (2018), melaporkan hal serupa bahwa terdapat perbedaan profil senyawa kimia yang terkandung dari bagian akar, batang, daun, dan biji yang diteliti (64). Perbedaan komponen kimia pada minyak atsiri dari kulit buah dan daun jeruk sundai ini dipengaruhi oleh organ tanaman penghasil minyak atsiri. Perbedaan jalur biosintesis senyawa kimia berbeda dari tiap organ tanaman yang memiliki fungsi yang berbeda (65).

Pada penelitian yang telah banyak dilakukan melaporkan bahwa minyak atsiri dari tumbuhan genus *Citrus* memiliki aktivitas antibakteri seperti jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan jeruk purut (*citrus hystrix*) (66,67), oleh karena itu dilakukan uji

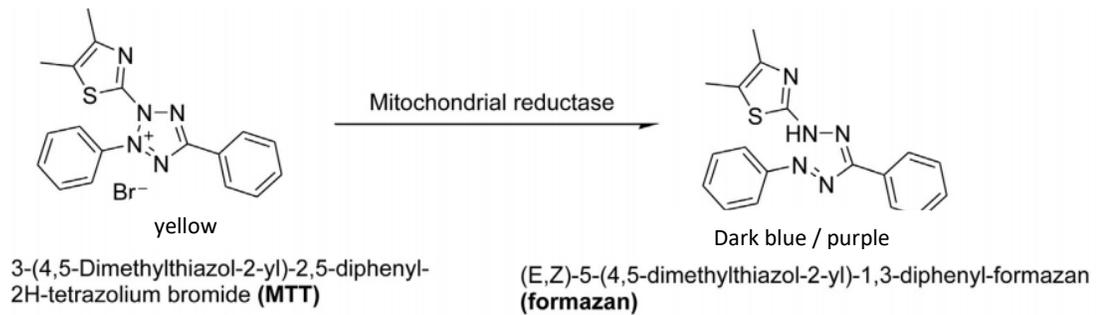
aktivitas antibakteri dari minyak atsiri daun dan kulit jeruk sundai (*Citrus x aurantiifolia*) "Sundai".

Adapun bakteri uji yang digunakan adalah Mikroba uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* sebagai perwakilan bakteri Gram positif, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* sebagai perwakilan bakteri Gram negatif dan untuk bakteri resisten digunakan bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus*. Pemilihan bakteri ini dilakukan untuk melihat bagaimana aktivitas antibakteri dari minyak atsiri yang diujikan dapat aktif diantara kedua jenis bakteri tersebut ataupun salah satunya.

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi. Metode dilusi ini dilakukan untuk mendapatkan hasil uji berupa nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). KHM merupakan konsentrasi terendah dari sampel yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba, dimana konsentrasi dibawah nilai KHM sampel tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji (61).

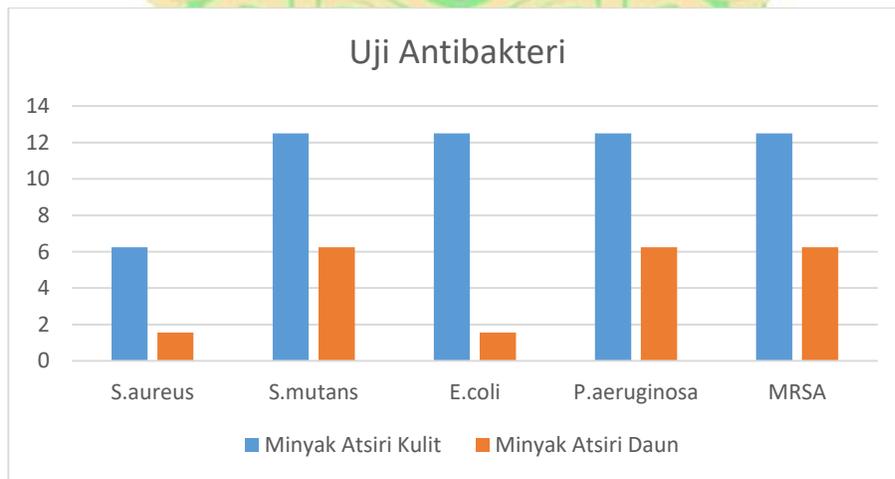
Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri dari kulit buah dan daun jeruk sundai dilakukan dengan membuat seri konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1.56%, dan 0,78% (b/v) atau sama dengan 250, 125, 62.5, 31.25, 15.61, dan 7.81 mg/ml. Pelarut yang digunakan adalah DMSO, dimana DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan berbagai senyawa (68). Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO. Menurut Natheer (2012), kontrol negatif dalam pengujian adalah pelarut yang digunakan sebagai pengencer dari senyawa uji yang bertujuan untuk melihat bahwa pelarut yang digunakan tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri (69), sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan murni berasal dari minyak atsiri. Ciprofloksasin digunakan sebagai kontrol positif untuk antibakteri karena termasuk ke dalam golongan antibiotik berspektrum luas, dimana ciprofloksasin dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (70). Fungsi kontrol positif untuk melihat apakah bakteri yang digunakan masih sensitif terhadap senyawa antibakteri atau sudah resisten dengan membandingkan kemampuan aktivitas antibakteri dari minyak astiri yang diujikan (71).

Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri oleh minyak atsiri dapat diamati setelah pemberian MTT yang diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi terjadi perubahan warna dari MTT yang semula berwarna kuning menjadi warna biru gelap sampai keunguan.



Gambar 1. Mekanisme Reaksi Pembentukan Kristal Fromazan dari MTT (72).

Perubahan warna terjadi karena pembentukan kristal fromazan oleh adanya aktivitas enzim *dehydrogenase* dari sel bakteri terhadap garam tetrazolium (61). Nilai KHM ditentukan dari sumur yang tidak terjadi perubahan warna, yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri (73).



Gambar 2. Hasil Uji Antibakteri Minyak Atsiri Jeruk Sundai

Berdasarkan hasil penelitian yang terdapat pada **Gambar 7**, dapat dilihat bahwa minyak atsiri kulit buah dan daun jeruk sundai memiliki aktivitas antibakteri dengan perolehan MIC masing-masing minyak. Konsentrasi terkecil minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dilihat dari tidak adanya perubahan warna setelah ditambahkan reagen pewarna pada sumur *wellplate* (73). Masing-masing minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. mutans*, *P. aeruginosa*, MRSA dengan variasi konsentrasi setiap bakteri.

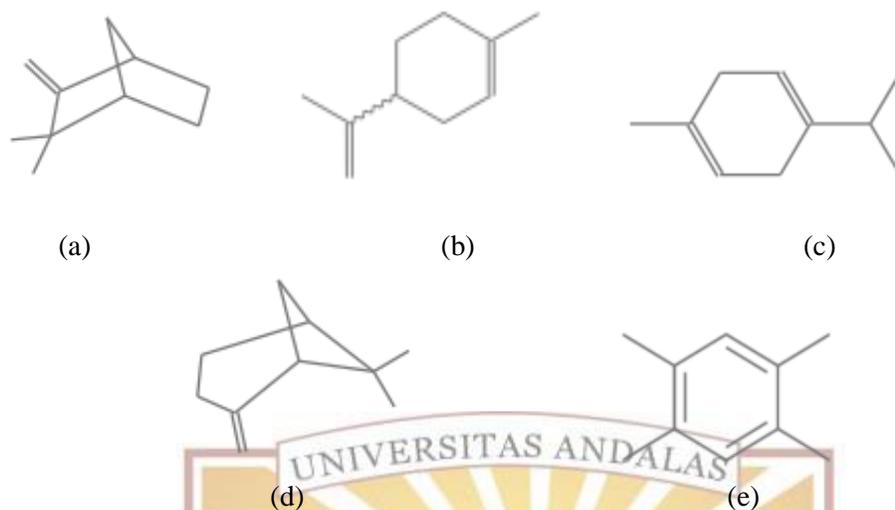
Terdapat perbedaan nilai KHM yang signifikan dari minyak atsiri kulit buah dan daun jeruk sundai. Pada minyak atsiri kulit buah konsentrasi 62.5 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, sedangkan pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*, *S. mutans*, *E. coli* dan MRSA dapat dihambat dengan konsentrasi 125 mg/ml. Pada penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa nilai KHM minyak atsiri kulit jeruk sundai terhadap *P. aeruginosa*, *S. aureus* dan *E. coli* adalah 2,5 % dan pada bakteri *E. fecalis* pada konsentrasi 1,25% (12). Penelitian lain oleh Ramadhani (2020), melaporkan bahwa nilai MIC minyak atsiri kulit jeruk sundai adalah 5 mg/ml terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* dan *E. fecalis* (13). Adanya perbedaan hasil uji antibakteri ini dikarenakan jumlah sampel, bakteri, medium, dan metode yang digunakan berbeda dengan peneliti sebelumnya. Pada minyak atsiri daun konsentrasi 15.65 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sedangkan pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*, *S. mutans* dan MRSA dapat dihambat dengan konsentrasi 62.5 mg/ml. Hingga saat ini belum ada penelitian yang melaporkan nilai KHM dari minyak atsiri daun jeruk sundai.

Hasil uji antibakteri minyak atsiri kulit buah dan daun jeruk sundai menunjukkan minyak atsiri jeruk sundai dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif, Gram positif, dan bakteri resisten. Dari histogram di atas terlihat perbedaan hasil uji antibakteri antara kelima bakteri tersebut. Kepekaan kelima bakteri terhadap minyak atsiri kulit buah dan daun jeruk sundai dapat disebabkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel bakteri. Bakteri memiliki perbedaan sensitivitas terhadap zat antibiotik karena dipengaruhi oleh perbedaan struktur penyusunan dinding sel bakteri seperti jumlah petidoglikan, ada atau tidaknya reseptor dan lipid, aktivitas

enzim autolisis, ikatan dengan obat serta aktivitas obat (74). Pada minyak atsiri kulit lebih aktif menghambat pertumbuhan *S. aureus* dibandingkan *E.coli* hal ini karena struktur bakteri Gram positif lebih sederhana, terdiri dari komponen peptidoglikan dan asam teikoat, sedangkan Gram negatif tersusun dari peptidoglikan, lipoprotein, membrane luar, dan lipopolisakarida, dengan adanya lapisan lipopolisakarida ini melindungi bakteri Gram negatif dari penetrasi senyawa polar penyebab lisis (75). Sedangkan pada minyak atsiri daun, jeruk antara bakteri Gram positif dan Gram negatif memiliki kesamaan sensitivitas untuk *S.aureus* dan *E.coli* dan lebih lemah pada *S.mutan*, *P. aeruginosa*, dan MRSA. Bakteri *S.mutan* dan *P.aeruginosa* memiliki daya tahan yang kuat terhadap lingkungan fisik dan kimia daripada bakteri yang lain (53).

Perbedaan aktivitas antibakteri kulit buah dan daun dapat disebabkan adanya perbedaan komponen kimia baik secara kualitatif dan kuantitatif (75). Beberapa minyak atsiri menunjukkan adanya aktivitas penghambatan mikroba berbeda, hal ini disebabkan kandungan terpen yang berbeda dalam tiap minyak atsiri. Selain memiliki potensi antimikroba, minyak atsiri dapat memodulasi resistensi bakteri dan dapat digunakan sebagai terapi tambahan melawan resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu (76).

Limonen memiliki rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dengan berat molekul 136.23 merupakan komponen mayor di beberapa citrus yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri (8). Pada penelitian Yingjie (2019) melaporkan bahwa limonene aktif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif yang artinya limonene merupakan senyawa memiliki kerja spectrum luas. Mekanisme aksi dari limonen dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui beberapa cara yaitu: (i) menghancurkan dinding sel dan membrane sehingga menyebabkan kebocoran protein dan asam nukleat bakteri, (ii) menghambat aktivitas ATPase sehingga menghambat sintesis ATP, (iii) menghambat kerja kompleks *respiratory* sehingga terganggu proses metabolisme sel bakteri (77). Pada penelitian Li (2019), menunjukkan adanya aktivitas antibakteri limonene terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* dan *Escherichia coli*. Kemampuan antibakteri minyak atsiri ini dipengaruhi oleh komponen minor lainnya yang memberikan efek sinergis (78).



Gambar 3. Struktur senyawa (a) camphen (b)limonen (c) gamma terpinen (d) beta campinen (e) Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-

γ -terpinen merupakan senyawa golongan monoterpen dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dan berat molekul 136.23. Berdasarkan penelitian Li (2019), menunjukkan bahwa terpinen merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* dan *Escherichia coli* (78). Camphen merupakan senyawa monoterpen dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dan berat molekul 136.23. memiliki aktivitas antihiperlipidemia, antikolesterol, antikanker dan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (79,80). Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl- merupakan senyawa aromatik yang memiliki rumus molekul $C_{10}H_{14}$ dengan berat molekul 134.22. Ndukwe (2018), melaporkan adanya aktivitas antimikroba dari Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl- terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (81).

β -pinene merupakan senyawa monoterpen dengan dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dan berat molekul 136.23. senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap beberapa bakteri seperti: *Corynebacterium xerosis*, *Bacillus breVi*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*,

Staphylococcus aureus, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxytoca* A, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coil*, dan *Yersinia enterocolitica* (82).

Pada penelitian Aripin (2015), melaporkan bahwa adanya perbedaan aktivitas antibakteri minyak atsiri *Citrus sp.* yang dipengaruhi oleh komposisi senyawa mayor dan minor pada setiap minyak. Kandungan yang utama pada citrus berupa Limonen, namun tidak serta merta memberikan efek antibakteri yang potensial untuk setiap minyak atsiri jeruk. Meskipun limonene terdapat dalam jumlah yang besar tidak bertanggung jawab sebagai antibakteri. Adanya komponen minor lainnya dapat meningkatkan aktivitas antibakteri minyak atsiri memberikan hubungan sinergi antara komponen minor dan mayor pada konsentrasi yang mengarah pada pencapaian aktivitas antibakteri yang efektif (83).

