



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK  
NIPIS (*Citrus aurantifolia*, Swingle) TERHADAP  
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus  
aureus* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:

**Ninditha Retno Pradani**

**NIM 082010101049**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2012**



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK  
NIPIS (*Citrus aurantifolia*, Swingle) TERHADAP  
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus  
aureus* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:

**Ninditha Retno Pradani**

**NIM 082010101049**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2012**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Kustiyah Wardhani dan Ayahanda Duriyanto Oesman yang selalu memberikan pengorbanan, dukungan, doa, semangat, curahan kasih sayang dan cinta yang luar biasa sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
2. Pembimbing skripsi I yaitu dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes. dan pembimbing skripsi II dr. Ika Rahmawati Sutejo terima kasih untuk segala bimbingan dan ilmu yang bermanfaat selama saya menyusun skripsi.
3. Guru-guruku tercinta yang telah mendidik dengan penuh kesabaran mulai dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
4. Saudara sejawatku Fakultas Kedokteran angkatan 2008 *the Doctors*. Terimakasih untuk kebersamaannya selama hampir 4 tahun ini.
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## **MOTTO**

“Jadilah seperti karang di lautan yang kuat dihantam ombak dan kerjakanlah hal yang bermanfaat untuk diri sendiri dan orang lain, karena hidup hanyalah sekali. Ingat hanya pada Allah apapun dan di manapun kita berada kepada Dia-lah tempat meminta dan memohon.



## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ninditha Retno Pradani

NIM : 082010101049

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia, Swingle) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus secara In Vitro* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Juni 2012  
Yang menyatakan,

Ninditha Retno Pradani  
NIM 082010101049

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN JERUK  
NIPIS (*Citrus aurantifolia*, Swingle) TERHADAP  
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus*  
*aureus* SECARA *IN VITRO***

Oleh

Ninditha Retno Pradani

082010101049

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Ika Rahmawati Sutejo

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia, Swingle) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus secara In Vitro* telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 20 Juni 2012

tempat : Ruang Sidang Fakultas Kedokteran Universitas Jember

### Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Cholis Abrori, M.Kes.,M.Pd.Ked.  
NIP. 197105211998031003

dr. Enny Suswati, M.Kes.  
NIP. 197002141999032001

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes.  
NIP. 197203182003122001

dr. Ika Rahmawati Sutejo.  
NIP. 198408192009122003

Mengesahkan  
Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes.  
NIP 197002141999032001

## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro***; Ninditha Retno Pradani, 082010101049; 2012; 72 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang dan merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama pada daerah tropis. Salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi yg sering ditemukan adalah *Staphylococcus aureus* yang merupakan patogen utama pada manusia. *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia, namun ketika kulit tersebut rusak atau terbuka karena beberapa alasan, maka bakteri dapat masuk melalui luka dan menyebabkan infeksi. Infeksi *S. aureus* juga dapat menyebabkan penyakit yang serius dan mengancam jiwa bila sampai masuk dalam aliran darah, misalnya pneumonia, meningitis, endokarditis, dan sepsis. Beberapa tahun terakhir *S. aureus* menunjukkan resistensi terhadap antibakteri yang biasa digunakan. Karena banyaknya resistensi antibakteri terhadap *S. aureus* ini, maka diperlukan suatu pengembangan baru mengenai terapi alternatif yang memanfaatkan antibakteri alam sebagai antibiotik salah satunya adalah jeruk nipis yang didalamnya mengandung minyak atsiri yang disusun oleh beberapa senyawa salah satunya flavonoid yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan tanaman jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan kadar hambat minimum (KHM) perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Jenis penelitian yang digunakan adalah *True Experimental Design* dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah bakteri *S. aureus* yang ditanam dalam agar Mueller Hinton yang kemudian diberi perlakuan dengan air perasan jeruk nipis dengan beberapa



konsentrasi. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% sedangkan kontrol negatif adalah aquadest steril dan kontrol positif adalah suspensi sefaleksin.

Data yang diperoleh adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media Mueller Hinton tiap konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% berturut-turut yaitu 1,49 cm; 1,89 cm; 1,19 cm; 0,95 cm; 0,88 cm; 0,76 cm; 0,76 cm; 0,76 cm. Data kemudian dianalisis dengan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov*, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene*. Analisis data untuk membuktikan adanya aktivitas antibakteri ialah menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, karena varians data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen. Uji selanjutnya adalah uji regresi linier untuk menentukan persamaan garis regresi, sehingga didapatkan nilai KHM kuantitatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa air perasan jeruk nipis mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* secara *in vitro*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya diameter zona hambat pada media Mueller Hinton. Semakin tinggi konsentrasi perasan jeruk nipis maka kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* semakin besar. Perasan jeruk nipis memiliki Kadar Hambat Minimum (KHM) terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara kualitatif sebesar 6,25% dan secara kuantitatif menggunakan Uji Regresi Linier didapatkan KHM sebesar 2,069%.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul. *Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia, Swingle) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus secara In Vitro*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang atas segala kemudahan dari-Nya skripsi ini bisa berjalan dengan lancar.
2. dr. Enny Suswati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. Pembimbing skripsi I yaitu dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes. dan pembimbing skripsi II dr. Ika Rahmawati Sutejo terima kasih untuk yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
4. dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked. dan dr. Enny Suswati, M.Kes. sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Orang tua tercinta, Ibunda Kustiyah Wardhani dan Ayahanda Duriyanto Oesman yang tiada henti-hentinya selalu memberikan dukungan, doa, semangat, dan curahan kasih sayang dan cinta yang luar biasa serta kesabaran dan pengorbanan yang telah dilakukan untukku setiap waktu. Melihat senyum dan kebahagiaan mereka setiap waktu adalah harapan terbesarku;

6. Kakak-kakakku tercinta mas Nito Prabowo Arifianto dan mbak Dewi Sartika Ariwanda yang selalu memberikan semangat, doa, kesabaran, dan keceriaan disaat penat dan kegalauan mulai melanda;
7. Saudara-saudaraku Marga Restu, Mirsyafani Amalah, Heni Puji Astuti, Clara Sergian Swaritantika, dan Surviva Ratyatina yang tidak pernah lelah dalam memberikan dukungan, semangat, dan keceriaan selama penulisan karya ini;
8. Sahabat sekaligus saudaraku tercinta Raras Silvy Gama, Freicillya Rebecca Clorinda, Dyna Ayu Mukhitasari, Putri Swandayani, Pristhania Riska, Bela Mayvani Rachman, Indri Noor Hidayati, Ayunita Tri Wiratami dan Afiful Jauhani yang hampir selalu jadi teman berbagi suka dan dukanya kuliah di Fakultas Kedokteran. Terimakasih untuk persahabatannya selama kurang lebih 4 tahun ini semoga persahabatan kita tetap awet selamanya;
9. Teman-teman angkatan 2008 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
10. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Univeritas Jember, Mbak Lilis terima kasih atas bantuan dan kerjasama, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juni 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

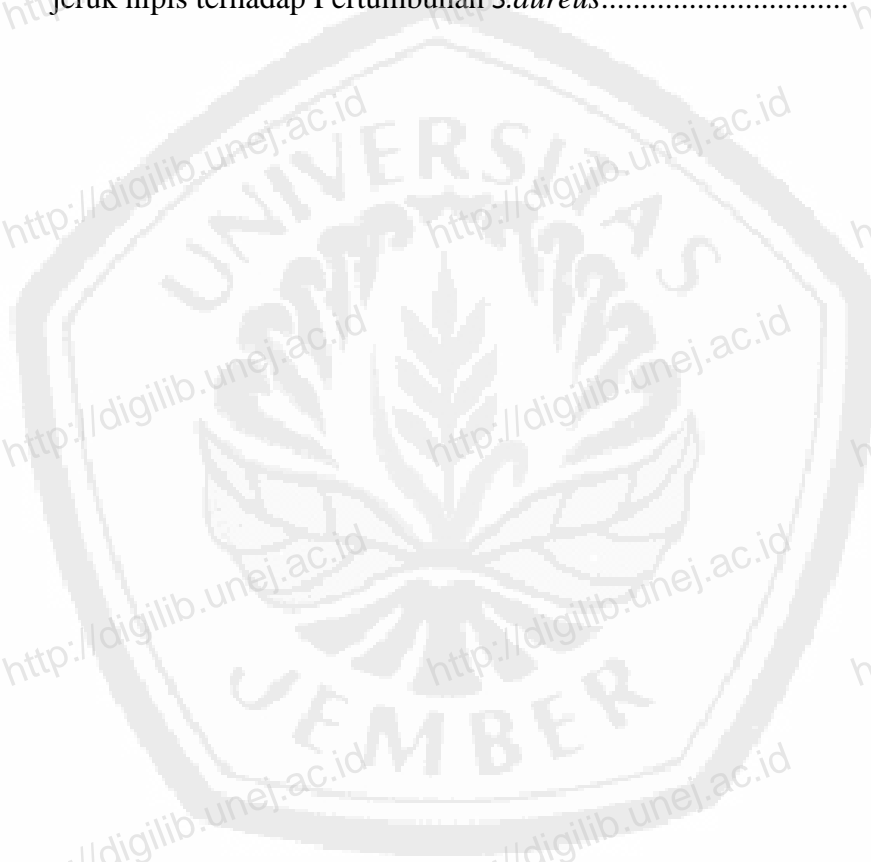
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>, Swingle)</b> .....	4
2.1.1 Sistematika Tanaman Jeruk Nipis.....	4
2.1.2 Nama Lain.....	4
2.1.3 Morfologi Tanaman.....	4
2.1.4 Kandungan Kimia.....	5
2.1.5 Khasiat dan Penggunaan.....	5
<b>2.2 Minyak Atsiri</b> .....	6

<b>2.3 S. aureus</b> .....	7
2.3.1 Klasifikasi <i>S. aureus</i> .....	8
2.3.2 Morfologi <i>S. aureus</i> .....	8
2.3.3 Daya Tahan .....	10
2.3.4 Struktur Antigen <i>S. aureus</i> .....	10
2.3.5 Enzim dan Toksin .....	11
2.3.6 Patologi Infeksi <i>S. aureus</i> .....	12
2.3.7 Manifestasi Klinis Infeksi <i>S. aureus</i> .....	13
<b>2.4 Antibakteri</b> .....	12
2.4.1 Mekanisme Kerja .....	14
2.3.2 Sefaleksin .....	15
<b>2.5 Uji aktivitas Antibakteri</b> .....	17
2.5.1 Difusi .....	17
2.5.2 Dilusi .....	18
<b>2.6 Kerangka Konseptual Penelitian</b> .....	19
<b>2.7 Hipotesis Penelitian</b> .....	19
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	20
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	20
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	20
<b>3.3 Metode Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibakteri</b> .....	21
<b>3.4 Sampel</b> .....	22
3.4.1 Sampel Penelitian .....	22
3.4.2 Pengulangan Sampel .....	22
<b>3.5 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	22
<b>3.6 Variabel penelitian</b> .....	23
3.6.1 Variabel Bebas .....	23
3.6.2 Variabel Terikat .....	23
3.6.3 Variabel Terkendali .....	23
<b>3.7 Definisi Operasional</b> .....	23
<b>3.8 Alat dan Bahan</b> .....	24
<b>3.9 Prosedur Penelitian</b> .....	24

3.10.1	Persiapan Alat .....	24
3.10.2	Pembuatan Perasan Jeruk Nipis .....	24
3.10.3	Pembuatan Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis .....	25
3.10.4	Pembuatan Larutan 0,5 McFarland .....	26
3.10.5	Pembuatan Suspensi <i>S.aureus</i> .....	26
3.10.6	Pembuatan Media Agar Mueller Hinton .....	26
3.10.7	Pembuatan Suspensi Sefaleksin .....	26
3.10.8	Tahap Perlakuan .....	26
3.10.9	Tahap Pengamatan .....	27
<b>3.10</b>	<b>Analisis Data</b> .....	<b>27</b>
<b>3.11</b>	<b>Alur Penelitian</b> .....	<b>28</b>
3.11.1	Pengenceran Perasan Jeruk Nipis .....	28
3.11.2	Alur Penelitian Dengan Metode Difusi .....	29
<b>BAB 4</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1</b>	<b>Hasil Penelitian</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2</b>	<b>Analisis Data</b> .....	<b>32</b>
<b>4.3</b>	<b>Pembahasan</b> .....	<b>33</b>
<b>BAB 5</b>	<b>PENUTUP</b> .....	<b>37</b>
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan</b> .....	<b>37</b>
<b>5.2</b>	<b>Saran</b> .....	<b>37</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>38</b>
	<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>41</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Karakteristik Penting dari <i>S. aureus</i> .....	10
2.2 Daya Tahan <i>S. aureus</i> .....	10
4.1 Hasil Pengukuran Zona Hambat berbagai Konsentrasi perasan jeruk nipis terhadap Pertumbuhan <i>S.aureus</i> .....	31



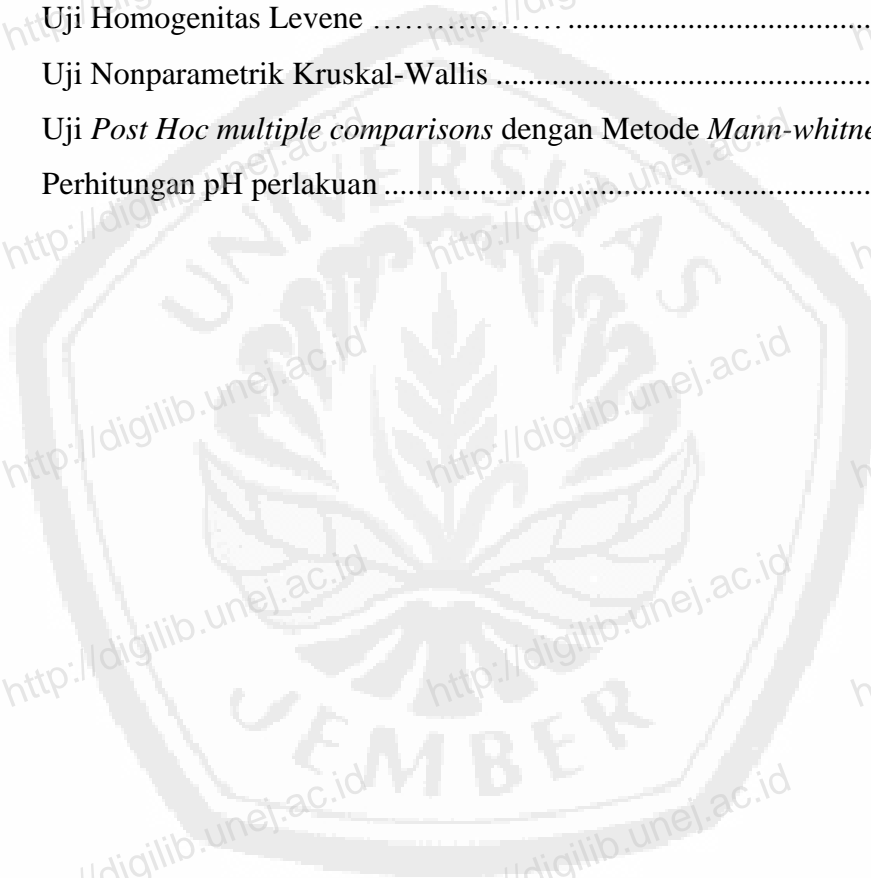
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
2.2 Koloni <i>S. aureus</i> .....	9
2.3 Skema Kerangka Konseptual Penelitian.....	19
3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	21
3.2 Skema Pengenceran ekstrak .....	28
3.3 Skema Alur Penelitian .....	29
4.1 Daya hambat terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumuran.....	31
4.2 Grafik rata-rata hubungan antara konsentrasi perasan jeruk nipis dengan daya penghambat pertumbuhan <i>S. aureus</i> .....	31



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Uji Normalitas <i>Kolmogorov Smirnov</i> .....	40
B. Uji Regresi Linier.....	41
C. Persamaan Garis Regresi dan KHM Secara Kuantitatif.....	43
D. Uji Homogenitas Levene .....	44
E. Uji Nonparametrik Kruskal-Wallis .....	45
F. Uji <i>Post Hoc multiple comparisons</i> dengan Metode <i>Mann-whitney</i> ..	46
G. Perhitungan pH perlakuan .....	70



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama pada daerah tropis, seperti Indonesia karena keadaan yang berdebu dan temperatur yang hangat dan lembab sehingga mendukung mikroba untuk tumbuh subur (Gibson, 1996). Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit.

Salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi yg sering ditemukan adalah *Staphylococcus aureus* yang merupakan patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dengan derajat keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang mengancam jiwa (Jawetz *et al.*, 2008). Infeksi *S. aureus* juga dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain melalui lesi yang terbuka, benda-benda yang terkontaminasi lesi tersebut, saluran nafas, dan kulit yang terbuka. Penyebaran *S. aureus* di rumah sakit sangat mudah karena sebagian besar tenaga medis maupun pasien membawa bakteri ini di dalam hidung maupun kulitnya. Jika *S. aureus* menyebar dapat menimbulkan gejala klinis berupa jerawat, infeksi folikel rambut, abses, diare, endokarditis, osteomielitis hematogen akut, meningitis, atau infeksi paru (Brooks *et al.*, 2008).

Infeksi bakteri *S. aureus* dapat diatasi dengan penggunaan antibakteri. Penggunaan antibakteri saat ini sangat sering dilakukan dan banyak menimbulkan resistensi. Menurut Benardo dan Ueno (2008), hampir semua strain bakteri *S. aureus* yang diteliti di Brazil resisten terhadap penisilin G, amoxicillin, aztreonam, dan ampicilin. Refdanita *et al* (2004) menyatakan bahwa hasil uji resistensi bakteri *S. aureus* terhadap antibakteri di ruang rawat intensif rumah sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002 menunjukkan angka resistensi yang

tinggi terhadap ampisilin, amoxicillin asam-klavunalat, amoxicillin, penisilin G, sulbenicillin, kloramfenicol, dan ciprofloxacin. Penggunaan antibakteri dapat menimbulkan efek samping seperti reaksi alergi, reaksi toksik, dan perubahan biologik maupun metabolik (Setiabudi, 2007). Untuk meminimalkan efek samping penggunaan antibakteri, dapat digunakan antibakteri alami yang umumnya mempunyai efek samping yang sangat minimal.

Salah satu antibakteri dari alam yang dapat digunakan sebagai obat adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle). Jeruk nipis merupakan buah yang mudah didapatkan dan tersedia sepanjang tahun (Khotima, 2002). Jeruk nipis sering digunakan sebagai pengawet, pengasaman, dan penambah cita rasa makanan. Buah jeruk nipis dapat digunakan untuk menurunkan panas, obat batuk, peluruh dahak, menghilangkan ketombe, influenza, dan obat jerawat (Tampubolon, 1981). Buah ini banyak digunakan di masyarakat dan dapat diperoleh dengan mudah dengan harga yang relatif murah. Buah jeruk nipis mengandung asam sitrat 7-7,6% sebagai komponen utamanya, selain itu terkandung juga vitamin C, damar, mineral vitamin B1, kalsium, fosfor, dan minyak atsiri yang didalamnya terkandung limonena, lemon kamfer, fellandrena, flavonoid, geranil asetat, kadinena, dan lianin asetat (Rukmana Rahmat, 1996). Jeruk nipis mengandung minyak atsiri yang merupakan substansi alami yang dikenal dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri merugikan seperti *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *S. aureus*, *Klebsiella*, dan *Pasteurella* (Agusta, 2000). Minyak atsiri cengkeh bahkan telah digunakan sejak lama di berbagai rumah sakit Eropa untuk mengatasi infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Salah satu kandungan minyak atsiri yang diduga mempunyai peran paling penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah flavonoid (Sudarto, dalam aryati *et al.*, 2006).

Widiasningrum (2004) pernah melakukan penelitian ekstrak dari kulit buah jeruk nipis yang ternyata mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Sejauh ini belum ditemukan literatur yang melaporkan tentang aktivitas antibakteri dari air perasan jeruk nipis, maka penulis ingin menguji kemampuan

antibakteri dari air perasan jeruk nipis terhadap bakteri yang sangat sering ditemukan yaitu *S. aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Uraian ringkas dalam latar belakang masalah di atas memberi dasar bagi peneliti untuk merumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

- a. Apakah air perasan jeruk nipis mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*?
- b. Berapakah Kadar Hambat Minimal (KHM) air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *S. aureus*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. aureus*.
- b. Untuk mengetahui berapa konsentrasi minimal air perasan jeruk nipis yang mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Memberi dasar penguat terhadap penggunaan air perasan jeruk nipis sebagai antibakteri alternatif kepada masyarakat.
- b. Memberikan sumbangan pemikiran dalam bidang kesehatan kepada pemerintah dan dinas kesehatan.
- c. Memberikan sumbangan pengembangan terhadap ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran.
- d. Memberikan informasi ilmiah yang dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*, Swingle)

Jeruk nipis adalah tumbuhan perdu yang menghasilkan buah dengan nama sama. Tumbuhan ini dimanfaatkan buahnya, yang biasanya bulat, berwarna hijau atau kuning, memiliki diameter 3-6 cm, umumnya mengandung daging buah masam, agak serupa rasanya dengan lemon.

#### 2.1.1 Sistematika Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*, Swingle)

*Citrus aurantifolia* dikenal sebagai jeruk nipis. Klasifikasi tanaman ini adalah sebagai berikut:

Divisio	: <i>Plantae</i>
Sub divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Dicotyledarae</i>
Ordo	: <i>Rutaceae</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus Aurantifolia</i> , Swingle (Backer, 1911).

#### 2.1.2 Nama Lain

Pada daerah-daerah tertentu jeruk nipis ini dikenal dengan istilah yang berbeda-beda antara lain: Sumatera: kelanga; Jawa: jeruk pecel; Sunda: jeruk nipis; Kalimantan; lemau epi; Maluku: putat ebi; Buru: a husi hisni; Flores: mudutelang (Dalimarta, 2000).

#### 2.1.3 Morfologi Tanaman

Jeruk nipis merupakan pohon yang bercabang banyak. Tingginya 1,5-3,5 m dan panjang dahannya 0,3-1,2 cm. Tangkai daun sedikit bersayap, berिंगgit, melekuk kedalam, dan panjangnya 0,5-2,5 cm. Helaian daunnya berbentuk bulat

telur memanjang, pangkalnya bulat, ujungnya tumpul, tepinya beringgit, meleuk kedalam, panjangnya 2,5-9 cm, warna daun pada permukaan bawah umumnya hijau muda, pada permukaan atas berwarna hijau tua mengkilap dan diameter bunganya 1,5-2,5 cm. Bila daun digosok-gosok dengan tangan, akan menebar aroma khas yang harum. Buahnya berbentuk bola, berwarna kuning, diameternya 3,5-5 cm, dan daging buahnya berwarna kuning kehijauan (Dalimarta, 2000; Van Steenis, 1975).

#### 2.1.4 Kandungan Kimia

Jeruk nipis mengandung minyak atsiri yang di dalamnya terdapat beberapa jenis komponen antara lain sitrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin (A, B, dan C), sinerfin, H-methyltyramine, flavonoid, ponsirin, herperidine, rhoifolin, dan naringin. Jeruk nipis juga mengandung komponen minyak atsiri limonene, kamfer, felandrena, geranil asetat, kadinera, linolil asetat, pinera, sitronella, linolil propanat, dekanol, linolool asetat, dan farsena (Agusta, 2000).

#### 2.1.5 Khasiat dan Penggunaan

Daun jeruk dan bunga jeruk nipis dapat digunakan untuk pengobatan hipertensi, batuk, lendir tenggorokan, demam, panas pada malaria, jerawat, ketombe, dan lain-lain (Dalimarta, 2000). Buah jeruk nipis dapat digunakan untuk menurunkan panas, obat batuk, peluruh dahak, menghilangkan ketombe, influenza, dan obat jerawat (Tampubolon, 1981). Pada kulit dan buah jeruk nipis juga dapat diambil minyak atsiri yang digunakan sebagai bahan obat dan hampir seluruh industri makanan, minuman, sabun, kosmetik, dan parfum menggunakan sedikit minyak atsiri ini sebagai pengharum dan juga dapat digunakan sebagai antirematik, antiseptik, antiracun, astringent, antibakteri, diuretik, antipiretik, antihipertensi, antijamur, insektisida, tonik, antivirus, dan ekspektoran (Agusta, 2000). Getah batang ditambahkan dengan sedikit garam dapat dipergunakan sebagai obat sakit tenggorokan (Tampubolon, 1981).

## 2.2 Minyak Atsiri

Minyak atsiri (minyak eteris) adalah istilah yang digunakan untuk minyak mudah menguap dan diperoleh dari tanaman dengan cara penyulingan (Guenther, 1987). Minyak atsiri adalah campuran alamiah lipofilik yang komponennya terdiri atas turunan isoprena (Stahl, 1985).

Minyak atsiri juga dikenal dengan nama *Volatile oils*, *Ethereal oils*, *Essensial oils* (Claus *et al.*, 1970). Minyak atsiri terdapat dalam tanaman terutama familia Pinaceae, Zingiberaceae, Rutaceae, Myrtaceae, Labiatae, Umbeliferae, Rosaceae, dan Piperaceae (Claus *et al.*, 1970).

Minyak atsiri yang baru diekstrak (masih segar) biasanya tidak berwarna, atau berwarna kekuningan jika dibiarkan lama di udara dan kena cahaya matahari pada suhu kamar maka minyak tersebut akan mengabsorpsi oksigen di udara, sehingga minyak tersebut menghasilkan warna yang lebih gelap. Minyak atsiri larut dalam alkohol dan pelarut organik lainnya (Guenther, 1987).

Minyak atsiri mengandung empat kelompok besar yang dominan menentukan sifat minyak atsirinya. Empat kelompok ini yaitu terpen yang ada hubungan dengan isoprena atau isopentena, persenyawaan berantai lurus tidak mengandung rantai cabang, turunan benzen, dan bermacam-macam persenyawaan lainnya (Guenther, 1987). Salah satu substansi penyusun minyak atsiri yang diduga mempunyai pengaruh paling besar sebagai penghambat pertumbuhan bakteri adalah senyawa flavonoid (Sudarto, dalam aryati *et al.*, 2006).

Flavonoid mempunyai beragam sifat biologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, dan antikanker (Fernandez *et al.*, 2006). Mekanisme antibakteri senyawa flavonoid diduga dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelezar dan Chan, 1998 dalam Riza, 2010).

Kegunaan minyak atsiri bagi tanaman sendiri adalah untuk menarik serangga untuk membantu penyerbukan (Agusta, 2000) dan menghasilkan minyak dengan bau merangsang sehingga membentuk daya tahan tanaman terhadap kerusakan oleh binatang maupun tanaman parasit (Guenther, 1987). Bagi industri makanan dan minuman untuk memberikan citarasa dalam berbagai produk

pangan, kembang gula, puding, permen karet, minuman beralkohol dan non alkohol, sedangkan dalam industri farmasi digunakan sebagai sebagai bahan obat-obatan (Guenther, 1990). Misalnya sebagai bahan untuk obat anti bakteri dan anti jamur yang kuat. Minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri yang merugikan bagi manusia seperti *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella sp*, dan *Klebsiella* (Agusta, 2000).

### 2.3 *S. aureus*

*Staphulococcus aureus* merupakan bakteri yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit, mulut, saluran pernafasan bagian atas, dan saluran pencernaan. *S. aureus* juga merupakan patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya dengan derajat keparahan yang beragam (brooks *et al.*, 2007; dan Arnita, 2007). Hampir 40% populasi masyarakat umum dan 50-90% populasi petugas kesehatan di rumah sakit terdapat koloni *S. aureus* pada lubang hidungnya. Infeksi akan menjadi masalah yang berat jika bakteri bermigrasi ke tempat lain diluar habitat normalnya, terutama pada orang yang mengalami gangguan pada respon imunnya (Shodikin *et al.*, 2006).

Hampir setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh *S. aureus*. infeksi tidak hanya terjadi secara langsung seperti pada kulit, namun juga secara tidak langsung dengan menghasilkan toksin (enterotoksin) yang biasa menyebabkan keracunan makanan dan *toxic shock syndrome* (Warsa, 1993). Setiap jaringan dan alat tubuh dapat diinfeksi oleh *S. aureus* dan menyebabkan penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Tolan, 2010). Infeksi dapat berupa furunkel yang ringan pada kulit sampai berupa bakteriemia yang fatal (Warsa, 1993).



### 2.3.1 Klasifikasi *S. aureus*

Pemberian nama bakteri golongan *Staphylococcus* dilakukan dengan sistem binomial oleh Rosebach (1884). Penamaan ini untuk memudahkan klasifikasi identifikasi secara internasional. Karakteristik dari *S. aureus* dapat di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Staphylococceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>S. aureus</i> (Shodikin <i>et al.</i> , 2006)

### 2.3.2 Morfologi *S. aureus*

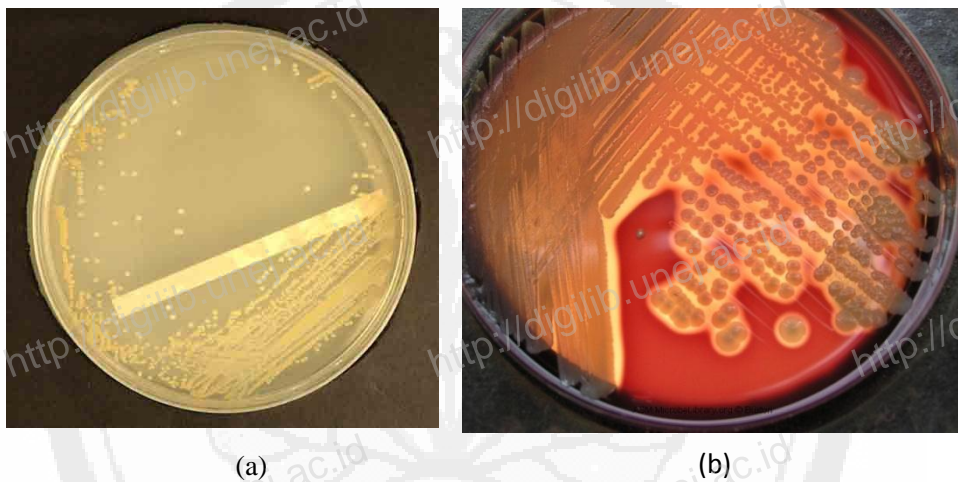
*S. aureus* merupakan kuman Gram positif berbentuk sferis dengan diameter sekitar 1  $\mu\text{m}$  yang tersusun dalam kelompok yang tidak teratur. *S. aureus* dibawah mikroskop tampak sebagai gambaran khas sel berbentuk bulat, tersusun khas seperti gerombolan buah anggur dan berwarna ungu (Shodikin *et al.*, 2006). *S. aureus* tidak motil dan tidak membentuk spora (Brooks, 2007).



Gambar 2.1 *S. aureus*

(a) pengamatan dengan mikroskop cahaya; (b) pengamatan dengan mikroskop electron

*S. aureus* bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh pada udara yang hanya mengandung hidrogen. PH optimum untuk pertumbuhannya adalah 7,4. Batas suhu untuk pertumbuhannya adalah 15°C dan 40°C dengan suhu pertumbuhan optimum adalah 35°C (Warsa,1993). Pada biakan dengan media *Blood Agar Plate* (BAP) atau pada media *Nutrient Agar* (NA) akan tumbuh koloni berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, permukaan halus mengkilat, konsistensinya lunak, dan berwarna khas kuning keemasan. Pada BAP umumnya koloni lebih besar dan koloninya dikelilingi oleh zona hemolisis (Warsa, 1993:104).



Gambar 2.2 Koloni *S. aureus*  
(a) Media *Nutrient Agar Plate*; (b) Media *Blood Agar Plate*

Bakteri *S. aureus* lebih patogen dan invasif bila dibandingkan dengan spesies *Staphylococcus* lainnya, karena *S. aureus* mampu memproduksi enzim koagulase. Dengan enzim ini, *S. aureus* mampu merubah fibrinogen menjadi fibrin, kemudian akan menggumpalkan darah. Tes koagulase yang positif merupakan pembeda dengan *Staphylococcus* lainnya (Shodikin *et al.*, 2006). Karakteristik penting dari *S. aureus* secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Karakteristik penting dari *S. aureus*

Karakteristik penting dari <i>S. aureus</i>
Bakteri Gram positif
Bentuk bulat (coccus)
Susunan bergerombol seperti anggur
Non motil
Tidak membentuk spora
Fakultatif anaerob
Tes katalase positif
Tes koagulase positif
Fermentasi manitol positif
Memfermentasikan glukosa menjadi asam laktat
Koloni tampak kuning keemasan

Sumber : Shodikin *et al.*, 2006.

### 2.3.3 Daya Tahan

*S. aureus* termasuk jenis kuman yang paling kuat daya tahannya diantara kuman yang tidak membentuk spora. *S. aureus* dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan pada agar miring, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. *S. aureus* dapat tetap hidup dalam keadaan kering, pada benang, kertas, kain, dan dalam nanah selama 6-14 minggu (Warsa, 1993). *S. aureus* akan tetap hidup pada fase dormansi jika kondisi lingkungan tidak mendukung selama beberapa tahun dan akan aktif kembali jika kondisi lingkungan telah mendukung. *S. aureus* dalam berbagai zat kimia memiliki berbagai daya tahan yang dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Daya tahan *S. aureus*

Senyawa Kimia	Daya tahan <i>S. aureus</i>
Tinc. Iodii 2 %	1 menit
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3 %	3 menit
HgCl <sub>2</sub> 1 %	10 menit
Fenol 2%	15 menit
Alkohol 50-70%	1 jam

Sumber : Warsa. 1993.

### 2.3.4 Struktur Antigen *S. aureus*

*S. aureus* mengandung polisakarida antigenik dan protein A serta substansi lainnya di dalam struktur dinding selnya (Brooks *et al.*, 2007). Polisakarida A ini merupakan komponen dinding sel bakteri yang virulen.

Polisakarida A merupakan suatu kompleks peptidoglikan asam teikhotat dan dapat menghambat fagositosis (kumar *et al.*, 2005). Sebagian besar strain *S. aureus* mempunyai koagulase atau faktor penggumpal pada permukaan dinding selnya. Koagulase berikatan dengan fibrinogen secara nonenzimatik sehingga menyebabkan agregasi bakteri (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.3.5 Enzim dan Toksin

*Staphylococcus* dapat menyebabkan penyakit baik melalui kemampuannya untuk berkembang biak dan menyebar luas di jaringan serta dengan cara menghasilkan berbagai substansi ekstraselular. Beberapa substansi tersebut adalah enzim dan lainnya dianggap sebagai toksin, tetapi dapat berfungsi sebagai enzim. Enzim tersebut antara lain:

#### a. Katalase

*S. aureus* menghasilkan enzim katalase. Enzim ini akan mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Brooks *et al.*, 2007).

#### b. Koagulase dan faktor penggumpal

*S. aureus* menghasilkan koagulase, suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang mengandung oksalat atau sitrat. Koagulase berikatan dengan protombin dan bersama-sama menjadi aktif secara enzimatik dan menginisiasi polimerisasi fibrin.

Faktor penggumpal adalah kandungan permukaan *S. aureus* yang berfungsi melekatkan organisme ke fibrin atau fibrinogen. *S. aureus* membentuk gumpalan bila berada di plasma (Brooks *et al.*, 2007).

#### c. Hyaluronidase

Hyaluronidase disebut sebagai faktor penyebaran. Enzim ini mempermudah penyebaran *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2007).

#### d. Stafilokinase

Stafilokinase menyebabkan fibrinolisis. Enzim ini bekerja lebih lambat daripada streptokinase, proteinase, lipase, dan  $\beta$ -laktamase (Brooks *et al.*, 2007).

e. Eksotoksin

$\alpha$ -toksin merupakan protein heterogen yang bekerja dengan spektrum luas pada membran sel eukariot dan termasuk hemolisin kuat.  $\beta$ -toksin dapat mengurai sfingomielin sehingga toksik untuk berbagai sel, termasuk sel darah merah manusia.  $\gamma$ -toksin melisiskan sel darah merah manusia dan hewan.  $\delta$ -toksin bersifat heterogen dan terurai menjadi beberapa subunit pada detergen nonionik. Toksin-toksin tersebut mengganggu membran biologik dan dapat berperan pada penyakit diare akibat *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2007).

f. Leukosidin

Leukosidin pada *S. aureus* dapat membunuh sel darah putih manusia dan kelinci. Leukosidin memiliki dua komponen dan bekerja secara sinergis pada membran sel darah putih membentuk pori-pori dan meningkatkan permeabilitas kation (Brooks *et al.*, 2007).

g. Toksin eksfoliatif

Toksin eksfoliatif adalah protein ekstraseluler yang tahan panas, tetapi tidak tahan asam. Toksin eksfoliatif disebut juga sebagai toksin epidermolitik. Toksin ini dianggap sebagai penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (Bukowski, 2010).

h. Toksin sindrom-syok-toksik

Sebagian besar pasien dengan sindrom syok toksik menghasilkan toksin sindrom-syok-toksik-1. Toksin ini menyebabkan demam, syok, dan melibatkan berbagai sistem tubuh, termasuk ruam kulit deskuamatif (Brooks *et al.*, 2007).

i. Enterotoksin

Enterotoksin merupakan superantigen yang tahan terhadap panas dan resistan terhadap kerja enzim usus. Enterotoksin merupakan penyebab penting keracunan makanan. Enterotoksin dihasilkan bila *S. aureus* tumbuh di makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.3.6 Patologi Infeksi *S. aureus*

Prototipe lesi *Staphylococcus* adalah furunkel atau abses setempat lainnya. Kelompok *S. aureus* yang terdapat di folikel rambut menyebabkan nekrosis

jaringan (faktor demonekrotik). Koagulase dihasilkan dan mengkoagulasi fibrin di sekitar lesi dan di dalam limfatik, mengakibatkan pembentukan dinding yang membatasi proses dan diperkuat oleh akumulasi sel-sel radang dan kemudian jaringan fibrosa. Di tengah lesi terjadi pencairan jaringan nekrotik (dibantu oleh hipersensitivitas lambat) dan abses mengarah pada daerah yang resistensinya paling rendah. Setelah cairan di tengah jaringan nekrosis keluar, rongga secara pelan-pelan terisi dengan jaringan granulasi dan akhirnya sembuh (Brooks *et al.*, 2007).

Supurasi fokal (abses) merupakan ciri khas infeksi *Staphylococcus*. Dilihat dari fokus mana pun organisme ini dapat menyebar melalui aliran darah dan sistem limfatik ke bagian tubuh lain. Supurasi dalam vena yang menimbulkan trombosis merupakan gambaran umum penyebaran tersebut. *S. aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, empiema, endokarditis, atau sepsis dengan supurasi di berbagai organ. *Staphylococcus* dengan daya invasif rendah dapat menyebabkan berbagai infeksi kulit (misalnya akne, pioderma, atau impetigo) (Brooks *et al.*, 2007).

*Staphylococcus* juga menyebabkan penyakit melalui kerja toksin, tanpa memperlihatkan infeksi invasif. Bula eksfoliatif (*Scalded Skin Syndrome*) disebabkan oleh pembentukan toksin eksfoliatif. Sindrom syok toksik disebabkan oleh toksin sindrom syok toksin-1 (TSST-1) (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.3.7 Manifestasi Klinis Infeksi *S. aureus*

Infeksi lokal *Staphylococcus* tampak sebagai “jerawat”, infeksi folikel rambut, atau abses. Infeksi *S. aureus* biasanya terjadi reaksi radang yang berlangsung hebat, terlokalisasi, dan nyeri yang membentuk supurasi sentral dan cepat menyembuh bila dilakukan drainase pus (Brooks *et al.*, 2007). Infeksi *S. aureus* dapat terjadi akibat kontaminasi langsung pada luka, misalnya infeksi *Staphylococcus* pada luka pascaoperasi atau infeksi yang terjadi setelah trauma (osteomielitis kronik setelah fraktur terbuka dan meningitis setelah fraktur tengkorak) (Brooks *et al.*, 2007).

*S. aureus* jika menyebar luas dan terjadi bakteremia dapat terjadi endokarditis, osteomielitis hematogen akut, meningitis, atau pneumonia. Gambaran klinisnya menyerupai gambaran klinis pada infeksi lainnya yang melalui aliran darah. Lokalisasi sekunder dalam organ atau sistem ditandai oleh gejala dan tanda disfungsi organ dan supurasi setempat yang hebat (Brooks *et al.*, 2007).

Keracunan makanan akibat enterotoksin *S. aureus* ditandai dengan waktu inkubasi yang pendek (1 sampai 8 jam), mual hebat, muntah diare, penyembuhan cepat serta tidak disertai demam. Sindrom syok toksik timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam bentuk skarlatina, dan hipotensi yang disertai gagal jantung dan gagal ginjal pada sebagian kasus yang berat. Gejala tersebut sering terjadi dalam 5 hari setelah permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, tetapi juga dapat terjadi pada anak-anak atau laki-laki dengan luka yang terinfeksi *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2007).

## 2.4 Antibakteri

Antibakteri ialah obat pembasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Yang dimaksud dengan bakteri pada pembahasan ini terbatas pada jasad renik yang tidak termasuk kelompok parasit dan jamur. Obat yang digunakan sebagai antibakteri harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya, obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Setiabudy, 2007).

### 2.4.1 Mekanisme Kerja

Berdasarkan mekanisme kerjanya, dibagi dalam lima kelompok (Setiabudy, 2007):

#### a. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah sulfonamid, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS), dan sulfon. Dari mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteriostatik. Kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Apabila

sulfonamide atau sulfon menaing bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Akibatnya, kehidupan bakteri akan terganggu (Setiabudy, 2007).

b. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, bacitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Obat-obat tersebut menghambat reaksi sintesis dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Setiabudy, 2007).

c. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri

Obat yang termasuk kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antibakteri kemoterapeutik, seperti antiseptik *surface active agents*. Polimiksin sebagai senyawa ammonium-kuaterner dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri. Antibiotik polien bereaksi dengan struktur sterol yang terdapat pada membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut. Antiseptik yang mengubah tegangan permukaan dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel bakteri sehingga menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri (Setiabudy, 2007).

d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah aminoglikosid, makrolid, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Obat-obat tersebut menghambat sintesis sel bakteri dengan berikatan dengan salah satu ribosom di atas (Setiabudy, 2007).



e. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Rifampisin berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat anzim DNA gyrase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral sehingga muat dalam sel kuman yang kecil (Setiabudy, 2007).

#### 2.4.2 Sefalekssin

Sefalekssin merupakan antibakteri golongan sefalosporin generasi pertama yang telah banyak digunakan peroral untuk pengobatan infeksi dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri. Secara *in vitro*, sefalosporin generasi pertama memperlihatkan spektrum antibakteri yang terutama aktif terhadap kuman Gram-positif (Setiabudy, 2007). Menurut Gilbert *et al.* (2000), *first choice* dalam penatalaksanaan infeksi *S. aureus* adalah penicillin dan sefalosporin generasi pertama.

Penelitian yang dilakukan Refdanita *et al.* (2004), *S. aureus* memiliki kepekaan yang tinggi terhadap sefalekssin, dibekasin, gentamisin, netilmisin, tobramisin, sefotiam, sefotaksim, seftizoksim, tetrasiklin, kotrimoksazol, dan fosmisin. Resistensi tertinggi berturut-turut diberikan untuk ampisilin, amoksisilin-asam klavulanat, amoksisilin, penisilin G, sulbenisilin, kloramfenikol, dan siprofloksasin.

Sefalekssin oral diabsorpsi dari usus bervariasi secara luas. Makanan dalam lambung tidak mengganggu absorpsinya, tetapi memperlambat tercapainya kadar puncak. Kadar puncak darah mencapai 32 µg/ml pada dosis terapi (Setiabudy, 2007). Ekskresi terutama melalui filtrasi glomerulus dan sekresi tubular ke dalam urin. Obat penghambat tubulus sekretori, misalnya probenesid, dapat meningkatkan kadar dalam serum. Pada pasien dengan kelainan ginjal, dosis harus dikurangi yaitu satu perempat dosis normal (Katzung, 1997). Ekskresinya sekitar 90% melalui urin dalam bentuk tetap (Setiabudy, 2007).

Mekanisme kerja antibakteri sefaleksin ialah menghambat sintesis dinding sel bakteri. Yang dihambat ialah reaksi transpeptidase tahap ketiga dalam rangkaian reaksi pembentukan dinding sel. Obat ini tersedia dalam bentuk kapsul 250 dan 500 mg dan suspensi oral 125 dan 250 mg/5 ml (Setiabudy, 2007). Nilai MIC sefaleksin untuk *S. aureus* adalah 4 µg/ml secara *in vitro* (Picco *et al.*, 2011).

## 2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode uji kepekaan antibakteri dibagi menjadi tiga tipe berdasarkan teknik yang diterapkan dalam sistem-sistem tersebut, yaitu:

### 2.5.1 Difusi

Teknik difusi merupakan metode kuantitatif yang dapat digunakan untuk pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri terhadap suatu antibakteri. Uji kepekaan ini adalah yang paling sering digunakan karena pelaksanaannya mudah, tidak mahal, dan pengukurannya tidak sulit. Metode difusi ini memiliki beberapa modifikasi, yaitu:

#### a. Cara Kirby Bauer

Cara ini dilakukan dengan melakukan *streaking* inokulum standar organismenya pada permukaan medium Mueller Hinton agar dalam lempeng gelas (*patri disk*), kemudian cakram antibiotik yang terimpregnasi dengan agen antibakteri ditempelkan pada permukaannya dan diinkubasi dengan suhu 35°-37°C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram antibiotik (Suswati dan Mufida, 2009).

#### b. Cara Sumuran

Mirip dengan cara Kirby Bauer. Perbedaannya adalah fungsi cakram antibiotik diganti dengan sumuran yang diisi larutan antibiotik yang terimpregnasi dengan agen antibakteri. Kemudian diinkubasi pada suhu 35°-37°C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar sumuran (Suswati dan Mufida, 2009).

### c. Cara Pour Plate

Metode ini tidak dilakukan streaking tetapi dengan mencampurkan bahan kuman dengan agar base 1,5% pada suhu 50°C sampai homogen kemudian dituangkan pada media Mueller Hinton agar. Setelah membeku, diletakkan cakram antibiotik di permukaannya lalu diinkubasi pada suhu 35°-37°C selama 15-20 jam. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram antibiotik (Suswati dan Mufida, 2009)

### 2.5.2 Dilusi

Uji kepekaan dilusi digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal agen *microbial* dalam menghambat atau membunuh mikroorganisme. Hal ini dapat dicapai dengan mendilusikan agen mikrobial pada media agar atau broth (Lalitha, 2008).

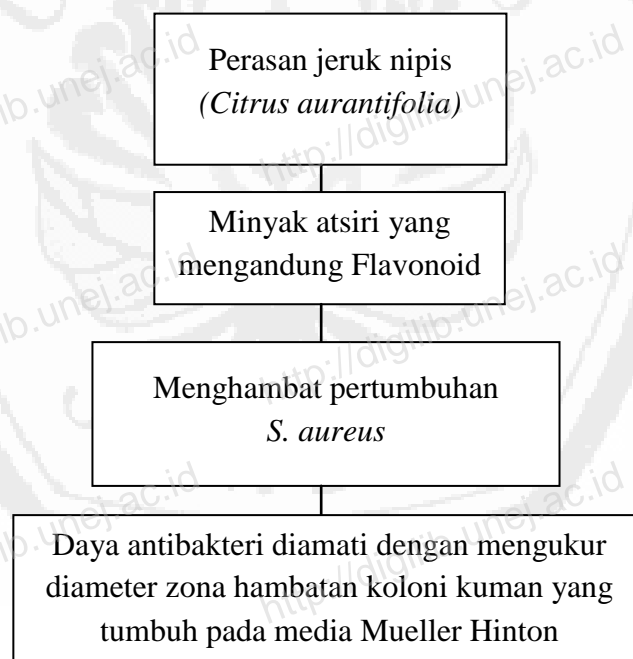
#### a. Broth Dilusi

Pada metode ini penentuan MIC dengan broth dilusi berbagai konsentrasi agen antibakteri diinokulasikan dengan suspensi standar bakteri uji (suspensi Mc Farland). Setelah diinkubasi semalam dengan suhu 35°C, MIC ditentukan dengan mengamati konsentrasi terendah dari agen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji secara visual. Uji MIC yang lengkap terdiri dari 1-3 konsentrasi agen antibakteri yang kemudian menunjukkan rentang kemampuan terapi agen antibakteri yang diuji. Banyak uji dapat dilakukan dalam waktu yang sama dengan membatasi tahapan dilusi, cara ini dapat dilakukan dengan menggunakan dilusi pada tabung reaksi (*Macro Broth Dilution*) atau lempeng mikrodilusi plastik (*Micro Broth Dilution*). *Macro broth dilution* lebih mudah dilakukan dalam laboratorium sederhana karena hanya menggunakan alat-alat yang umum yaitu tabung reaksi, sedangkan *micro broth dilution* membutuhkan rak-rak plastik khusus yang jumlahnya spesifik dan dengan harga cukup mahal. Selain itu, nilai MIC pada *Macro Broth dilution* lebih stabil pada percobaan berulang daripada pada *micro broth dilution* (Mendoza, 1998).

## b. Agar Dilusi

Pada teknik ini berbagai konsentrasi agen antibakteri diletakkan pada agar MH. Berbagai konsentrasi ini diinokulasikan dengan sebuah inokulum organisme uji yang setara dengan larutan Mc Farland. Inokulasi dilakukan dengan alat replikasi inokulum (replikator). Plate diinkubasi semalam pada suhu 35°C dan dibaca dengan menentukan konsentrasi agen antibakteri terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri secara visual. Konsentrasi ini dilaporkan sebagai MIC. Uji ini kurang disarankan karena menghabiskan tenaga dan waktu meskipun pelaksanaannya dapat dilakukan uji beberapa isolat dalam waktu bersamaan (Mendoza, 1998).

## 2.6 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.3 Skema kerangka konseptual penelitian

## 2.7 Hipotesis Penelitian

Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) mempunyai daya antibakteri pada pertumbuhan kuman *S. aureus* secara in vitro.

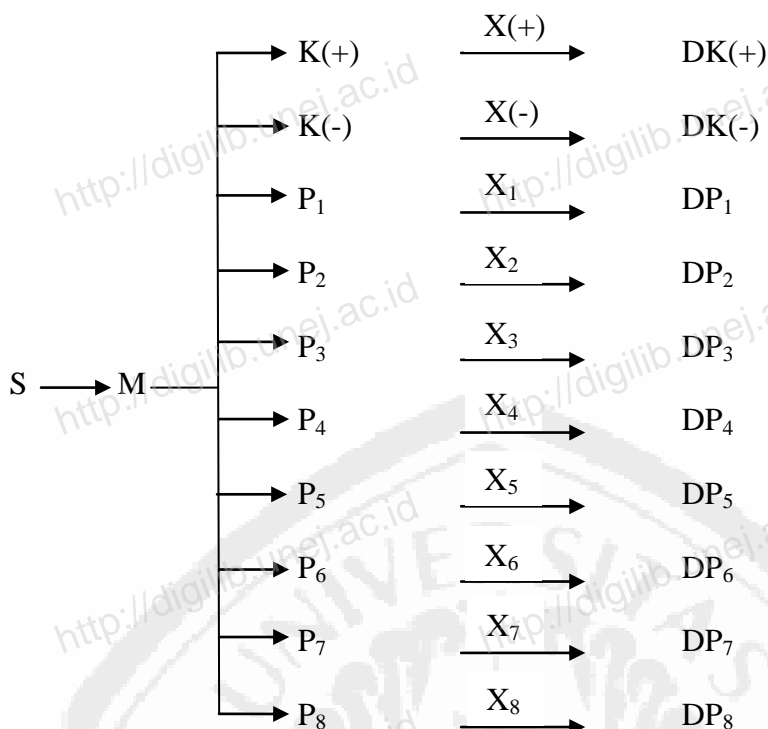
## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara *in vitro* adalah penelitian eksperimental murni (*True Experimental Design*) laboratorium (Pratiknya, 2008). Pada penelitian ini perasan jeruk nipis berbagai konsentrasi diujikan terhadap pertumbuhan *S. aureus*.

### **3.2 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan eksperimental sederhana (*Posttest Only Control Group Design*). Dalam rancangan penelitian eksperimental ini sampel dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Pratiknya, 2008). Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



**Keterangan:**

S : Sampel (suspensi bakteri *S. aureus*)

M : Media agar Mueller Hinton

K(+) : Kelompok kontrol positif (suspensi sefaleksin)

K(-) : Kelompok kontrol negatif (aquades steril)

P<sub>1-8</sub> : Berturut-turut kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8

X(+) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol positif (suspensi sefaleksin) selama 24 jam (inkubasi)

X(-) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol negatif (aquades steril) selama 24 jam (inkubasi)

X<sub>1-8</sub> : Berturut-turut perlakuan berupa kontak dengan perasan jeruk nipis konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% selama 24 jam (inkubasi)

DK(+) : Data perlakuan dengan kontrol positif (suspensi sefaleksin)

DK(-) : Data perlakuan dengan kontrol negatif (aquades steril)

DP<sub>1-8</sub> : Berturut-turut data perlakuan dengan perasaan jeruk nipis konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78%

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

### 3.3 Metode Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara *in vitro* adalah metode difusi dengan cara sumuran. Metode ini paling sensitif di antara metode difusi lainnya (Jagessar

et al., 2008) dan paling baik jika digunakan untuk *screening* aktivitas antibakteri (Saeed & Tariq, 2005).

### 3.4 Sampel

#### 3.4.1 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *S. aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jeruk nipis yang digunakan diperoleh dari pasar yang berada di Jember.

#### 3.4.2 Pengulangan Sampel

Besar sampel yang digunakan sesuai standar kekeruhan 0,5 *McFarland* (Saeed & Tariq, 2005). Dalam penelitian ini dilakukan 8 perlakuan, yaitu pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%. Kedelapan perlakuan ini diulangi sebanyak 4 kali. Sedangkan untuk perlakuan terhadap kontrol, yaitu kontrol negatif berupa aquades steril dan kontrol positif berupa suspensi sefaleksin hanya dilakukan 1 kali.

Penentuan pengulangan ditentukan berdasarkan perhitungan cara Hanafiah (1991) sebagai berikut:

$$\begin{aligned}(p-1)(q-1)(r-1) &\geq 20 \\(8-1)(2-1)(r-1) &\geq 20 \\(7)(1)(r-1) &\geq 20 \\7r-7 &\geq 20 \\7r &\geq 27 \\r &\geq 3,86\end{aligned}$$

Keterangan:

- p : jumlah perlakuan
- q : jumlah kontrol
- r : jumlah pengulangan

### 3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai dengan April 2012.

### 3.6 Variabel Penelitian

#### 3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perasan jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi. Konsentrasi tersebut diencerkan secara bertingkat hingga didapatkan konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%.

#### 3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media Mueller Hinton di sekitar sumuran. Media Mueller Hinton ini sebelumnya dilakukan kontak dengan *S. aureus* selama 24 jam (inkubasi) dengan perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%.

#### 3.6.3 Variabel Terkendali

- Pembuatan biakan bakteri *S. aureus*, pembuatan perasan jeruk nipis, media Mueller Hinton, inkubator, autoklaf, suspensi sefaleksin, dan aquades steril
- Suhu inkubasi 37° C dan lama inkubasi 24 jam.
- Cara pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

### 3.7 Definisi Operasional

- Jeruk nipis yang dipergunakan pada penelitian ini adalah jenis tanaman perdu dari keluarga *Rutaceae* yang di beli di pasar Tanjung Jember yang masih segar dengan bentuk bulat, berwarna hijau, berdiameter antara 3-6 cm, dan mempunyai berat antara 300-500 gram.
- Perasan jeruk nipis merupakan air yang terkandung dalam jeruk nipis yang didapatkan dari pemisahan antara cairan dengan serat dari jeruk nipis dengan alat bantu saringan sebanyak 5 ml.
- Konsentrasi perasan jeruk nipis 100% adalah konsentrasi perasan jeruk nipis sebanyak 4 ml yang didapatkan langsung dari jeruk nipis tanpa mencampur bahan apapun.



- d. Konsentrasi perasan jeruk nipis 50% adalah konsentrasi perasan jeruk nipis yang didapatkan dengan cara mencampurkan 1 ml aquades steril dengan 1 ml larutan yang diambil dari larutan konsentrasi 100% kemudian divortex hingga tercampur rata (60 detik). Kemudian dilakukan pengenceran secara bertingkat dengan kelipatan setengahnya sampai didapatkan larutan konsentrasi 0,78%.
- e. Kontrol positif adalah sefaleksin 4µl/ml.
- f. Kontrol negatif adalah aquades steril.
- g. Zona hambat perasan jeruk nipis adalah diameter daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri *S. aureus* di sekeliling sumuran yang diisi dengan kontrol dan perlakuan.

### 3.8 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, autoklaf, vibrator/vortex, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, timbangan atau neraca, ose, kertas saring, lampu bunsen, *disposable Syringe*, inkubator, gelas ukur, mikropipet, tabung Erlenmeyer, corong *Buchner*, jangka sorong, dan pipa penghisap. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *nutrient Broth*, air, aquades steril, suspensi *S. aureus*, perasan jeruk nipis, dan serbuk Mueller Hinton (MH).

### 3.9 Prosedur Penelitian

#### 3.9.1 Persiapan Alat

Semua alat yang akan dipakai dalam penelitian ini disterilkan dalam sterilisator panas kering selama 15 menit dengan suhu 110°C terlebih dahulu. Setelah itu bahan media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C (Suswati dan Mufida, 2009).

#### 3.9.2 Pembuatan Perasan Jeruk Nipis

Jeruk nipis di potong menjadi 2 bagian. Kemudian, peras airnya ke dalam tabung erlenmeyer lalu disaring menggunakan kertas saring sampai didapatkan cairan sebanyak 5 ml.

### 3.9.3 Pembuatan Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis

Perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 100% didapatkan dari perasan jeruk nipis sebanyak 4 ml tanpa menambahkan bahan apapun yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi I. kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan kelipatan setengahnya sampai didapatkan larutan konsentrasi 0,78% dan divortex selama 60 detik. Dari larutan konsentrasi 100% diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi II yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 50%. Dari larutan konsentrasi 50% diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi III yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 25%. Dari larutan konsentrasi 25% diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi IV yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 12,5%. Dari larutan konsentrasi 12,5% diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi V yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 6,25%. Dari larutan konsentrasi 6,25% diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi VI yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 3,125%. Dari larutan konsentrasi 3,125% diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi VII yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 1,56%. Dari larutan konsentrasi 1,56% diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi VIII yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 0,78%. Beri label pada tabung untuk setiap kali pengenceran sesuai dengan konsentrasinya (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.9.4 Pembuatan Larutan *McFarland*

Standar *McFarland* dibuat dengan cara mencampur 9,95 ml asam sulfur 1% dengan 0,05 ml barium klorida 1%. Kemudian tabung disegel dan digunakan untuk perbandingan suspensi bakteri dengan standar (Saeed & Tariq, 2005).

### 3.9.5 Pembuatan Suspensi *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. *S. aureus* yang dipergunakan dibuat dengan mengambil satu ose kuman dari kultur, kemudian dimasukkan ke dalam media *Nutrient Broth*, selanjutnya diinkubasi 37° C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi kuman yang telah diinkubasi disesuaikan dengan standar larutan McFarland ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) dengan menambah aquades steril (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.9.6 Pembuatan Media Agar Mueller Hinton

Agar nutrien Mueller Hinton dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer sebanyak 2 gram. Ditambahkan 100 ml aquades, dicampur dan diaduk hingga rata kemudian dipanaskan hingga mendidih dan larut. Dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 30 menit. Kemudian larutan yang ada di dalam tabung Erlenmeyer dituang ke dalam cawan petri steril dengan cara aseptik lalu dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.9.7 Pembuatan Suspensi Sefaleksin

Bubuk sefaleksin ditimbang sebanyak 1 mg. Larutkan dengan 250 ml aquades steril kemudian divortex selama 60 detik.

### 3.9.8 Tahap Perlakuan

Lidi kapas steril dicelupkan ke dalam biakan cair kuman. Lidi kapas yang telah basah diperas pada dinding tabung. Lidi kapas tersebut diusapkan pada seluruh permukaan medium agar Mueller Hinton, kemudian mengulang prosedur tersebut dua kali lagi dengan memutar plate 60°, kemudian plate didiamkan 3-5 menit pada suhu ruangan tetapi tidak lebih dari 15 menit supaya medium benar-benar kering sebelum dibuat sumuran. Pada agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan, kemudian ke dalam sumuran tersebut ditetaskan perasan jeruk nipis sebanyak 0,1 ml dengan beberapa konsentrasi yang

telah dibuat. Kemudian suspensi sefaleksin juga ditetaskan ke dalam sumuran lain yang masih kosong sebagai kontrol positif. Aquades steril juga ditetaskan ke dalam sumuran lain yang masih kosong sebagai kontrol negatif (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.9.9 Tahap Pengamatan

Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian dilakukan pengamatan pada cawan petri yaitu dengan cara menghitung zona hambat pertumbuhan pada masing-masing sumuran. Perhitungan dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat pertumbuhan *S. aureus* pada media Mueller Hinton dengan menggunakan jangka sorong (Suswati dan Mufida, 2009).

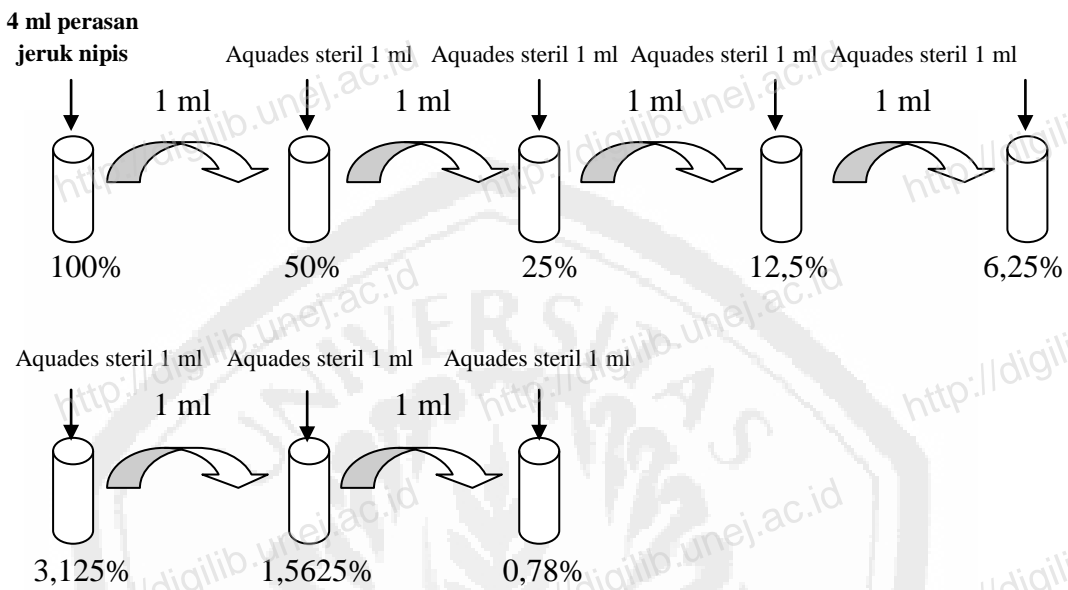
### 3.10 Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis regresi linier. Analisis regresi merupakan salah satu analisis yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suatu variabel terhadap variabel lain (Santoso, 2008). Kemudian dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas Levene untuk mengetahui distribusi homogenitas data. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney* untuk melihat adanya perbedaan atau tidak pada masing-masing perlakuan terhadap perlakuan yang lain maupun terhadap kontrol yang ada.

### 3.11 Alur Penelitian

#### 3.11.1 Pengenceran Perasan Jeruk Nipis

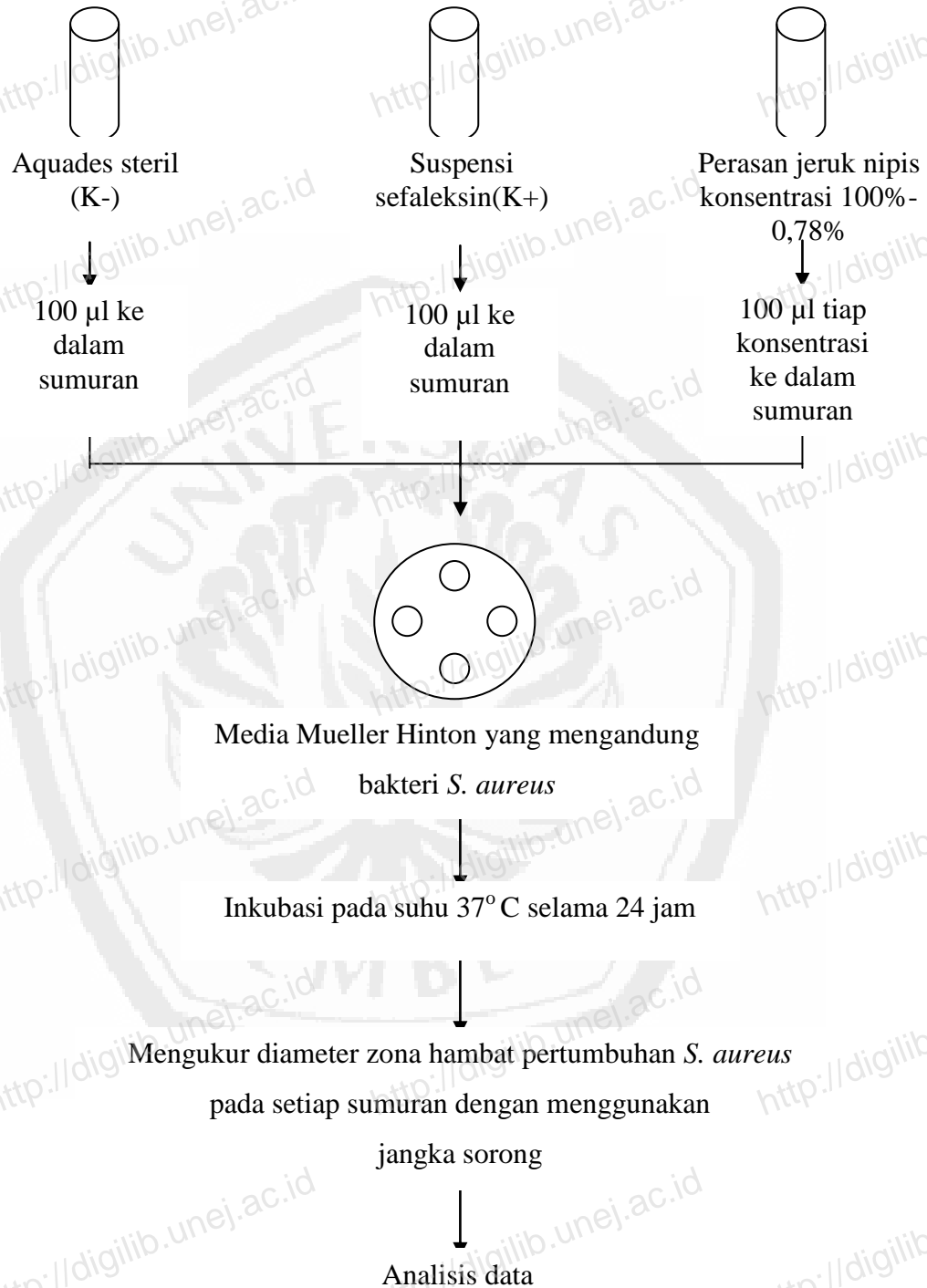
Pengenceran perasan jeruk nipis pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema pengenceran ekstrak

### 3.11.2 Alur penelitian dengan metode difusi

Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Skema alur penelitian

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. aureus* dalam media Mueller Hinton dengan menggunakan metode difusi sumuran ditunjukkan dengan adanya zona bening atau zona hambat di sekitar area sumuran. Diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong. Hasil penelitian dengan menggunakan konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100% didapatkan zona hambat seperti yang tercantum dalam Gambar 4.1 dan Tabel 4.1.



Keterangan:

1. Kontrol positif (sefaleksin)
2. Kontrol negatif (aquades steril)
3. Perasan jeruk nipis konsentrasi 0,78%
4. Perasan jeruk nipis konsentrasi 1,56%
5. Perasan jeruk nipis konsentrasi 3,12%
6. Perasan jeruk nipis konsentrasi 6,25%
7. Perasan jeruk nipis konsentrasi 12,5%
8. Perasan jeruk nipis konsentrasi 25%
9. Perasan jeruk nipis konsentrasi 50%
10. Perasan jeruk nipis konsentrasi 100%

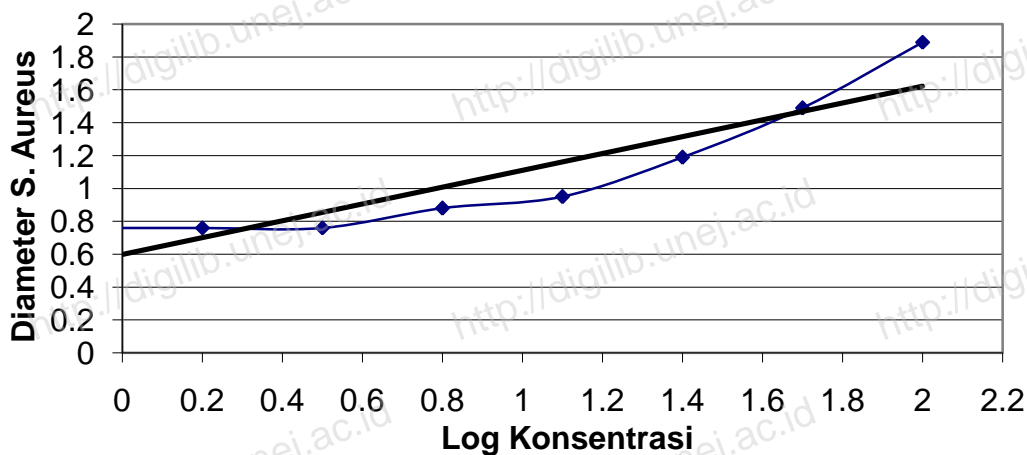
Gambar 4.1 Daya hambat terhadap pertumbuhan *S. aureus* ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumuran

Tabel 4.1 Hasil pengukuran zona hambat berbagai konsentrasi perasan jeruk terhadap pertumbuhan *S. aureus*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (cm)									
	K (-)	0,78 %	1,56 %	3,12 %	6,25 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %	K (+)
I	0,76	0,76	0,76	0,76	0,94	0,96	1,19	1,38	1,59	2,05*
II	0,76	0,76	0,76	0,76	0,78	0,89	1,04	1,77	2,12	2,05*
III	0,76	0,76	0,76	0,76	0,87	0,92	1,19	1,36	1,92	2,05*
IV	0,76	0,76	0,76	0,76	0,94	1,04	1,34	1,45	1,94	2,05*
Rata-rata	0,76	0,76	0,76	0,76	0,88	0,95	1,19	1,49	1,89	2,05*

0,76 : tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri (diameter sumuran dalam cm)  
 \* : Pengulangan hanya sekali  
 K (+) : Sefaleksin  
 K (-) : aquades steril

#### Pengaruh Konsentrasi terhadap Diameter *S. Aureus*



Gambar 4.2 Grafik rata-rata hubungan antara konsentrasi perasan jeruk nipis dengan daya penghambatan pertumbuhan *S. aureus*.

Berdasarkan tabel 4.1 dan gambar 4.2, diketahui bahwa zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 6,25% hingga konsentrasi 100%. Semakin meningkat konsentrasi perasan jeruk nipis zona hambat yang dihasilkan juga semakin lebar. Hal ini menunjukkan bahwa perasan jeruk nipis mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Pada konsentrasi 0,78-3,12% tidak ada aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat.



Oleh karena itu, KHM (Kadar Hambat Minimal) perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara kualitatif adalah pada konsentrasi 6,25%.

#### 4.2 Analisis Data

Data yang diperoleh sebelum dilakukan uji regresi, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Dari uji *Kolmogorov-Smirnov* (Lampiran A) didapatkan nilai  $p = 0,032$  dari data keseluruhan. Dengan nilai  $p < \alpha$  dimana  $\alpha = 0,05$  maka dapat dikatakan bahwa data tersebut tidak terdistribusi normal. Sedangkan dari hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* dari masing-masing konsentrasi tidak dapat dilakukan karena variable yang terlibat tidak memenuhi syarat jumlah uji normalitas.

Selanjutnya data diuji dengan uji regresi linier (Lampiran B). Dari uji regresi linier didapatkan nilai  $sig. = 0,002$ . Oleh karena nilai  $sig.$  kurang dari 0,05, maka dapat dikatakan nilai tersebut signifikan. Signifikan berarti ada pengaruh antara variabel bebas (perasan jeruk nipis) terhadap variabel terikat (diameter zona hambat pertumbuhan *S. aureus*).

Bentuk umum garis regresi dinyatakan dengan  $Y = a + bX$ . Y adalah variabel terikat dan X adalah variabel bebas. Berdasarkan uji regresi (Lampiran B), didapatkan nilai a dan b sebesar 0,598 dan 0,513 sehingga persamaan garis regresi menjadi:

$$Y = 0,598 + 0,513X$$

Untuk menentukan KHM secara kuantitatif (Lampiran C) dapat dimasukkan nilai  $Y = 0,76$  sehingga didapat nilai  $X = 0,3158$ . Nilai X sebesar 0,3158 harus di-antilog terlebih dahulu karena data konsentrasi (X) yang dimasukkan ke dalam SPSS dalam bentuk logaritma dan didapatkan hasil 2,069%. Artinya pada konsentrasi 2,069% perasan jeruk nipis belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak didapatkan zona hambat dan baru akan terbentuk zona hambat apabila konsentrasi yang digunakan di atas 2,069%.

Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan menggunakan Uji Levene untuk mengetahui data tersebut memiliki varians data

yang homogen atau tidak. Hasil dari Uji Levene (Lampiran D) didapatkan nilai *significancy* sebesar 0,004. Dengan nilai  $p < 0,05$  berarti varians data tidak homogen. Hal ini menunjukkan syarat untuk menggunakan analisis varians satu arah (*One Way ANOVA*) tidak terpenuhi karena syarat untuk melakukan analisis dengan *One Way ANOVA* adalah data memiliki distribusi normal dan varians data homogen. Karena syarat untuk menggunakan analisis varians satu arah (*One Way ANOVA*) tidak terpenuhi maka dilakukan alternatif analisis lainnya yaitu uji nonparametrik dengan menggunakan Uji *Kruskal-Wallis* (Petrie dan Sabin, 2000).

Uji *Kruskal-Wallis* merupakan uji nonparametrik yang merupakan alternatif dari uji parametrik *One Way ANOVA*. Uji ini digunakan untuk membandingkan lebih dari dua variabel yang tidak berpasangan (Dahlan, 2009). Dari perhitungan Uji *Kruskal-Wallis* (Lampiran E) didapatkan *significancy* sebesar 0,000. Dengan nilai  $p < 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa varians zona hambat yang terbentuk pada media Mueller Hinton setelah kontak dengan perasan jeruk nipis dengan delapan konsentrasi yang berbeda memiliki perbedaan bermakna.

*Significancy* yang diperoleh pada Uji *Kruskal-Wallis* adalah kurang dari 0,05 sehingga perlu dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dan tidak. Ketika *significancy* yang diperoleh kurang dari 0,05 maka dapat disimpulkan data tersebut memiliki perbedaan yang bermakna. Namun ketika *significancy* yang diperoleh lebih dari 0,05 maka dapat disimpulkan data tersebut tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Berdasarkan data hasil Uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney* (Lampiran F) dapat dilihat adanya perbedaan atau tidak pada masing-masing konsentrasi terhadap konsentrasi yang lain maupun terhadap kontrol yang ada.

#### 4.3 Pembahasan

Perasan jeruk nipis diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri Gram positif yaitu *S. aureus*. Bakteri ini dipilih karena merupakan patogen utama pada manusia dan merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi yang paling

sering ditemukan. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode difusi cara sumuran. Metode difusi cara sumuran adalah yang sering digunakan karena pelaksanaannya mudah, praktis, tidak mahal, dan pengukurannya tidak sulit. Metode ini juga merupakan metode yang paling sensitif di antara metode difusi lainnya (Jagessar *et al.*, 2008) dan paling baik jika digunakan untuk *screening* aktivitas antibakteri (Saeed & Tariq, 2005).

Bukti bahwa air perasan jeruk nipis memiliki daya antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening atau zona hambat (*radical zone*) di sekitar sumuran. Zona hambat ini kemudian diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong untuk mengetahui seberapa besar daya antibakterinya. Konsentrasi air perasan jeruk nipis yang digunakan untuk daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus* adalah 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%.

Kemampuan perasan jeruk nipis sebagai antibakteri telah terbukti pada berbagai penelitian. Dari penelitian yang dilakukan oleh Taiwo *et al.* (2007) telah membuktikan bahwa jeruk nipis mempunyai efek antibakteri terhadap *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Klebseilla sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.* dan *Salmonella sp.* Menurut penelitian lain yang dilakukan oleh Jayana *et al.* (2010), perasan jeruk nipis dapat digunakan sebagai terapi obat untuk anti-inflamasi, anti-reumatik, anti-scorbutic, anti-koagulan, anti-spasmodik, dan anti-infeksi. Buah jeruk nipis mengandung asam sitrat 7-7,6% sebagai komponen utamanya, selain itu terkandung juga vitamin C, minyak atsiri (limonena, lemon kamfer, fellandrena, flavonoid, geranil asetat, kadinena, lianin asetat), damar, mineral vitamin B1, kalsium, dan fosfor (Rukmana Rahmat, 1996). Salah satu substansi penyusun minyak atsiri yang diduga mempunyai pengaruh paling besar sebagai penghambat pertumbuhan bakteri adalah senyawa flavonoid (Sudarto, dalam aryati *et al.*, 2006).

Flavonoid mempunyai beragam sifat biologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, dan antikanker (Fernandez *et al.*, 2006). Mekanisme antibakteri senyawa flavonoid diduga dengan mendenaturasi protein

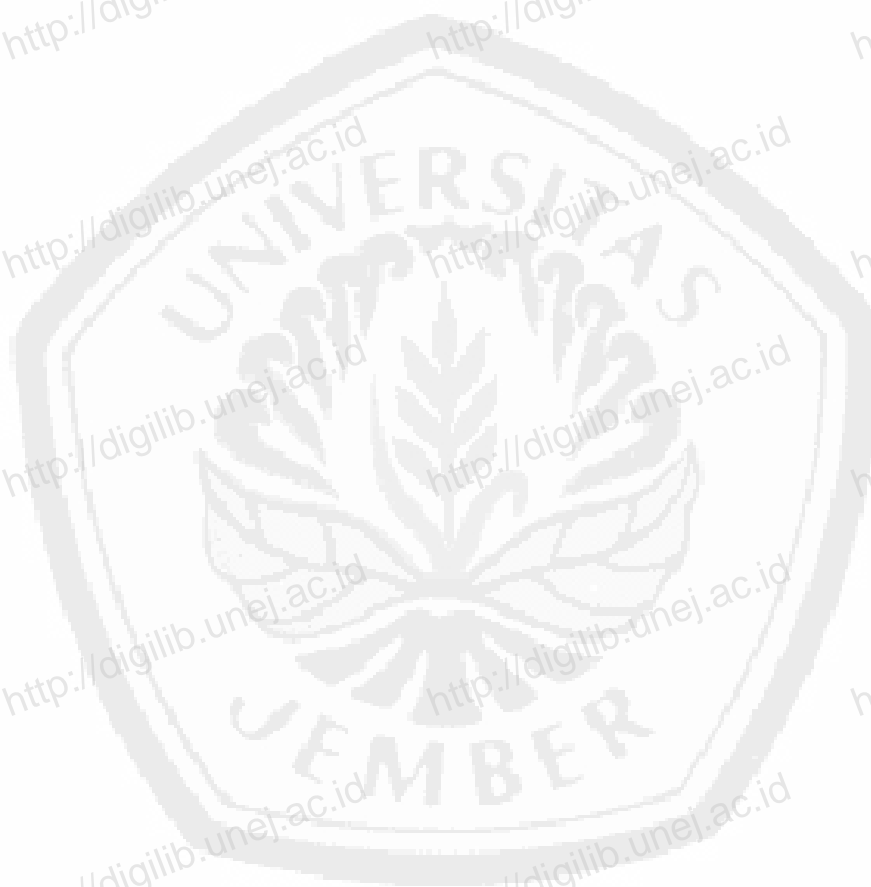
sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelezar dan Chan, 1998 dalam Riza, 2010).

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa zona hambat pada *S. aureus*, mulai terbentuk pada konsentrasi 6,25% sampai dengan 100%. Kontrol negatif dengan aquades steril tidak didapatkan zona hambatan sedangkan kontrol positif dengan sefaleksin didapatkan diameter zona hambat sebesar 2,05 mm. Dari tabel ini, disimpulkan bahwa air perasan jeruk nipis mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus*. Semakin tinggi konsentrasi air perasan jeruk nipis maka semakin besar daya antibakterinya dan semakin besar pula diameter zona hambatnya.

Pembuatan konsentrasi perasan jeruk nipis dimulai dengan perasan murni dari jeruk nipis dan selanjutnya di tambahkan dengan aquades steril. Aquades steril digunakan saat melakukan pengenceran bertingkat dan sebagai kontrol negatif. Aquades steril dipilih karena tidak toksik dan tidak bersifat bakterisid. Kontrol positif menggunakan serbuk sefaleksin yang dicampur dengan aquades steril. Pemilihan obat ini didasarkan karena *first choice* dalam penatalaksanaan infeksi *S. aureus* adalah penicillin dan sefalosporin generasi pertama. Sefaleksin merupakan golongan antibiotik sefalosporin generasi pertama. Penelitian yang dilakukan Refdanita *et al* (2004), *S. aureus* memiliki kepekaan yang tinggi terhadap sefaleksin, dibekasin, gentamisin, netilmisin, tobramisin, sefotiam, sefotaksim, seftizoksim, tetrasiklin, kotrimoksazol, dan fosmisin. Resistensi tertinggi berturut-turut diberikan untuk ampisilin, amoksisilin-asam klavulanat, amoksisilin, penisilin G, sulbenisilin, kloramfenikol, dan siprofloksasin.

Secara *in vitro*, sefalosporin generasi pertama memperlihatkan spektrum antimikroba yang terutama aktif terhadap kuman Gram-positif (Setiabudy, 2007). Mekanisme kerja antimikroba sefaleksin ialah menghambat sintesis dinding sel mikroba. Yang dihambat ialah reaksi transpeptidase tahap ketiga dalam rangkaian reaksi pembentukan dinding sel (Setiabudy, 2007). Sefaleksin yang dijadikan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini memiliki KHM sebesar 4 µg/ml (0,004 mg/ml). Sedangkan KHM air perasan jeruk nipis adalah > 6,25%, hal ini menunjukkan bahwa perasan jeruk nipis memiliki daya antibakteri yang lebih

lemah jika dibandingkan dengan sefaleksin sebagai antibiotik pilihan pertama terhadap infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus*. Daya antibakteri yang lemah dari air perasan jeruk nipis dapat diakibatkan oleh beberapa hal seperti rendahnya jumlah kandungan bahan antibakteri dari perasan jeruk nipis dan hambatan oleh mekanisme resistensi *S. aureus* terhadap bahan antibakteri.



## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

1. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) mempunyai potensi aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus*.
2. KHM perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) secara kualitatif adalah pada konsentrasi 6,25% dan secara kuantitatif pada konsentrasi lebih dari 2,069%.

### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan uji lanjutan seperti uji secara in vivo, uji toksisitas, dan uji klinis agar perasan jeruk nipis dapat dimanfaatkan secara maksimal.
2. Perlu dilakukan penelitian terhadap akar dan batang sehingga diketahui potensi tumbuhan jeruk nipis sebagai antibakteri.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tidak hanya terhadap bakteri gram positif, tetapi juga bakteri gram negatif, jamur, atau bahkan parasit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J., Mehlhorn, A., MacGregor, V. 2007. Community-Associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. What's in Your Neighborhood? Jobson Medical Information LLC. *US Pharm*, 32(8):HS3-HS12.
- Brooks, G. F., Janet, S. B., & Stephen, A. M. 2007. *Jawet, Melnick & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*, Alih Bahasa oleh Nugroho, Edi., dan Maulany, R. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Profil Kesehatan Indonesia 2005*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ganiswara, S. G. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gattuso, Barreca, Gargiulli, Leuzzi, & Caristi. 2007. Flavonoid Composition of *Citrus Juices*. *Molecules*. Vol. 12(1): 1641-1673.
- Gosh, M.N. 1997. *Fundamental of Experimental pharmacology*. Calcuta: Scientific Bool Agency.
- Jagessar, R. C., Mohamed, A., dan Gomes, G. 2008. An Evaluation of the Antibacterial and Antifungal Activity of Leaf Extracts of *Momordica charantia* Against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nature and Science*. ISSN 1545-0740. Vol. 6(1): 1-14.
- Jayana, Prasai, Singh, dan Yami. 2010. Study of Antimicrobial of Lime Juice Against *Vibrio Cholerae*. *Scientific World*. Vol. 8(8): 44-46.
- Hanafiah, K. A. 2005. *Rancangan Percobaan Aplikatif: Aplikasi Kondisional Bidang Pertanian, Peternakan, Perikanan, Industri dan Hayati*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Katzung, G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi keenam. Jakarta: EGC.
- Kowalski, T.J., Berbari, E.F., Osmon D.R. 2005. Epidemiology, Treatment, and Prevention of Community-Acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *Mayo Clin Proc*, 80(9):1201-1208.

Mufida, D. C., Suswati, E., dan Shodikin, A. M. 2006. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Program Studi Ilmu Keperawatan*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Jember.

Praktiknya, A.W. 2008. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.

Saeed, S & Tariq, P. 2005. Antibacterial Activities of *Mentha piperita*, *Pisum sativum*, and *Momordica charantia*. Pak. J. Bot. Vol. 3 37 (4): 997-1001.

Saifudin, *et al.* 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Santoso, S. 2008. *Analisis Regresi dan Korelasi (Materi VIII : Analisis Regresi dan Korelasi Sederhana)*. <http://ssantoso.blogspot.com/2008/08/analisis-regresi-dan-korelasi-materi.html>. [07 Januari 2012].

Sarwono, B. 2001. *Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Setiabudy, Rianto. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Shodikin, M. A., Suswati, E., Mufida, D. C. 2006. *Diktat Mikrobiologi: Bakteri Staphylococcus*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Suswati, E., dan Mufida, D., 2009. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Suswati, E., Mufida, D. C., dan Shodikin, A. M. 2009. *Diktat Mikrobiologi Bakteri Enterobacter*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tolan, R.W. 2010. *Staphylococcus aureus Infection* [article online]. <http://emedicine.medscape.com/article/971358-overview>. [6 Mei 2011].

Warsa, U. C. 1993. *Kokus Gram Positif. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara.

WHO. 2008. *Traditional Medicine*. Geneva: WHO Document Production Services.



Lampiran A. Uji Normalitas *Kolmogorov Smirnov***NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Pertumbuhan
N		40
Normal Parameters <sup>ab</sup>	Mean	1.1497
	Std. Deviation	.48358
Most Extreme Differences	Absolute	.228
	Positive	.228
	Negative	-.210
Kolmogorov-Smirnov Z		1.440
Asymp. Sig. (2-tailed)		.032

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.



## Lampiran B. Uji Regresi Linier

**Regression****Variables Entered/Removed<sup>a</sup>**

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Log Konsentrasi	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Diameter

**Model Summary<sup>b</sup>**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.910 <sup>a</sup>	.828	.799	.18556

a. Predictors: (Constant), Log Konsentrasi

b. Dependent Variable: Diameter

**ANOVA<sup>b</sup>**

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.994	1	.994	28.857	.002 <sup>a</sup>
	Residual	.207	6	.034		
	Total	1.200	7			

a. Predictors: (Constant), Log Konsentrasi

b. Dependent Variable: Diameter

**Coefficients<sup>b</sup>**

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.598	.112		5.343	.002
	Log Konsentrasi	.513	.095	.910	5.372	.002

a. Dependent Variable: Diameter

**Residuals Statistics<sup>a</sup>**

	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	N
Predicted Value	.5467	1.6233	1.0850	.37675	8
Residual	-.2119	.2667	.0000	.17179	8
Std. Predicted Value	-1.429	1.429	.000	1.000	8
Std. Residual	-1.142	1.437	.000	.926	8

a. Dependent Variable: Diameter



### Lampiran C. Persamaan Garis Regresi dan KHM Secara Kuantitatif

Persamaan garis regresi

$$Y = a + bX$$

Dari hasil uji regresi (tabel Coefficients) didapat nilai  $a = 0,598$  dan  $b = 0,513$ , sehingga persamaannya menjadi:

$$Y = 0,598 + 0,513X$$

$Y$  = diameter zona hambat (variabel terikat)

$X$  = adalah konsentrasi ekstrak (variabel bebas)

Untuk penentuan KHM secara kuantitatif, dimasukkan nilai  $Y = 0,76$  (diameter sumuran).

$$Y = 0,598 + 0,513X$$

$$0,76 = 0,598 + 0,513X$$

$$0,162 = 0,513X$$

$$X = 0,3158$$

$$\text{Anti log } X = 2,069$$

Karena nilai  $X$  merupakan log konsentrasi ekstrak, maka untuk mendapatkan nilai konsentrasi sebenarnya  $X$  harus di-antilog, sehingga didapatkan hasil 2,069 %. Hal ini berarti pada konsentrasi 2,069% perasan jeruk nipis belum dapat menimbulkan hambatan pada pertumbuhan bakteri. Perasan jeruk nipis baru menunjukkan zona hambat pada konsentrasi di atas 2,069%.

Lampiran D. Uji homogenitas *levene***Test of Homogeneity of Variances**

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.629	9	30	.004



Lampiran E. Uji *Kruskal Wallis***NPar Tests****Kruskal-Wallis Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank
Diameter	K (-)	4	8.50
	0,78%	4	8.50
	1,56%	4	8.50
	3,12%	4	8.50
	6,25%	4	19.50
	12,5%	4	21.63
	25%	4	26.38
	50%	4	30.75
	100%	4	35.25
	K (+)	4	37.50
	Total	40	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Diameter
Chi-Square	38.328
df	9
Asymp. Sig.	.000

- a. Kruskal Wallis Test
- b. Grouping Variable: Perlakuan

Lampiran F. Uji *post Hoc multiple comparison* dengan metode *Mann Whitney*

### NPar Tests

#### Mann-Whitney Test

##### Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	4.50	18.00
	0,78%	4	4.50	18.00
	Total	8		

##### Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

### NPar Tests

#### Mann-Whitney Test

##### Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	4.50	18.00
	1,56%	4	4.50	18.00
	Total	8		

##### Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	4.50	18.00
	3,12%	4	4.50	18.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	2.50	10.00
	6,25%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan



**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	2.50	10.00
	12,5%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	2.50	10.00
	25%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	2.50	10.00
	50%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	2.50	10.00
	100%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	K (-)	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	0,78%	4	4.50	18.00
	1,56%	4	4.50	18.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	0,78%	4	4.50	18.00
	3,12%	4	4.50	18.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	0,78%	4	2.50	10.00
	6,25%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	0,78%	4	2.50	10.00
	12,5%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	0,78%	4	2.50	10.00
	25%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	0,78%	4	2.50	10.00
	50%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	0,78%	4	2.50	10.00
	100%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	0,78%	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	1,56%	4	4.50	18.00
	3,12%	4	4.50	18.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	1,56%	4	2.50	10.00
	6,25%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	1,56%	4	2.50	10.00
	12,5%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan



**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	1,56%	4	2.50	10.00
	25%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	1,56%	4	2.50	10.00
	50%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	1,56%	4	2.50	10.00
	100%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	1,56%	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	3,12%	4	2.50	10.00
	6,25%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	3,12%	4	2.50	10.00
	12,5%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	3,12%	4	2.50	10.00
	25%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	3,12%	4	2.50	10.00
	50%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	3,12%	4	2.50	10.00
	100%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	3,12%	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	6,25%	4	3.50	14.00
	12,5%	4	5.50	22.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.162
Asymp. Sig. (2-tailed)	.245
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	6,25%	4	2.50	10.00
	25%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	6,25%	4	2.50	10.00
	50%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	6,25%	4	2.50	10.00
	100%	4	6.50	26.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	6,25%	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	12,5%	4	2.63	10.50
	25%	4	6.38	25.50
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.191
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan



**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	12,5%	4	2.50	10.00
	50%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	12,5%	4	2.50	10.00
	100%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	12,5%	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	25%	4	2.50	10.00
	50%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	25%	4	2.50	10.00
	100%	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	25%	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	50%	4	2.75	11.00
	100%	4	6.25	25.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.021
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	50%	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter	100%	4	3.50	14.00
	K (+)	4	5.50	22.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.230
Asymp. Sig. (2-tailed)	.219
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan



Tabel Rangkuman hasil uji *post Hoc multiple comparrison* dengan metode *Mann Whitney*

% V/v	K (-)	K (+)	100	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78
K (-)	-	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Tdk ada perbedaan
K (+)	Berbeda	-	Tdk ada perbedaan	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda
100	Berbeda	Tdk ada perbedaan	-	Tdk ada perbedaan	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda
50	Berbeda	Berbeda	Tdk ada perbedaan	-	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda
25	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	-	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda
12,5	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	-	Tdk ada perbedaan	Berbeda	Tdk ada perbedaan	Berbeda
6,25	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Tdk ada perbedaan	-	Berbeda	Berbeda	Berbeda
3,12	Tdk ada perbedaan	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	-	Tdk ada perbedaan	Tdk ada perbedaan
1,56	Tdk ada perbedaan	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Tdk ada perbedaan	Berbeda	Tdk ada perbedaan	-	Tdk ada perbedaan
0,78	Tdk ada perbedaan	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Berbeda	Tdk ada perbedaan	Tdk ada perbedaan	-

## Lampiran G. pH tiap perlakuan

<b>Konsentrasi perasan jeruk nipis</b>	<b>pH</b>
100%	2,53
50%	2,58
25%	2,64
12,5%	2,73
6,25%	2,89
3,12%	3,14
1,56%	3,25
0,78%	3,33