



INTISARI SAINS MEDIS

Published by Intisari Sains Medis

Uji daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



CrossMark

I Gede Krisna Arim Sadeva^{1*}, Ni Nyoman Sri Budayanti²,
Made Agus Hendrayana², I Dewa Made Sukrama²

ABSTRACT

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is a gram-negative bacterium that is commonly associated with Healthcare-Associated infections (HAI), particularly Multidrug-resistance (MDR) *P. aeruginosa*. The polyphenolic compounds found in the peel of pomelo (*C. maxima*) are reported to have shown an effective antimicrobial effect. Therefore, this study aimed to investigate the inhibitory effect of *C. maxima* peel essential oil on the growth of *P. aeruginosa* bacteria.

Methods: This *in vitro* study evaluates the inhibitory effect of *C. maxima* peel essential oil against clinical isolate strains (SP47) and MDR *P. aeruginosa* by measuring the diameter of the inhibition zone (mm). Five series of essential oil concentrations (20%, 40%, 60%, 80%, and 100%) and the control group were used in the paper disk diffusion test with three repetitions (triplet). All data were statistically analyzed using SPSS

ver. 20.

Results: A total of 4.85 mL of essential oil from 7.2 kg of *C. maxima* fruit peel was obtained. Inhibition zones were observed in clinical isolates of *P. aeruginosa* by concentrations of 60%, 80%, 100%, and K+ with means of 6.27±0.08 mm; 6.71±0.19 mm; 9.08±0.29 mm; and 40.8±0.48 mm, respectively. In MDR *P. aeruginosa*, the inhibition zone by concentrations of 80%, 100%, and K+ with means of 6.45±0.13 mm; 7.15±0.13 mm; and 9.08±0.34 mm, respectively. There was a significant difference in the mean diameter within groups ($p < 0.05$).

Conclusion: *C. maxima* fruit peel essential oil was able to inhibit the growth of *P. aeruginosa* bacteria, both clinical and MDR isolates. There were differences in inhibition between the concentration series.

Keywords: antimicrobial, citrus maxima, essential oil, multidrug-resistant.

Cite This Article: Sadeva, I.G.K.A., Budayanti, N.N.S., Hendrayana, M.A., Sukrama, I.D.M. 2023. Uji daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Intisari Sains Medis* 14(1): 124-130. DOI: 10.15562/ism.v14i1.1557

ABSTRAK

Latar belakang: *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negatif yang terkait dengan *Healthcare Associated Infection* (HAI), khususnya *Multidrug Resistance* (MDR) *P. aeruginosa*. Adapun senyawa polifenol yang ditemukan dalam kulit buah jeruk bali (*C. maxima*) dilaporkan telah menunjukkan efek antimikrobal yang efektif. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri kulit buah *C. maxima* terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*.

Metode: Penelitian ini merupakan studi *in vitro* yang mengevaluasi daya hambat minyak atsiri kulit buah *C. maxima* terhadap strain isolat klinis (SP47) dan MDR *P. aeruginosa* melalui pengukuran diameter zona hambat (mm). Sebanyak lima seri konsentrasi minyak atsiri (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%) dan kelompok kontrol digunakan dalam uji *paper disk diffusion* dengan pengulangan sebanyak tiga kali (triplet)

Seluruh data dianalisis secara statistik menggunakan SPSS ver. 20.

Hasil: Sebanyak 4,85 mL minyak atsiri dari 7,2 kg kulit buah *C. maxima* diperoleh dengan metode destilasi uap. Zona hambat teramati pada isolat klinis *P. aeruginosa* oleh konsentrasi 60%, 80%, 100%, dan K+ dengan rerata sebesar 6,27±0,08 mm; 6,71±0,19 mm; 9,08±0,29 mm; dan 40,8±0,48 mm berturut-turut. Zona hambat juga teramati pada isolat MDR *P. aeruginosa* oleh konsentrasi 80%, 100%, dan K+ dengan rerata sebesar 6,45±0,13 mm; 7,15±0,13 mm; dan 9,08±0,34 mm berturut-turut. Terdapat perbedaan rerata diameter yang signifikan antar kelompok uji ($p < 0,05$).

Simpulan: Minyak atsiri kulit buah *C. maxima* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* baik isolat klinis maupun MDR. Adapun terdapat perbedaan daya hambat antar seri konsentrasi.

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia;

²Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia;

*Korespondensi:

I Gede Krisna Arim Sadeva;
Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia;
krisnaarimsadeva@gmail.com

Diterima: 15-11-2022
Disetujui: 03-01-2023
Diterbitkan: 31-01-2023

Kata kunci: antimikroba, citrus maxima, minyak atsiri, multidrug resistant.

Sitasi Artikel ini: Sadeva, I.G.K.A., Budayanti, N.N.S., Hendrayana, M.A., Sukrama, I.D.M. 2023. Uji daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Intisari Sains Medis* 14(1): 124-130. DOI: 10.15562/ism.v14i1.1557

PENDAHULUAN

Healthcare Associated Infection (HAI) atau *Nosocomial Infection* (NI) merupakan golongan penyakit infeksi dengan jalur penyebaran penyakit terjadi di lingkungan rumah sakit atau instalasi kesehatan dalam kurun waktu 48 jam setelah menerima terapi pengobatan atau 30 hari setelah dilakukan operasi.¹ Kasus HAI memiliki prevalensi rata-rata sebesar 7,1% dengan jumlah penderita mencapai lebih dari empat juta orang pada tahun 2016 di negara-negara Eropa.² Bahkan, prevalensi kasus terkait HAI di Indonesia mencapai sebesar 3,8%.³ Sebagian besar kasus HAI menyerang kelompok masyarakat dengan kondisi immunosupresi, seperti golongan pasien ICU. Hal ini menyebabkan angka mortalitas HAI yang tinggi. *P. aeruginosa* adalah bakteri gram negatif sekaligus patogen oportunistik dengan kemampuan adaptasi yang tinggi. Sayangnya, penyalahgunaan agen antibakteri serupa antibiotik yang kian memburuk menimbulkan permasalahan baru, yakni terbentuknya galur bakteri yang bersifat resisten terhadap senyawa-senyawa tersebut akibat dari adanya mutasi acak pada genom DNA bakteri, yang disebut sebagai *Multidrug-Resistant Bacteria* (MDR) *P. aeruginosa*. Penelitian sebelumnya juga telah melaporkan bahwa bakteri MDR pada dr. RS Pusat Soeradji Tirtonegoro, Jawa Tengah didominasi oleh strain *Pseudomonas sp.* (26,9%).⁴

P. aeruginosa mampu membentuk resistensi terhadap sebagian besar golongan antibiotik melalui pembentukan struktur organik kompleks serupa *biofilm* dan eksopolisakarida (EPS).⁵ Sifat proteksi dari adanya *biofilm* menyebabkan *P. aeruginosa* mampu menghindari dari respon imun dan menciptakan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri sehingga bakteri dapat bertahan terhadap paparan sinar UV, perubahan pH, perubahan suhu, dan pengaruh disinfektan.⁶ Pembentukan

biofilm melibatkan mekanisme *quorum sensing* (QS), yakni kemampuan bakteri dalam berkomunikasi dengan bakteri lain melalui transduksi sinyal menggunakan molekul bernama *autoinducer*.⁷ Sebagian besar golongan antibiotik yang digunakan sebagai terapi saat ini, seperti antibiotik golongan β -lactam, tidak menargetkan aktivitas QS ataupun *biofilm*.⁸

Berbagai senyawa telah diketahui memiliki kemampuan antibakteri terhadap *P. aeruginosa* khususnya metabolit sekunder bahan alam. Salah satunya adalah golongan polifenol, yaitu flavonoid, tanin, dan limonoid.⁹ Ketiga senyawa tersebut ditemukan pada jeruk bali (*Citrus maxima*), disebut juga pomelo (*pomello*). Dibandingkan jenis tanaman lain seperti buah lemon (*Citrus limon*), buah jeruk bali khususnya pada bagian kulit buah memiliki kadar senyawa polifenol sangat tinggi sebesar 4,96% dibandingkan sebesar 0,69% pada kulit buah lemon. Selain itu, sebesar 23% dari kandungan polifenol pada buah jeruk bali merupakan senyawa tanin. Terlebih lagi, sebagai kelompok tanaman jeruk, buah jeruk bali memiliki kandungan limonoid paling tinggi dibandingkan dengan buah-buahan lain. Buah jeruk bali (*Citrus maxima*) telah dilaporkan memiliki efek antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 22 – 30 mm.^{10,11} Selain itu, minyak atsiri buah jeruk bali yang memiliki kandungan relatif *limonene* (senyawa turunan limonoid) sebesar 95,7% juga dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. iniae* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 21,5 ± 0,2 mm.¹² Tanaman ini tersebar di seluruh Indonesia dengan provinsi Bali menyumbang sekitar 69,39% dari total produksi tahunan nasional.¹³

Dengan angka produksi yang tinggi, limbah hasil produksi seperti kulit buah tersebut dapat ditemukan dengan mudah.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat oleh minyak atsiri kulit jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* baik strain isolat klinis dan MDR.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap *P. aeruginosa* dengan uji *paper disk diffusion* atau *Kirby bauer* secara *in vitro* dengan menggunakan desain *true experimental post test only with control group*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Terpadu dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana di Jalan PB Sudirman, Denpasar, Bali serta Laboratorium MIPA Udayana di Jalan Bukit Jimbaran, Badung, Bali dengan mengikuti seluruh protokol kesehatan pada masa pandemi COVID-19 dan limbah biologis akan diproses sesuai dengan protokol keamanan, meliputi pembuatan minyak atsiri dan aktivitas antibakteri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) selama bulan Januari hingga Oktober 2022.

Sampel penelitian yang digunakan adalah bakteri *P. aeruginosa* dengan jenis strain *multidrug-resistant* (MDR) dan isolat klinis. Sampel penelitian dibuat medium kultur dalam ukuran *petri disk* atau cawan petri sehingga membentuk koloni bakteri yang siap digunakan untuk pemeriksaan. Kultur bakteri disimpan dalam inkubator dengan suhu 37°C. Adapun penelitian ini terdapat 7 kelompok yang terdiri atas kontrol negatif (-), kontrol (+), konsentrasi minyak atsiri 20% (P1), 40% (P2), 60% (P3), 80% (P4), dan 100% (P5). Seluruh pengujian pada tiap kelompok dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali (triplet). Adapun tahapan prosedur penelitian sebagai berikut.

Pembuatan Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali

Isolasi minyak atsiri dari kulit buah jeruk bali menggunakan metode destilasi uap berkecepatan 2 liter/jam. Nilai laju destilasi tersebut sebanding dengan laju kalor yang diterima oleh sistem dan setara dengan jumlah destilat yang terkondensasi selama satu jam, yakni 2 liter akuades. Persiapan dilakukan menggunakan sebanyak 2 kg kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) segar yang di potong hingga homogen dengan diameter 2x2 cm untuk setiap tahapan destilasi yang kemudian dimasukkan ke dalam wadah berisi akuades sehingga menghasilkan campuran minyak dengan air (akuades). Destilat yang berisi campuran minyak dengan akuades akan dipisahkan dari sisa dan residu destilasi melalui corong pisah ukuran 80 mesh. Kemudian, NaCl dicampurkan pada destilat untuk memisahkan minyak yang teremulsi lalu ditambahkan CaCl_2 untuk mengikat akuades sehingga didapatkan minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) murni.

Persiapan Sampel Bakteri *P. aeruginosa*

Media agar dibuat dengan cara menuangkan medium *Mueller Hinton* (MH) agar steril dengan suhu 50°C ke dalam cawan petri. Selanjutnya, suspensi bakteri uji, yakni MDR dan isolat klinis *P. aeruginosa* yang kekeruhannya setara dengan larutan 0,5 *Mc Farland I* ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) sebanyak 100 μL secara aseptis diaplikasikan ke media menggunakan kapas steril. Kemudian, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator.¹⁴

Uji Daya Hambat

Pengujian daya hambat minyak atsiri terhadap bakteri uji dilakukan berdasarkan metode *Kirby Bauer diffusion* (*paper disk diffusion*). Sediaan minyak atsiri diencerkan menjadi 5 jenis seri konsentrasi, yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan jumlah total larutan sebanyak 1 mL. Selanjutnya, masing-masing konsentrasi ekstrak sebanyak 0,02 mL diteteskan ke dalam *paper disk* yang telah diletakkan pada cawan petri dengan sediaan bakteri yang telah disiapkan sebelumnya dengan pengulangan pada

tiap konsentrasi dilakukan sebanyak 5 kali. Kontrol positif dibuat dengan penambahan sediaan antibiotik *ceftriaxone* 0,05 mg dikarenakan sediaan antibiotik tersebut yang dilaporkan masih sensitif terhadap strain MDR. Kontrol negatif hanya diisi dengan pelarut air berupa akuades. Kemudian, *paper disk* diletakkan pada media kultur serta inkubasi selama 24 jam pada inkubator. Area bening atau transparan tanpa tanda pertumbuhan bakteri merupakan tanda dari sensitivitas bakteri terhadap zat antibakteri yang terdapat pada bahan uji. Diameter dari masing-masing area kelompok perlakuan dan kelompok kontrol diukur menggunakan kaliper dalam millimeter (mm) dengan melihat zona terluar dari cakram kertas. Selanjutnya, data hasil pengukuran akan dianalisis secara statistik.¹⁴

Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan melalui hasil pengamatan akan dilakukan pengolahan data secara visual dan kualitatif dengan menjabarkan hasil karakteristik data dalam bentuk tabel dan gambar. Uji normalitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji *Shapiro-wilk* dengan menggunakan *software* SPSS. Uji homogenitas varians menggunakan uji *Levene* menggunakan *software* SPSS. Selanjutnya, dilakukan uji beda rerata dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna. Namun, bila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, maka dapat dilakukan uji non parametrik, yaitu Uji *Kruskal Wallis*. Uji *Mann-Whitney* dapat dilakukan sebagai uji *Post Hoc* apabila uji *Kruskal Wallis* menunjukkan $p < 0,05$.

HASIL

Ekstraksi dan Penyulingan Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Sebanyak 4,85 mL minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) diperoleh dengan metode destilasi uap menggunakan material dasar berupa 7,2 kg kulit buah jeruk bali segar. Tanaman buah jeruk bali berasal dari kabupaten Buleleng, Bali, Indonesia.

Diameter Zona Hambat Bakteri *P. aeruginosa* oleh Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Berdasarkan uji daya hambat menggunakan metode *paper disk diffusion* (*Kirby bauer*), diperoleh adanya zona hambat pada kedua isolat bakteri. Pada isolat klinis *P. aeruginosa* (**Gambar 1**), terdapat zona hambat pada konsentrasi 60%, 80%, 100%, dan kontrol positif (K+). Sedangkan pada isolat MDR *P. aeruginosa* (**Gambar 1**), terdapat zona hambat pada konsentrasi 80%, 100%, dan kontrol positif (K+). Adapun kontrol negatif (K-) pada kedua kelompok tidak menunjukkan adanya zona hambat yang nampak.

Adapun diameter zona hambat tiap seri konsentrasi minyak atsiri pada tiap pengulangan isolat klinis *P. aeruginosa* dijabarkan pada **Tabel 1**.

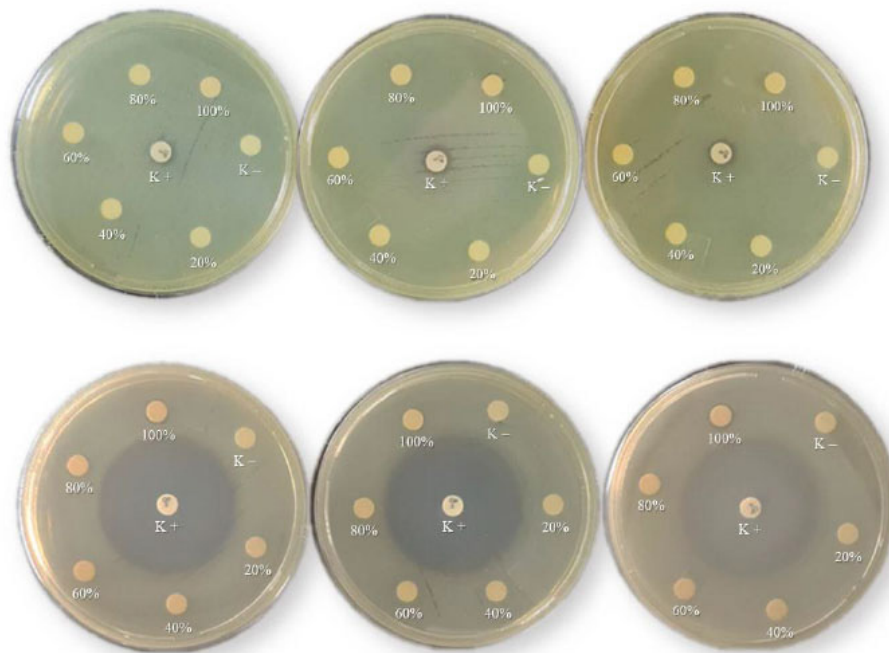
Adapun diameter zona hambat tiap seri konsentrasi minyak atsiri pada tiap pengulangan isolat klinis *P. aeruginosa* dijabarkan pada **Tabel 2**.

Uji Normalitas Data

Analisis bivariat dalam penelitian ini menggunakan analisis *independent sample T-test* dan analisis komparatif *One Way ANOVA*. Analisis komparatif *One Way ANOVA* digunakan untuk mengetahui perbedaan rerata diameter hambat antar kelompok. Sebelum melakukan uji bivariat terlebih dahulu dilakukan uji asumsi parametrik yakni uji normalitas dan uji homogenitas data. Namun, jika hasil uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal atau tidak homogen, maka dapat digunakan uji alternatif yaitu menggunakan uji *Mann-Whitney*. Adapun hasil uji normalitas data menunjukkan bahwa distribusi diameter zona hambat pada kelompok uji strain isolat klinis *P. aeruginosa* adalah normal ($p > 0,05$). Selain itu, distribusi diameter zona hambat pada kelompok uji strain MDR *P. aeruginosa* adalah normal ($p > 0,05$) yang dijabarkan pada **tabel 3**.

Uji Homogenitas

Hasil uji homogenitas varians data menggunakan *levene's test* terhadap diameter zona hambat pada strain MDR menunjukkan bahwa data homogen ($p = 0,115$) sehingga akan digunakan uji



Gambar 1. Kultur Isolat MDR (atas) dan Klinis (bawah) *P. aeruginosa*

Tabel 1. Diameter Zona Hambat pada Isolat MDR *P. aeruginosa*.

No.	Diameter Zona Hambat Tiap Kelompok (mm)						
	K-	20%	40%	60%	80%	100%	K+
1.	0,00	0,00	0,00	0,00	6,60	7,20	9,35
2.	0,00	0,00	0,00	0,00	6,40	7,25	9,20
3.	0,00	0,00	0,00	0,00	6,35	7,00	8,70

Tabel 2. Diameter Zona Hambat pada Isolat Klinis (SP47) *P. aeruginosa*.

No.	Diameter Zona Hambat Tiap Kelompok (mm)						
	K-	20%	40%	60%	80%	100%	K+
1.	0,00	0,00	0,00	6,35	6,85	8,95	40,55
2.	0,00	0,00	0,00	6,25	6,80	9,40	40,50
3.	0,00	0,00	0,00	6,20	6,50	8,85	41,35

Tabel 3. Uji Shapiro-Wilk terhadap Diameter Zona Hambat.

No.	Kelompok	Nilai p
Strain SP47 (Isolat Klinis)		
1.	Seri konsentrasi 60%	0,637
2.	Seri konsentrasi 80%	0,253
3.	Seri konsentrasi 100%	0,328
4.	Kontrol positif	0,100
Strain MDR		
1.	Seri konsentrasi 80%	0,363
2.	Seri konsentrasi 100%	0,363
3.	Kontrol positif	0,424

One Way ANOVA dan dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc* LSD. Di sisi lain, hasil uji homogenitas varians data diameter zona hambat pada strain isolat klinis

menunjukkan bahwa data tidak homogen ($p=0,034$) sehingga akan digunakan uji *One Way* ANOVA dan dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc* Tamhane.

Perbedaan Rerata Daya Hambat *P. aeruginosa* antar Seri Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Berdasarkan uji *One Way* ANOVA untuk membandingkan nilai rerata antara variabel seri konsentrasi minyak atsiri (kategorik) dengan diameter daya hambat (numerik), didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan antar kelompok yang bermakna secara statistik dengan nilai $p<0,001$ ($p<0,05$) baik pada isolat klinis (Tabel 4) maupun MDR (Tabel 5).

Selanjutnya, dilakukan uji *Post Hoc* terhadap variabel seri konsentrasi minyak atsiri (kategorik) dan diameter daya hambat (numerik). Model perhitungan LSD digunakan berdasarkan uji homogenitas varians menggunakan uji *Levene* yang menunjukkan varian data homogen pada variabel diameter daya hambat baik pada MDR ($p=0,115$). Namun, model perhitungan *Tamhane* digunakan pada isolat klinis sesuai dengan varians data yang heterogen ($p=0,034$). Adapun hasil analisis data isolat klinis dan MDR dijabarkan pada Tabel 6 dan Tabel 7 secara berurutan.

DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat zona hambat yang terbentuk pada media kultur *P. aeruginosa* baik isolat klinis maupun MDR. Adapun diameter daya hambat terbesar, yakni $9,08 \pm 0,29$ mm pada isolat klinis dan $7,15 \pm 0,13$ mm pada MDR dengan konsentrasi minyak atsiri kulit buah jeruk bali sebesar 100%. Temuan pada penelitian ini serupa dengan studi oleh Das *et al.* (2013) yang menggunakan *paper disk* whatman-1 ukuran 6 mm pada media agar Mueller-Hinton untuk mengevaluasi daya hambat oleh ekstrak daun *Citrus maxima* (Burm.) Merr. ($0,312$ mg/mL) terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Studi tersebut melaporkan adanya zona hambat maksimum sebesar $14,83 \pm 0,49$ mm dibandingkan dengan kontrol antibiotik (*ciprofloxacin* $5\mu\text{g}/\text{disc}$), yakni sebesar $21 \pm 0,58$ mm.¹⁵

Studi oleh Singh (2016) juga menyimpulkan bahwa ekstrak biji *C. maxima* memiliki aktivitas antimikroba yang kuat terhadap patogen penyebab *respiratory tract infection*, termasuk *P. aeruginosa*. Ekstrak biji menggunakan

Tabel 4. Uji One Way ANOVA terhadap Seri Konsentrasi Minyak Atsiri dengan Diameter Daya Hambat pada Isolat Klinis *P. aeruginosa*.

Kelompok Uji	n	Rerata ± SD	Nilai p
60%	3	6,27 ± 0,08	<0,001
80%	3	6,71 ± 0,19	
100%	3	9,08 ± 0,29	
K+	3	40,8 ± 0,48	

Tabel 5. Uji One Way ANOVA terhadap Seri Konsentrasi Minyak Atsiri dengan Diameter Daya Hambat pada MDR *P. aeruginosa*.

Kelompok Uji	n	Rerata ± SD	Nilai p
80%	3	6,45 ± 0,13	<0,001
100%	3	7,15 ± 0,13	
K+	3	9,08 ± 0,34	

Tabel 6. Uji Post Hoc LSD pada Isolat Klinis *P. aeruginosa*.

Kelompok	Perbedaan Rerata (mm)	IK 95%		Nilai p
		Minimum	Maksimum	
60% vs 80%	0,45	0,11	1,01	p = 0,101
60% vs 100%	2,80	2,24	3,36	p < 0,001
60% vs K+	34,53	33,97	35,09	p < 0,001
80% vs 100%	2,35	1,79	2,91	p < 0,001
80% vs K+	34,08	33,52	34,64	p < 0,001
100% vs K+	31,73	31,17	32,29	p < 0,001

Tabel 7. Uji Post Hoc Tamhane pada MDR *P. aeruginosa*.

Kelompok	Perbedaan Rerata (mm)	IK 95%		Nilai p
		Minimum	Maksimum	
80% vs 100%	0,70	0,25	1,14	p = 0,009
80% vs K+	2,63	2,18	3,08	p < 0,001
100% vs K+	1,93	1,48	2,38	p < 0,001

pelarut MeOH dilaporkan memiliki efek antibakteri yang paling kuat dibandingkan dengan pelarut lain, yakni nilai *minimum inhibition concentration* (MIC) pada konsentrasi 6,25 mg/mL dan rerata diameter zona hambat sebesar 18,54 ± 0,62 mm. Uji fitokimia juga menunjukkan kandungan fenol, tanin, dan saponin yang berperan dalam mekanisme antimikroba ekstrak biji *C. maxima*.¹⁶ Studi serupa oleh Abirami, et al menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah (*white peel karp*) *Citrus maxima* dengan konsentrasi 50 mg/mL memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri, termasuk *P. aeruginosa*. Penelitian tersebut melaporkan diameter zona hambat sebesar 13 mm dibandingkan kontrol (*ciprofloxacin*) sebesar 25 mm terhadap bakteri *P. aeruginosa* (MTCC 424). Adapun nilai MIC berkisar antara 12,5 hingga 200 mg/mL.¹⁷

Pada penelitian ini, uji daya hambat

juga dilakukan terhadap strain MDR *P. aeruginosa* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 7,15 ± 0,13 mm dibandingkan dengan rerata pada kelompok kontrol (*ceftriaxone*) sebesar 9,08 ± 0,34. Terlebih lagi, studi oleh Abdelhady et al. (2020) yang mengevaluasi aktivitas antimikroba dari ekstrak madu jeruk (*citrus honey*) terhadap 50 sampel MDR *P. aeruginosa* yang berasal dari unit luka bakar dan ICU melaporkan bahwa konsentrasi 50% (v/v) madu jeruk mampu menghambat pertumbuhan sebagian besar isolat (33/50, 66%). Selain itu, terdapat hubungan yang signifikan antara keberadaan gen *exoU* (gen yang berkaitan dengan fenotipe MDR) dengan sinergi positif kombinasi jeruk madu-fosfomisin yang menunjukkan bahwa madu jeruk memiliki efek antibakteri dan bersinergi dengan antibiotik *fosfomycin* terhadap isolat MDR *P. aeruginosa*.¹⁸ Studi lain oleh

Ayad et al. (2015) juga melaporkan adanya zona hambat terhadap *P. aeruginosa* sebesar 10 mm pada kelompok yang diberi ekstrak kulit buah *C. maxima* dengan konsentrasi ekstrak sebesar 75% dan 95%.¹⁹

Pada penelitian ini, minyak atsiri kulit buah dengan konsentrasi 100% dilaporkan mampu menghasilkan zona hambat terbesar, yakni 9,40 mm. Pada penelitian lain, sediaan ekstrak kulit buah dengan konsentrasi 95% mampu menghasilkan zona hambat terbesar, yakni 10,0 mm Ayad et al. (2015). Penghambatan pertumbuhan *P. aeruginosa* oleh kulit buah *C. maxima* dapat disebabkan melalui adanya kandungan senyawa turunan fenolik yang tinggi, meliputi senyawa flavonoid, tanin, dan limonoid. Senyawa flavonoid memiliki efek antimikroba melalui beberapa mekanisme, seperti penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma dengan memengaruhi pembentukan biofilm, dan berinteraksi dengan berbagai enzim intraseluler bakteri. Kulit buah *C. maxima* dilaporkan mengandung berbagai jenis flavonoid, seperti apigenin, kaempferol, dan quercetin. Apigenin mampu berinteraksi dengan membran bakteri yang menyebabkan lisis sel. Hal ini didukung dengan temuan bahwa senyawa apigenin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dengan zona hambat sebesar 17,5 mm.²⁰

Berdasarkan penelitian oleh Huang et al. (2018), senyawa kaempferol juga memiliki efek antibakteri yang salah satunya diperantarai dengan efek penghambatan terhadap sintesis dihidropiridin pada *P. aeruginosa*. Senyawa quercetin juga dapat bekerja secara sinergis dengan antibiotik seperti *levofloxacin*, *gentamicin*, dan *ceftriaxone* dalam menghambat pembentukan *biofilm* (≥ 80%) dan menurunkan tingkat infeksi klinis secara signifikan. Pada penelitian ini, ekstraksi senyawa fenolik dari kulit buah *C. maxima* dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap sehingga didapatkan minyak atsiri dengan tingkat kemurnian yang cukup tinggi. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan jumlah senyawa fenolik secara maksimal sehingga memberikan aktivitas antibakteri yang efektif. Penelitian sebelumnya juga

menunjukkan bahwa minyak atsiri mampu menghambat aktivitas mikroba lebih efektif dan luas dibandingkan sediaan ekstrak dengan pelarut metanol dengan diameter daya hambat menggunakan *disk diffusion* pada perlakuan dengan minyak atsiri sebesar 10 mm dibandingkan perlakuan dengan ekstrak metanol yang tidak didapatkan adanya zona hambat terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Selain itu, hasil analisis dengan GC/MS menunjukkan bahwa fraksi minyak memiliki kandungan aktif yang sangat tinggi mencapai 99,6%.²¹

Di sisi lain, studi oleh Khan *et al.* (2019) yang mengevaluasi aktivitas antimikroba ekstrak kulit buah *Citrus maxima* (konsentrasi 1mg/mL, 5mg/mL, dan 10mg/mL dengan pelarut *n-hexane*) terhadap bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat. Adapun pada penelitian tersebut, diameter zona hambat pada kelompok kontrol berkisar antara 2,2-2,5 mm. Walaupun demikian, ekstrak kulit buah *Citrus maxima* diketahui memiliki kandungan komponen fenolik, khususnya *gallic acid* yang juga dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa*.²² Minyak atsiri kulit buah jeruk bali juga dilaporkan memiliki efek antibakteri yang baik pada berbagai patogen. Penelitian oleh Tsai *et al.* (2017) menggunakan sediaan minyak atsiri buah pomelo (*Citrus grandis*) melaporkan aktivitas antimikroba melalui *minimum inhibition concentration* (MIC₉₀) terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans* berkisar antara 0,086-0,121% (v/v). Terlebih lagi, senyawa citronellal dan citronellol dilaporkan menjadi kontributor utama dalam kandungan fenolik minyak atsiri sebesar 54,58% dari bioaktivitas minyak atsiri.²³

Penelitian serupa menggunakan sediaan minyak atsiri kulit buah *C. maxima* yang mengevaluasi aktivitas antimikroba menggunakan metode *broth macrodilution* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* menunjukkan MIC sebesar 2000 dan 16000 g/mL.²⁴ Penelitian yang dilakukan di Vietnam juga melaporkan bahwa analisis GCMS terhadap minyak atsiri *C. maxima* menunjukkan beberapa kandungan komponen fenolik yang tinggi, meliputi limonene (91,19%), dan sejumlah

komponen lain serupa *b-myrcene*, *a-phellandrene*, dan *a-pinene*. Terlebih lagi, aktivitas antimikroba oleh minyak atsiri pada penelitian tersebut terhadap sejumlah patogen gram-positif, gram-negatif, dan *Aspergillus flavus* menunjukkan zona hambat sebesar 8,3–11,3, 10,3–18,7, dan 9,0–11,7 mm secara berturut-turut.²⁵

Namun, penerapan sediaan minyak atsiri kulit buah jeruk bali dapat dikatakan tidak signifikan secara klinis. Berdasarkan *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI), *P. aeruginosa* dinyatakan resisten terhadap sediaan antibiotik jika memiliki zona hambat ≤ 22 mm (*ceftriaxone*) atau ≤ 25 mm (*ceftazidime*). Oleh karena itu, temuan zona hambat oleh sediaan minyak atsiri belum dapat dikatakan signifikan secara klinis karena tidak mencapai nilai minimal hambat sesuai CLSI. Adapun keterbatasan dalam penelitian ini, yaitu seri konsentrasi yang terbatas sebanyak lima konsentrasi sehingga kurangnya informasi terkait perbedaan rerata hasil tiap konsentrasi. Selain itu, penggunaan minyak atsiri pada penelitian ini hanya terbatas pada minyak atsiri saja dan belum dapat mengisolasi kandungan senyawa fenolik spesifik yang terkandung dalam kulit buah jeruk bali (*C. maxima*).

SIMPULAN

Minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan isolat klinis dan MDR bakteri *P. aeruginosa*. Selain itu, minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki perbedaan daya hambat pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100% terhadap pertumbuhan isolat klinis bakteri *P. aeruginosa*. Minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*) juga memiliki perbedaan daya hambat pada konsentrasi 80%, dan 100% terhadap pertumbuhan isolat *multidrug resistant* (MDR) bakteri *P. aeruginosa*.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis setuju bahwa tidak ada konflik kepentingan terkait publikasi studi ini.

PENDANAAN

Penulis menyatakan penelitian ini tidak didanai oleh pihak manapun.

ETIKA DALAM PENELITIAN

Penelitian ini telah dinyatakan laik etik oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana No.195/UN14.2.2.VII.14/LT2022.

PERSETUJUAN PUBLIKASI

Pasien telah memberikan persetujuan pada peneliti untuk mengekstrak data dari catatan medis dan dipublikasikan.

KONTRIBUSI PENULIS

Seluruh penulis berkontribusi dalam keseluruhan proses penelitian dan penyusunan manuskrip publikasi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Khan HA, Baig FK, Mehboob R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2017;7(5):478–82 <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.019>
- CDC. National and State Associated Infections Progress Report. *Centers Dis Control Prev*. 2016;(March).
- Duerink DO, Roeshadi D, Wahjono H, Lestari ES, Hadi U, Wille JC, et al. Surveillance of healthcare-associated infections in Indonesian hospitals. *J Hosp Infect*. 2015;62(2):219–29 <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2005.08.004>
- Estiningsih D, Puspitasari I, Nuryastuti T. Identifikasi Infeksi Multidrug-Resistant Organisms pada Pasien yang dirawat di Bangsal Neonatal Intensive Care Unit (NICU) RSUP DR. Soeradjii Tirtonegoro Klaten. *J Manaj dan Pelayanan Farm*. 2016;6(3):243–8 <https://doi.org/10.22146/jmpf.351>
- Ciofu O, Tolker-Nielsen T. Tolerance and Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms to Antimicrobial Agents—How *P. aeruginosa* Can Escape Antibiotics [Internet]. Vol. 10, *Frontiers in Microbiology*. 2019. p. 913 <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.00913>
- Kostylev M, Kim DY, Smalley NE, Salukhe I, Greenberg EP, Dandekar AA. Evolution of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing hierarchy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(14):7027–32 <https://doi.org/10.1073/pnas.1819796116>
- Thi MTT, Wibowo D, Rehm BHA. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22) <https://doi.org/10.3390/ijms21228671>
- Bheemavarapu H, Arief M, Ahmad A, Patel I. Nosocomial Infections in India: The Unaddressed Lacunae! *J Pharm Pract Community Med*. 2018;4(2):43–43 <https://doi.org/10.5530/jppcm.2018.2.11>
- Guzzo F, Scognamiglio M, Fiorentino A, Buommino E, D'Arosca B. Plant Derived Natural Products against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: Antibiofilm Activity and Molecular

- Mechanisms. *Molecules*. 2020;25(21) <https://doi.org/10.3390/molecules25215024>
10. Sahlan M, Damayanti V, Tristantini D, Hermansyah H, Wijanarko A, Olivia Y. Antimicrobial activities of pomelo (*Citrus maxima*) seed and pulp ethanolic extract. *AIP Conf Proc*. 2018;1933(February):10–6 <https://doi.org/10.1063/1.5023949>
 11. Br Karo RM, Manalu P, Sinurat JP. Antibacterial Activity of Flavonoid-Rich Fractions Of Citrus Maxima Peel Extract. *Stannum J Sains dan Terap Kim*. 2020;2(2):16–21 <https://doi.org/10.33019/jstkv2i2.1977>
 12. Lan-Phi NT, Vy TT. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of peels' essential oils of different pomelo varieties in the south of Vietnam. *Int Food Res J*. 2015;22(6):2426–31 ISSN: 1985-4668
 13. Suwandi. Outlook Komoditas Pertanian Subsektor Hortikultura Jeruk 2015. Badan Pus Stat. 2015;1–88.
 14. Ma'rufah T, Hertiani T, Anshory H. Perbandingan Daya Antiquorum Sensing Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat Dan Metanol Kulit Batang Kragean (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *J Ilm Farm*. 2013;10(1):7–17.
 15. Das S, Borah M, Ahmed S. Antibacterial activity of the ethanolic extract of leaves of *Citrus maxima* (Burm.) Merr. on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian J Pharm Clin Res*. 2013;6(SUPPL.4):136–9.
 16. Singh A. Evaluation of Antimicrobial Potential and Phytochemical Assessment of *Citrus maxima* Burm. Seeds Extracts Against Respiratory Tract Pathogens. 2016;(October). <https://10.7537/marsnys090916.02>.
 17. Abirami A, Nagarani G, Siddhuraju P. In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. *Food Sci Hum Wellness*. 2014;3(1):16–25 <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2014.02.001>
 18. Abdelhady ASM, Darwish NM, Abdelrahman SM, Abo NM, Magd E. The combined antimicrobial activity of citrus honey and fosfomycin on multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. 2020;6(2):162–75 <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020011>
 19. Ayad AC, Buerano KN, Andrew S, Sormin S, Malabat C, Jael S, et al. Antibacterial efficiency of pomelo peel extract on various concentrations against selected microorganisms. 2015; <https://doi.org/10.35974/ISC.V5I1.1560>
 20. Rammohan A, Reddy GM, Bhaskar BV, Gunasekar D, Zyryanov G V. Phytochemistry and pharmacological activities of the genus *Rhynchosia*: a comprehensive review. *Planta*. 2019;251(1):9 <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03311-2>
 21. Ghomi JS, Masoomi R, Kashi FJ, Batooli H. In vitro bioactivity of essential oils and methanol extracts of *Salvia reuterana* from Iran. *Nat Prod Commun*. 2012;7(5):651–4 <https://doi.org/10.1177/1934578X1200700527>
 22. Khan NH, Qian CJ, Perveen N. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activity determination of citrus maxima peel. *IEEE Eng Med Biol Mag*. 2019;6(4):279–85 <https://doi.org/10.15406/ppij.2018.06.00187>
 23. Tsai M-L, Lin C-D, Khoo KA, Wang M-Y, Kuan T-K, Lin W-C, et al. Composition and Bioactivity of Essential Oil from *Citrus grandis* (L.) Osbeck "Mato Peiyu" Leaf. *Molecules*. 2017;22(12) <https://doi.org/10.3390/molecules22122154>
 24. Huynh XP, Lưu MC, Trần TXN, Nguyễn NT, Bùi HDL, Bạch LG, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil extracted from pomelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.). *Hue Univ J Sci Nat Sci*. 2021;130(1C SE-):75–83 <https://doi.org/10.26459/hueunijns.v130i1C.6247>
 25. Karakaya H, Ozturk FS, Koc TB, Yasar K. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Pummelo (*Citrus maxima*) Essential Oil Derived from Fruit Peel. *J Essent Oil Bear Plants*. 2022;25(3):524–35 <https://doi.org/10.1080/0972060X.2022.2100229>



This work is licensed under a Creative Commons Attribution