

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Karakteristik objek penelitian

Objek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air perasan jeruk nipis dan *Hand sanitizer*. Sampel air perasan jeruk nipis diperoleh dari buah yang dipanen dari tumbuhan yang sama di Denpasar Selatan dengan beberapa karakteristik yaitu diantaranya merupakan: buah jeruk nipis yang digunakan memiliki warna kulit hijau segar tanpa noda kekuningan ataupun tanda-tanda pembusukan, memiliki ukuran diameter buah berkisar diantara 4 cm. Air perasan jeruk nipis yang digunakan didapatkan dengan cara pemerasan buah jeruk nipis sehingga didapatkan air perasan jeruk nipis yang berwarna kuning kerung, berbau khas jeruk nipis yang segar dan tajam.

Sampel *hand sanitizer* yang digunakan berasal dari salah satu apotek yang berada di jalan sutoyo wilayah kota denpasar. *Hand sanitizer* yang akan diuji memiliki beberapa karakteristik yaitu diantaranya merupakan: *hand sanitizer* yang digunakan merupakan *hand sanitizer* yang tidak kadaluarsa, kemasan berbentuk botol dengan komposisi: *Propylen Glycol*, *Fragrance*, dan *water*, berwarna bening. Memiliki volume sekitar 55 ml. Sampel air perasan jeruk nipis dan *hand sanitizer* dibuatkan konsentrasi 45%, 60%, 75% dengan cara menambahkan aquades. Kemudian untuk bakteri yang digunakan untuk uji antibakteri dalam penelitian ini adalah biakan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 yang dibiakan dalam media MHA. Hal yang diamati dalam

penelitian ini adalah perbandingan diameter zona hambat yang terbentuk dari sampel air perasan jeruk nipis dan *hand sanitizer* dengan konsentrasi 45%, 60%, 70% sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Hasil pengamatan diameter zona hambat air perasan jeruk nipis dan *hand sanitizer*

Sampel air perasan jeruk nipis dan *hand sanitizer* yang telah diencerkan menjadi konsentrasi 45%, 60%, dan 75%, kemudian diinokulasikan pada media MHA dengan metode difusi cakram begitu juga dengan kontrol positif mendapatkan perlakuan yang sama dengan sampel uji. Pada penelitian ini menggunakan kontrol positif digunakan sebagai acuan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan dalam penelitian ini berjalan dengan benar, yang dibuktikan dengan munculnya zona hambat. Sementara itu, kontrol negatif bertujuan untuk mengevaluasi apakah pelarut yang digunakan dalam penelitian ini memiliki aktivitas antibakteri atau tidak (Mengko *et al.*, 2023). Penelitian ini dilakukan dengan empat kali pengulangan, sehingga didapatkan hasil sebagai berikut:

a. Kontrol kerja

Kontrol kerja yang digunakan pada penelitian ini yaitu kontrol negatif dan positif. Kontrol negatif yang digunakan adalah aquades. Sedangkan untuk kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol dengan masing-masing besar zona hambat tersebut dapat diamati pada Tabel 4 :

Tabel 4
Pengukuran Hasil Zona Hambat Kontrol

Kode sampel	Diameter zona hambat (mm)				Rerata
	Pengulangan I	Pengulangan II	Pengulangan III	Pengulangan IV	
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0
Kontrol Positif	24	24,6	24,5	24,9	24,5

Berdasarkan hasil dari Tabel 4 yang dimana pada kontrol negatif memperoleh hasil pengukuran diameter zona hambat sebesar 0 mm atau dengan kata lain tidak terbentuknya zona hambat. Sedangkan pada kontrol positif memperoleh rerata hasil pengukuran diameter zona hambat sebesar 24,5 mm.

b. Sampel air perasan jeruk nipis dan *hand sanitizer*

Pada jeruk nipis dengan konsentrasi 45%, 60%, dan 75% terbentuk zona hambat tidak absolut, sedangkan Pada sampel *hand sanitizer* dengan konsentrasi 45%, 60%, dan 75% tidak terbentuk zona hambat dengan masing-masing besar zona hambat tersebut dapat diamati pada Tabel 5:

Tabel 5
Hasil Pengukuran Zona Hambat Sampel

Kode sampel	Diameter zona hambat (mm)				Rata-rata
	Pengulangan I	Pengulangan II	Pengulangan III	Pengulangan IV	
Hs 45%	0	0	0	0	0
Hs 60%	0	0	0	0	0
Hs 75%	0	0	0	0	0
Jp 45%	0,75	0,17	1,70	0,75	0,84
Jp 60%	1,45	1,00	1,94	2,25	1,66
Jp 75%	3,50	4,50	3,50	3,50	3,75

Rerata zona hambat dari sampel *hand sanitizer* dengan konsentrasi 45%, 60%, dan 75% terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 0 mm. sedangkan rerata zona hambat dari sampel air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 45% yaitu sebesar 0,84 mm. kemudian untuk air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 60% yaitu sebesar 1,66 mm, dan air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 75% yaitu sebesar 3,75 mm.

3. Hasil analisis data

Setelah didapatkan hasil pengukuran zona hambat air perasan jeruk nipis dan juga *hand sanitizer* dengan konsentrasi 45%, 60%, serta 75%, data tersebut kemudian dianalisis menggunakan uji statistik dengan bantuan aplikasi *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Uji statistik pertama yang dilakukan adalah Uji *Shapiro-Wilk*. Hasil Uji *Shapiro-Wilk* pada lampiran 4, didapatkan nilai sig yaitu 0.002 (sig. > 0,05) yang dimana nilai menunjukkan bahwa data tidak normal, sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik, yaitu *Friedman Test* dan *Kruskal-Wallis Test*

Selanjutnya untuk menguji hipotesis dilakukan Uji *Friedman* digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan antara variabel air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 45%, 60%, 75% dan *hand sanitizer* dengan konsentrasi 45%, 60%, 75%. Hasil uji nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$) yang dimana ini menandakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan. Selanjutnya, dilakukan Uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan zona hambat pada masing-masing kelompok konsentrasi. Pada kelompok *hand sanitizer* (HS), hasil uji menunjukkan nilai signifikansi 1.000 ($p > 0.05$), yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi 45%, 60%, dan

75%. Zona hambat yang dihasilkan cenderung sama pada ketiga konsentrasi tersebut. Pada kelompok air perasan jeruk nipis, hasil uji menunjukkan nilai signifikansi 0.012 ($p < 0.05$). Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi jeruk nipis terhadap zona hambat. Semakin tinggi konsentrasi (dari 45% ke 75%), semakin besar zona hambat yang dihasilkan, sesuai dengan urutan *mean rank*: JP_45 = 3.00, JP_60 = 6.00, JP_75 = 10.50.

B. Pembahasan

1. Diameter zona hambat air perasan jeruk nipis dan *hand sanitizer*

a. Diameter zona hambat air perasan jeruk nipis

Berdasarkan Tabel 5 hasil diameter zona hambat yang di peroleh melalui uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dengan empat kali pengulangan menunjukkan bahwa sampel air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 75% memperoleh nilai rata-rata diameter zona daya hambat sebesar 3,75 mm yang dimana hasil ini merupakan yang paling besar diantara konsentrasi air perasan jeruk nipis yang lainnya. Hasil tersebut mengalami peningkatan seiring dengan besarnya konsentrasi, semakin besar konsentrasi maka semakin tinggi pula jumlah senyawa antibakteri yang terkandung, sehingga dapat menyebabkan kematian bakteri atau menghambat pertumbuhannya yang terlihat dari bertambahnya diameter zona hambat yang yang dihasilkan (Rohmah, Erlin and Rachmawati, 2021). Hal ini juga sejalan dengan penelitian Razak, Djamal and Revilla, 2013 yang menyatakan bahwa, air perasan buah jeruk nipis menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Efektivitas daya hambat meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi, di mana konsentrasi yang

lebih tinggi memberikan penghambatan yang lebih kuat terhadap pertumbuhan bakteri tersebut.

Namun semua hasil sampel air perasan jeruk nipis tersebut lebih kecil jika dibandingkan dengan kontrol kerja yaitu antibiotik kloramfenikol yang dimana ukuran diameter zona hambat sebesar 24 mm, hal ini menunjukkan bahwa efektivitas air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 tergolong lemah. Efektivitas yang tergolong lemah pada penelitian ini dapat disebabkan oleh bentuk sediaan yang digunakan, yaitu berupa perasan segar dan bukan ekstrak murni. Dalam bentuk perasan, senyawa antibakteri yang terkandung seperti asam sitrat, fenol, limonen, flavonoid masih bercampur dengan berbagai komponen lain seperti vitamin, mineral, serat, lemak, karbohidrat, sodium yang kemungkinan dapat mengganggu atau menurunkan efektivitas kerja senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Srilistiany et al., 2022). Sementara jika dalam bentuk ekstrak, senyawa aktif telah dipisahkan dari komponen non-aktif melalui proses ekstraksi, sehingga diperoleh konsentrasi senyawa antibakteri yang lebih murni dan lebih tinggi. Proses ini memungkinkan aktivitas antibakteri menjadi lebih efektif karena tidak terdapat senyawa pengganggu yang dapat menghambat difusi atau menurunkan potensi kerja senyawa aktif terhadap bakteri (Sarah A Micheel, Verawaty Simorangkir and Ade P Simaremare, 2019) .

Hasil penelitian apabila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Lauma, Damajanty H. C. Pangemanan and Bernart S.P Hutagalung, 2015), juga memiliki hasil yang lebih rendah, kemungkinan besar

hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: teknik aplikasi perasan pada kertas cakram, ketebalan media agar, sumber bakteri, serta variasi kandungan bioaktif dalam jeruk nipis yang dimana faktor-faktor seperti letak geografis, suhu, iklim dan kesuburan tanah suatu wilayah sangat berperan penting dalam menentukan kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu tanaman (Novriyanti, Putri and Rijai, 2022).

Selain itu pada penelitian ini terdapat zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram tampak tidak rata, hal ini ditunjukkan dengan masih adanya koloni-koloni bakteri yang tumbuh di dalam zona hambat (parsial). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor, seperti difusi zat aktif tidak merata. Fenomena serupa juga dilaporkan dalam penelitian oleh Komala et al. (2012), yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) pada konsentrasi 75% memberikan efektivitas hambat yang lemah terhadap *Salmonella typhi*, dengan masih terbentuknya koloni-koloni bakteri di dalam zona hambat.

b. Diameter zona hambat *hand sanitizer*

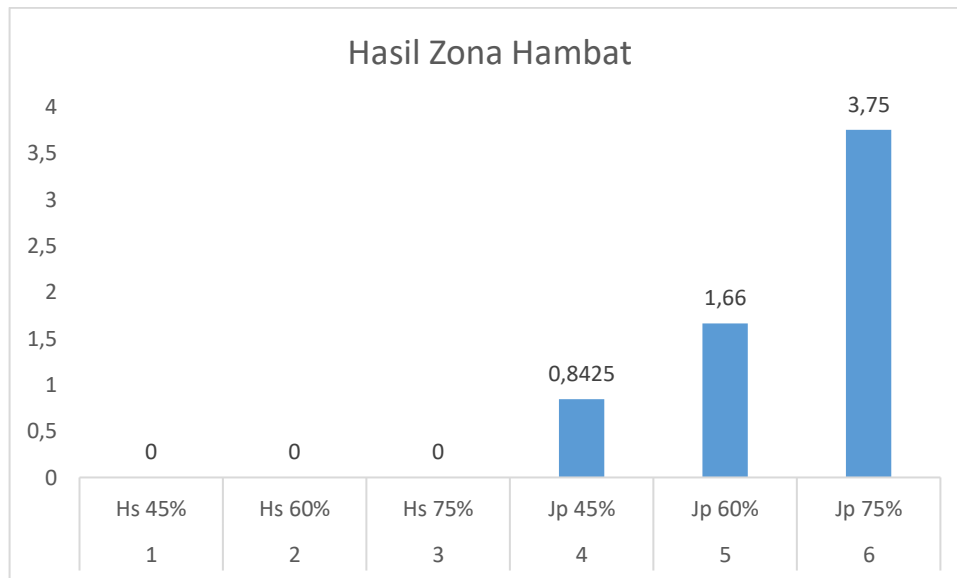
Berdasarkan tabel 4 hasil diameter zona hambat pada sampel *hand sanitizer* dengan konsentrasi 45%, 60%, dan 75% mendapatkan hasil sebesar 0 mm atau tidak terbentuknya zona hambat. Artinya dalam metode uji ini, *hand sanitizer* tidak menunjukkan efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Hal ini dikarenakan alkohol, terutama etanol, memiliki sifat volatil yang tinggi, sehingga cepat menguap saat diaplikasikan pada media agar. Dalam metode difusi cakram, penguapan ini dapat terjadi sebelum alkohol sempat berdifusi ke dalam media dan menghambat pertumbuhan bakteri.

Meskipun kandungan alkohol 73,3% termasuk dalam rentang yang direkomendasikan (60-95%) (Bhatt *et al.*, 2024). Selain itu efektivitasnya juga dapat dipengaruhi oleh faktor lainnya seperti faktor pengenceran yang dimana sangat berperan. Proses pengenceran *hand sanitizer* dari kadar 100% kemasan ke dalam konsentrasi 45%, 60%, dan 75% kemungkinan menyebabkan turunnya kadar alkohol aktif sehingga tidak cukup untuk menghasilkan zona hambat.

Namun, tidak terbentuknya zona hambat bukan berarti *hand sanitizer* tidak memiliki kemampuan membunuh bakteri. Hal ini dapat terjadi karena pengamatan zona hambat bersifat kualitatif, yakni secara visual dan manual, sehingga zona yang sangat kecil atau tidak merata mungkin tidak terdeteksi (Nurul *et al.*, 2023). Penelitian oleh (Chojnacki *et al.*, 2021) menemukan bahwa beberapa *hand sanitizer* dengan konsentrasi alkohol antara 62–70% tidak menunjukkan zona hambat terhadap *S. aureus*, menandakan bahwa konsentrasi saja tidak menjamin efektivitas.

2. Perbandingan zona hambat air perasan jeruk nipis dan *hand sanitizer*

Perbandingan efektivitas antara air perasan jeruk nipis dan *hand sanitizer* dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dilakukan visualisasi data melalui grafik rata-rata diameter zona hambat. Grafik ini menggambarkan perbedaan hasil yang diperoleh pada masing-masing konsentrasi sampel.



Gambar 6 Grafik Hasil Zona Daya Hambat

Berdasarkan Gambar 6, dapat dilihat bahwa sampel air perasan jeruk nipis menunjukkan zona hambat yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi, dengan nilai tertinggi pada konsentrasi 75% (3,75 mm). Sebaliknya, semua konsentrasi *hand sanitizer* tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat (0 mm). Perbedaan ini menunjukkan bahwa dalam metode uji difusi cakram air perasan jeruk nipis menunjukkan efektivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan *hand sanitizer*. Perbedaan ini kemungkinan dapat disebabkan oleh variasi kandungan senyawa aktif pada kedua jenis sampel dalam penelitian ini. Selain itu, perbedaan diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi ekstrak yang digunakan serta laju difusi senyawa antimikroba ke dalam media agar (Asril. *et al.*, 2024).

Buah jeruk nipis mengandung berbagai senyawa aktif yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri, antara lain asam sitrat, fenol, limonen, dan flavonoid. Perasan jeruk nipis segar mengandung sekitar 6,15% asam sitrat,

0,09% asam laktat, serta sejumlah kecil asam tartarat. Aktivitas antibakteri dari jeruk nipis terutama disebabkan oleh kandungan asam organiknya, dengan asam sitrat sebagai komponen utama, disertai asam malat, asam laktat, dan asam tartarat. Senyawa-senyawa ini bekerja menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme penurunan pH di bawah ambang batas pertumbuhan mikroorganisme dan gangguan metabolisme yang disebabkan oleh molekul asam dalam bentuk terkondisosiasi. (Srilistiany *et al.*, 2022).

Sementara itu, pada *hand sanitizer* terkandung alkohol yang dimana memiliki sifat mudah menguap, sehingga kemungkinan senyawa aktif tidak sempat berdifusi secara optimal. Senyawa volatil sendiri merupakan kumpulan senyawa yang memiliki sifat mudah menguap serta dapat memengaruhi aroma dan cita rasa suatu bahan. Gugus alkohol merupakan salah satu kandungan dari senyawa volatil yang menentukan aroma khas suatu produk karena sifatnya yang mudah menguap (Susianti, Ulfah Amalia and Laras Rianingsih, 2020). Alkohol dalam *hand sanitizer* berfungsi sebagai disinfektan dan umumnya hanya mengurangi jumlah pertumbuhan bakteri. Jadi meskipun digunakan dalam konsentrasi tinggi seperti 100%, *hand sanitizer* tetap tidak berfungsi sebagai bahan sterilisasi, sehingga tidak membunuh seluruh bakteri secara total, melainkan hanya mengurangi jumlahnya (Asngad, Aprilia Bagas R and Nopitasari, 2018).

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa efektivitas suatu bahan antibakteri tidak hanya ditentukan oleh kandungan zat aktifnya, tetapi juga dipengaruhi oleh bentuk sediaan, kestabilan zat aktif, serta karakteristik fisikokimia dari bahan tersebut. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan

bahwa dalam kondisi pengujian ini, air perasan jeruk nipis lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dibandingkan *hand sanitizer*.