

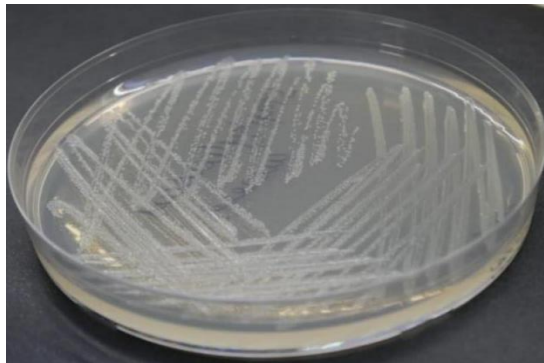
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Staphylococcus aureus*

1. Pengertian *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen penting yang menjadi perhatian serius dalam dunia kesehatan karena tingkat resistensinya yang tinggi terhadap berbagai antibiotik. Fenomena munculnya strain resisten seperti *Methicillin- Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) telah memperburuk situasi dengan menurunkan efektivitas terapi antibiotik konvensional. Kondisi ini menjadikan *Staphylococcus aureus* bukan hanya berbahaya sebagai penyebab infeksi, tetapi juga sebagai ancaman global terhadap efektivitas pengobatan antimikroba (Gherardi, 2023).



Gambar 1. *Bacterial colonies Staphylococcus aureus Mueller Hinton agar.*
(Sumber:Yurii Zhuk, 2022).

Gambar 1 *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus yang tersusun dalam kelompok menyerupai anggur. Bakteri ini termasuk dalam kategori patogen oportunistik yang mampu menyebabkan berbagai infeksi ringan maupun berat pada manusia. Infeksi yang ditimbulkan dapat berupa penyakit kulit superfisial seperti *furunkel*, dan *impetigo*, hingga infeksi sistemik yang lebih serius seperti *pneumonia*, *endokarditis*, *osteomyelitis*, *sepsis*, bahkan infeksi aliran darah yang berakibat fatal (Gherardi, 2023).

Keberadaan *Staphylococcus aureus* sering ditemukan pada kulit, rongga hidung, maupun permukaan mukosa manusia sebagai flora normal, namun dalam kondisi tertentu bakteri ini dapat berubah menjadi patogen. Faktor predisposisi seperti penurunan sistem imun, luka terbuka, penggunaan kateter, atau prosedur

medis invasif dapat memicu terjadinya kolonisasi dan infeksi (Niken *et al.*, 2023). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri komensal pada sebagian populasi, potensi patogenitasnya tetap tinggi dan tidak dapat diabaikan.

Penelitian terkini juga menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* mampu membentuk biofilm, yakni suatu komunitas bakteri yang dilindungi oleh matriks ekstraseluler sehingga lebih resisten terhadap antibiotik maupun sistem imun inang. Biofilm ini berperan besar dalam infeksi kronis dan berulang, terutama pada pasien dengan perangkat medis seperti implan, kateter, atau prostesis (Brown *et al.*, 2024). Oleh sebab itu, pengendalian infeksi akibat *Staphylococcus aureus* menjadi tantangan besar dalam dunia kesehatan.

Dengan karakteristik yang kompleks meliputi patogenitas tinggi, kemampuan membentuk biofilm, serta resistensi terhadap berbagai antibiotik, *Staphylococcus aureus* dikategorikan sebagai salah satu bakteri yang memiliki urgensi tinggi untuk terus diteliti, khususnya dalam pencarian alternatif terapi baru berbasis bahan alam yang lebih aman dan efektif (Amelia *et al.*, 2025).

2. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan klasifikasi ilmiah, *Staphylococcus aureus* termasuk ke dalam:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

(Farida Quddsiyah, 2021).

3. Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang memiliki bentuk kokus (bulat) dengan diameter rata-rata 0,5–1,5 μm . Bakteri ini tersusun dalam kelompok menyerupai buah anggur akibat pola pembelahan sel yang terjadi pada berbagai bidang, meskipun dapat pula ditemukan dalam bentuk tunggal, berpasangan, atau berkelompok kecil. Pewarnaan Gram menunjukkan hasil positif karena dinding selnya kaya akan peptidoglikan tebal yang memberikan struktur kaku dan mempertahankan warna ungu khas pada pemeriksaan mikroskopis (Gherardi, 2023).

Secara umum, *Staphylococcus aureus* tidak memiliki spora maupun flagela sehingga bersifat non-motil, namun bakteri ini mampu bertahan hidup pada berbagai kondisi lingkungan. Pada media kultur seperti agar darah, koloni *Staphylococcus aureus* tampak bulat, berwarna keemasan (*golden yellow pigment*), berkilau, dan biasanya membentuk hemolisis beta (zona bening akibat lisis sel darah merah). Pigmen karotenoid yang dihasilkan tidak hanya memberi warna khas, tetapi juga berfungsi sebagai faktor virulensi yang melindungi bakteri dari kerusakan akibat radikal bebas oksigen (Gherardi, 2023; Niken *et al.*, 2023).

Selain itu, *Staphylococcus aureus* memiliki lapisan kapsul polisakarida yang berperan penting dalam melindungi bakteri dari fagositosis oleh sel imun inang. Dinding selnya juga dilengkapi dengan asam tekoat dan protein A yang membantu melekatkan diri pada jaringan inang sekaligus menghindari respon imun adaptif. Kemampuan ini membuat bakteri semakin sulit dieliminasi oleh sistem pertahanan tubuh manusia, sehingga meningkatkan potensi terjadinya infeksi yang persisten (Gherardi, 2023; Brown *et al.*, 2024).

Karakter morfologi ini, baik yang diamati melalui mikroskop maupun sifat pertumbuhannya pada media kultur, menjadi dasar penting dalam identifikasi *Staphylococcus aureus* di laboratorium klinis. Dengan morfologi yang khas, serta dikombinasikan dengan kemampuan membentuk biofilm, *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri yang tidak hanya mudah dikenali, tetapi juga sulit dikendalikan dalam konteks medis modern (Amelia *et al.*, 2025).

4. Patogenitas dan Penyakit yang Ditimbulkan

a. Patogenitas *Staphylococcus aureus*

Patogenitas *Staphylococcus aureus* dipengaruhi oleh berbagai faktor virulensi yang dimilikinya. Faktor-faktor tersebut mencakup komponen struktural dinding sel maupun produk ekstraseluler yang berperan dalam proses kolonisasi, invasi jaringan, serta mekanisme penghindaran terhadap sistem pertahanan inang. Dinding sel bakteri ini mengandung peptidoglikan tebal, asam tekoat, serta proten A, yang berfungsi membantu pelekatan pada jaringan inang sekaligus menghambat aktivitas antibodi. Selain itu, kapsul polisakarida melindungi bakteri dari proses fagositosis oleh sel imun (Gherardi, 2023; Venereol, 2020; Michał Michalik *et al.*, 2024).

Staphylococcus aureus juga memproduksi berbagai enzim, seperti koagulasi yang mampu menggumpalkan fibrin untuk melindungi diri dari sistem imun, serta hialuronidase dan lipase yang membantu penetrasi ke jaringan tubuh. Di samping itu, bakteri ini menghasilkan toksin-toksin penting, antara lain hemolisin yang merusak membran sel darah merah, enterotoksin yang memicu keracunan makanan, toksin eksfoliatif penyebab sindrom kulit melepuh (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*), serta toksin sindrom syok toksik (TSST-1) yang menimbulkan *toxic shock syndrome* (Gherardi, 2023).

Kemampuan lain yang memperkuat patogenitasnya adalah pembentukan biofilm, yakni komunitas bakteri yang dilindungi matriks ekstraseluler. Biofilm ini tidak hanya meningkatkan resistensi terhadap antibiotik, tetapi juga membuat bakteri lebih sulit dieliminasi oleh sistem imun tubuh. Faktor-faktor inilah yang menjadikan *Staphylococcus aureus* sebagai patogen oportunistik dengan tingkat bahaya tinggi, khususnya pada pasien dengan imunitas rendah atau yang menjalani prosedur medis invasif (Brown *et al.*, 2024; Amelia *et al.*, 2025).

b. Penyakit yang Ditimbulkan *Staphylococcus aureus*

1. Impetigo

Infeksi superfisial pada kulit yang ditandai dengan lesi berkerak berwarna kuning madu, sering mengenai anak-anak, dan sangat

menular melalui kontak secara langsung. (Del Giudice, 2020).

2. Furunkel dan Karbunkel

Furunkel adalah infeksi folikel rambut yang dalam, membentuk bisul berisi nanah, sedangkan karbunkel adalah kumpulan furunkel yang lebih luas dan nyeri. (Del Giudice, 2020).

3. Selulitis dan Abses

Selulitis merupakan infeksi jaringan subkutan yang menyebabkan kemerahan, nyeri, dan bengkak, sedangkan abses adalah akumulasi pus yang terlokalisasi akibat peradangan. (Tong *et al.*, 2015).

4. Pneumonia

Infeksi paru-paru yang dapat terjadi setelah influenza; beberapa kasus berkembang menjadi *necrotizing pneumonia* dengan kerusakan jaringan paru yang luas. (Tong *et al.*, 2015).

5. Bakteremia dan Sepsis

Bakteremia terjadi ketika *Staphylococcus aureus* masuk ke aliran darah, yang dapat berkembang menjadi sepsis dengan gejala sistemik berat dan risiko syok septik. (Gherardi, 2023).

6. Endokarditis Infektif

Infeksi pada katup jantung atau endokardium, sering dikaitkan dengan pengguna narkoba suntik atau pasien dengan prostetik katup jantung. (Tong *et al.*, 2015).

7. Osteomielitis dan Arthritis Septik

Osteomielitis adalah infeksi tulang yang menyebabkan nyeri dan inflamasi, sedangkan arthritis septik merupakan infeksi sendi dengan pembengkakan dan keterbatasan gerak. (Tong *et al.*, 2015).

8. Infeksi Saluran Kemih (ISK)

Walaupun lebih jarang dibanding bakteri Gram-negatif, *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan *cystitis* hingga *pyelonefritis*, terutama pada pasien dengan kateter. (Tong *et al.*, 2015).

9. *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS)*

Penyakit akibat eksotoksin yang menyebabkan pengelupasan kulit menyerupai luka bakar, paling sering terjadi pada bayi dan anak kecil. (Gherardi, 2023).

10. *Toxic Shock Syndrome (TSS)*

Sindrom toksik akibat toksin TSST-1 yang ditandai dengan demam tinggi, ruam, hipotensi, dan kegagalan multi organ sering terkait penggunaan tampon atau luka terinfeksi. (Gherardi, 2023).

11. Keracunan Makanan

Disebabkan oleh konsumsi makanan yang terkontaminasi enterotoksin *Staphylococcus aureus*; gejalanya berupa mual, muntah, dan diare dalam 1–6 jam setelah makan. (Gherardi, 2023).

B. Jeruk manis (*Citrus sinensis*)

Jeruk manis merupakan salah satu spesies dari genus *Citrus* yang termasuk ke dalam famili *Rutaceae*. Tanaman ini dikenal luas di seluruh dunia sebagai buah konsumsi yang memiliki rasa manis, aroma khas, serta kandungan gizi yang bermanfaat bagi kesehatan. Secara morfologi, *Citrus sinensis* memiliki batang berkayu dengan percabangan yang rimbun, daun tunggal berbentuk lonjong, dan buah berbentuk bulat dengan kulit berwarna oranye cerah ketika matang (Dongre *et al.*, 2023). Buah jeruk manis biasanya dikonsumsi dalam bentuk segar maupun diolah menjadi jus, sedangkan bagian kulitnya yang sering dianggap limbah ternyata kaya akan senyawa bioaktif yang memiliki berbagai potensi farmakologis.

Produksi jeruk manis sangat melimpah di berbagai negara beriklim tropis dan subtropis, termasuk Indonesia. Hal ini menyebabkan ketersediaan kulit jeruk manis sebagai hasil samping industri pangan sangat tinggi, sehingga pemanfaatannya sebagai sumber senyawa bioaktif memiliki nilai ekonomi dan kesehatan yang potensial (Gupta *et al.*, 2020). Kandungan kimia utama pada kulit jeruk manis meliputi flavonoid (hesperidin, naringin), limonoid, minyak atsiri (limonena), tanin, dan senyawa fenolik lainnya yang diketahui memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan, antibakteri, dan antijamur (Mostafa & Essawy, 2021; Octaviani *et al.*, 2023).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk manis memiliki efek antibakteri yang signifikan, termasuk terhadap bakteri patogen berbahaya seperti *Staphylococcus aureus*. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa baik minyak atsiri maupun ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Minyak atsiri yang diperoleh melalui proses destilasi diketahui mengandung senyawa volatil, seperti limonene dan komponen terpenoid lainnya, yang berperan dalam merusak membran sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhannya (Zulwanis *et al.*, 2024). Di sisi lain, ekstrak kulit jeruk manis yang diperoleh melalui metode maserasi mengandung senyawa non-volatil seperti flavonoid, alkaloid, dan senyawa fenolik yang juga memiliki mekanisme antibakteri, antara lain dengan mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat aktivitas enzim bakteri (Amiliah *et al.*, 2021). Dengan demikian, baik minyak atsiri maupun ekstrak kulit jeruk manis menunjukkan potensi sebagai sumber antibakteri alami, meskipun keduanya memiliki perbedaan dalam jenis senyawa aktif dan mekanisme kerjanya.

Dengan demikian, jeruk manis (*Citrus sinensis*) bukan hanya dikenal sebagai buah konsumsi, tetapi juga sebagai tanaman dengan nilai farmakologis tinggi, khususnya pada bagian kulitnya yang kaya senyawa bioaktif. Potensi ini menjadikan jeruk manis sebagai salah satu sumber alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai alternatif bahan antibakteri dalam upaya mengatasi masalah resistensi antibiotik dan mendukung pemanfaatan limbah agrikultur secara lebih optimal.

Klasifikasi ilmiah jeruk manis, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (tumbuhan)

Divisi : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (dikotil)

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae (suku jeruk-jerukan)

Genus : *Citrus*

Spesies : *Citrus sinensis*

1. Morfologi Tanaman Jeruk Manis

a. Batang

Batang jeruk manis berbentuk berkayu, kokoh, dan dapat tumbuh mencapai tinggi 2–8 meter. Permukaan batang umumnya berwarna coklat kehijauan dengan percabangan yang cukup banyak. Beberapa varietas memiliki duri pendek pada ranting mudanya, meskipun tidak semua jenis menunjukkan ciri tersebut (Dongre *et al.*, 2023).

b. Daun

Daun jeruk manis termasuk daun tunggal berbentuk elips hingga lonjong dengan ujung meruncing. Panjang daun berkisar 5–15 cm dan lebar 2–8 cm, tepi daun rata (*entire margin*) serta berwarna hijau mengkilap di bagian atas dan lebih pucat di bagian bawah. Daun tersusun secara alternatif dengan tangkai yang relatif pendek dan memiliki sayap kecil (*winged petiole*) khas genus *Citrus* (Gupta *et al.*, 2020).

c. Bunga

Bunga jeruk manis muncul secara soliter atau dalam kelompok kecil di ketiak daun. Bunga berbentuk majemuk dengan kelopak berwarna hijau pucat dan mahkota berwarna putih, serta beraroma harum. Jumlah helai mahkota biasanya lima, dan benang sari cukup banyak dengan putik berwarna hijau kekuningan. Bunga jeruk manis termasuk bunga hermaprodit, sehingga mampu melakukan penyerbukan sendiri maupun silang (Amelia *et al.*, 2025).

d. Buah

Buah jeruk manis berbentuk bulat hingga bulat pipih dengan diameter 5–10 cm. Kulit buah (*epikarp*) berwarna hijau saat muda dan berubah menjadi orange ketika masak. Kulitnya cukup tebal, mengandung minyak esensial, serta mudah dikupas pada varietas tertentu. Daging buah (*mesokarp*) berwarna orange, bertekstur juicy, tersusun dari kantong-kantong sari (*juice vesicles*) yang kaya vitamin C, flavonoid, dan limonoid (Mostafa & Essawy, 2021; Octaviani *et al.*, 2023).

e. Biji

Biji jeruk manis berbentuk oval hingga lonjong, berwarna putih kekuningan, dan berjumlah bervariasi dalam setiap buah. Biji memiliki lapisan tipis di luar (*testa*) dan endosperma yang berfungsi sebagai cadangan makanan untuk pertumbuhan embrio (Gupta *et al.*, 2020).

2. Kandungan Fitokimia Kulit Jeruk Manis

a. Flavonoid

Senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Flavonoid seperti hesperidin, naringin, dan narirutin mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan merusak membran sel bakteri (Mostafa & Essawy, 2021; Amelia *et al.*, 2025).

b. Limonene (*Monoterpen*)

Komponen utama minyak atsiri pada kulit jeruk manis yang memiliki aktivitas antibakteri, antijamur, dan antioksidan. Limonene dapat merusak dinding sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhan patogen (Dongre *et al.*, 2023; Brown *et al.*, 2024).

c. Tanin

Senyawa fenolik yang bekerja dengan cara mengendapkan protein sel bakteri sehingga menghambat metabolisme dan pertumbuhannya. Kandungan tanin dalam kulit jeruk meningkat bila diekstraksi menggunakan etanol (Fakhruzy *et al.*, 2020; Arman *et al.*, 2023).

d. Alkaloid

Berfungsi sebagai antibakteri dengan mengganggu sintesis DNA dan RNA bakteri. Beberapa penelitian menunjukkan alkaloid dari kulit jeruk berkontribusi dalam aktivitas penghambatan *Staphylococcus aureus* (Amelia *et al.*, 2025).

e. Saponin

Memiliki kemampuan sebagai surfaktan alami yang merusak permeabilitas membran sel bakteri. Selain itu, saponin juga diketahui bersifat imunostimulan (Arman *et al.*, 2023).

f. Steroid dan Triterpenoid

Senyawa ini berperan dalam aktivitas antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan sel bakteri sehingga menyebabkan lisis. Triterpenoid juga mendukung aktivitas antiinflamasi (Octaviani *et al.*, 2023).

g. Vitamin C (Asam Askorbat)

Terkandung dalam kulit jeruk dengan potensi sebagai antioksidan kuat, membantu mencegah stres oksidatif, serta mendukung aktivitas senyawa antibakteri lainnya (Friatna *et al.*, 2021).

C. Metode Destilasi Uap

Metode destilasi uap merupakan salah satu proses ekstraksi khusus yang banyak digunakan untuk memperoleh minyak atsiri dari bahan alam, terutama tanaman aromatik yang mengandung senyawa volatil. Proses ini memanfaatkan uap air untuk menguapkan komponen minyak atsiri dari bahan, kemudian dikondensasikan kembali sehingga diperoleh minyak yang terpisah dari air (Suyono *et al.*, 2024; Rahmi *et al.*, 2024). Hal ini memungkinkan proses ekstraksi berlangsung tanpa merusak komponen aktif yang bersifat mudah menguap dan sensitif terhadap panas. Metode ini banyak diaplikasikan pada kulit jeruk karena kandungan utama minyak atsirinya, seperti limonene, bersifat volatil dan stabil pada proses destilasi uap (Utami *et al.*, 2025).

Proses destilasi uap diawali dengan menempatkan bahan tanaman, seperti kulit jeruk yang telah dipotong atau dikeringkan, ke dalam ketel destilasi. Uap air kemudian dialirkan melalui bahan tersebut sehingga panas dari uap menyebabkan kelenjar minyak dalam jaringan tanaman pecah dan melepaskan minyak atsiri. Campuran uap air dan uap minyak selanjutnya dialirkan menuju kondensor untuk mengalami proses pendinginan dan pengembunan. Hasil kondensasi berupa campuran cairan air dan minyak atsiri yang kemudian dipisahkan menggunakan corong pisah berdasarkan perbedaan densitas, di mana minyak atsiri umumnya berada pada lapisan atas (Rizkiyah *et al.*, 2024).

Destilasi uap tergolong sebagai metode ekstraksi panas, namun penggunaan uap air memungkinkan penurunan titik didih senyawa minyak atsiri sehingga

meminimalkan terjadinya degradasi termal. Metode ini dinilai efektif untuk mengekstraksi minyak atsiri dari kulit jeruk karena mampu mempertahankan komponen utama seperti monoterpen dan seskuiterpen yang berperan dalam aktivitas biologis, termasuk aktivitas antibakteri. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa variasi waktu destilasi dan ukuran bahan berpengaruh terhadap rendemen dan kualitas minyak atsiri yang dihasilkan, sehingga parameter proses perlu dioptimalkan sesuai karakteristik bahan (Rizkiyah *et al.*, 2024).

Efektivitas destilasi uap dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain lama waktu destilasi, ukuran partikel bahan, kadar air bahan, serta laju aliran uap. Semakin lama waktu destilasi, umumnya rendemen minyak atsiri meningkat hingga mencapai titik optimum, setelah itu peningkatan waktu tidak lagi memberikan hasil signifikan. Selain itu, ukuran bahan yang lebih kecil dapat memperluas permukaan kontak antara uap dan jaringan tanaman, sehingga pelepasan minyak atsiri menjadi lebih efisien. Secara keseluruhan, metode destilasi uap dipilih karena relatif sederhana, ekonomis, dan mampu menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas baik, sehingga banyak digunakan dalam penelitian minyak atsiri dari kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) sebagai sumber senyawa bioaktif bernilai tinggi (Utami *et al.*, 2025).

Semakin tinggi kadar oksidasi pada minyak atsiri, maka kualitas minyak akan semakin menurun karena senyawa aktif mudah mengalami kerusakan, perubahan aroma, warna, serta penurunan aktivitas biologis seperti aktivitas antibakteri. Oleh karena itu, proses ekstraksi dan penyimpanan minyak atsiri perlu dilakukan secara optimal untuk meminimalkan terjadinya oksidasi (Wibowo & Aulifa, 2019).

D. Metode Ekstraksi (Maserasi)

Metode maserasi merupakan salah satu proses ekstraksi kental yang digunakan untuk memperoleh senyawa aktif dari bahan alam dengan cara merendam simplisia dalam pelarut pada suhu kamar hingga diperoleh ekstrak kental. Proses ini memungkinkan senyawa bioaktif larut ke dalam pelarut berdasarkan prinsip difusi dan kesetimbangan konsentrasi, sehingga banyak digunakan dalam penelitian bahan alam karena sifatnya yang sederhana dan

mampu mempertahankan stabilitas senyawa aktif (Athaillah *et al.*, 2024; Ningsih *et al.*, 2025). Secara umum, metode ekstraksi dibedakan menjadi dua jenis, yaitu metode ekstraksi dingin yang dilakukan tanpa pemanasan dan metode ekstraksi panas yang melibatkan penggunaan suhu tinggi selama prosesnya. Metode maserasi merupakan pengembangan dari teknik maserasi konvensional yang dilakukan dengan cara perendaman berulang menggunakan pelarut segar untuk mengekstraksi senyawa aktif dari bahan alam. Tujuan utama dari metode ini adalah untuk memperoleh hasil ekstraksi yang lebih optimal, karena sebagian senyawa bioaktif mungkin belum sepenuhnya terlarut pada proses maserasi pertama. Prinsip maserasi didasarkan pada difusi senyawa aktif dari jaringan tumbuhan ke dalam pelarut hingga tercapai kesetimbangan konsentrasi, kemudian proses diulang dengan pelarut baru guna mengekstraksi sisa komponen yang masih tertinggal dalam residu (Kumar *et al.*, 2022; Fakhruzy *et al.*, 2020).

Proses maserasi diawali dengan merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut organik pada suhu kamar selama periode tertentu, biasanya antara tiga hingga lima hari, sambil dilakukan pengadukan atau pengocokan secara berkala untuk mempercepat pelarutan senyawa aktif. Setelah tahap perendaman pertama selesai, filtrat disaring untuk memisahkan ekstrak dan ampas. Ampas tersebut kemudian direndam kembali menggunakan pelarut baru dan dilakukan proses yang sama untuk memastikan semua senyawa bioaktif terlarut secara maksimal. Tahapan perendaman ini dapat dilakukan dua hingga tiga kali tergantung pada tujuan dan karakteristik bahan yang diekstraksi (Handoyo, 2020; Arman *et al.*, 2023).

Efektivitas remaserasi sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti jenis dan volume pelarut, ukuran partikel simplisia, lama waktu perendaman, serta frekuensi pengadukan. Penggunaan pelarut yang sesuai dengan polaritas senyawa target akan meningkatkan kelarutan metabolit sekunder yang diinginkan. Selain itu, semakin kecil ukuran partikel simplisia maka semakin besar luas permukaan kontak antara bahan dan pelarut, sehingga mempercepat proses ekstraksi. Frekuensi remaserasi juga berperan penting, karena semakin banyak tahapan perendaman yang dilakukan, semakin optimal pula jumlah senyawa aktif yang dapat diperoleh (Kumar *et al.*, 2022; Arman *et al.*, 2023). Secara keseluruhan,

metode maserasi dipilih karena mampu meningkatkan rendemen ekstrak serta mempertahankan stabilitas kimia dari senyawa aktif yang diisolasi. Metode ini efisien, ekonomis, dan tidak memerlukan peralatan kompleks, sehingga sering digunakan dalam penelitian bahan alam yang berfokus pada isolasi metabolit sekunder dari tanaman obat, termasuk pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) yang kaya akan flavonoid dan minyak atsiri (Arman *et al.*, 2023; Handoyo, 2020).

Hasil akhir metode maserasi adalah diperolehnya ekstrak kental yang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid, di mana ekstrak diperoleh setelah proses penguapan pelarut sehingga menyisakan ekstrak pekat yang siap digunakan untuk pengujian lebih lanjut seperti uji fitokimia dan aktivitas antibakteri (Hasanah *et al.*, 2021; Angraini *et al.*, 2019).

E. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Beberapa metode dapat digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri suatu senyawa, terutama yang bekerja berdasarkan prinsip difusi zat aktif ke dalam media padat. Salah satu metode yang cukup sering digunakan selain difusi cakram adalah metode difusi sumuran (*well diffusion*), yaitu dengan membuat lubang kecil pada media agar yang telah diinokulasi bakteri, kemudian memasukkan ekstrak uji ke dalamnya. Setelah diinkubasi, zona hambat di sekitar sumur menunjukkan kemampuan antibakteri senyawa yang diuji. Metode ini efektif untuk bahan cair, tetapi membutuhkan ketelitian agar ukuran sumur seragam (Brown *et al.*, 2024).

Selain metode difusi cakram, terdapat teknik difusi silinder (*cylinder plate method*) yang memanfaatkan silinder logam atau kaca yang diletakkan di atas media agar dan diisi dengan larutan uji, kemudian diinkubasi hingga terbentuk zona bening di sekeliling silinder. Teknik ini diketahui mampu menghasilkan zona hambat yang lebih konsisten dibandingkan metode sumuran, namun membutuhkan alat khusus serta prosedur yang lebih kompleks dalam pelaksanaannya (Agape, 2019; Karlina Intan, 2021). Metode lain yang memiliki prinsip serupa adalah overlay agar, yaitu media terdiri dari dua lapisan dimana lapisan bawah mengandung ekstrak uji sedangkan lapisan atas berisi suspensi bakteri; difusi senyawa aktif dari lapisan bawah ke lapisan atas akan

menghasilkan zona hambat yang menandakan adanya aktivitas antibakteri (Brunika Mega Handayani, 2024; Nadya Treesna Wulansari, 2025). Selain metode berbasis difusi, dikenal pula metode dilusi cair (*broth dilution*) yang digunakan untuk menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Berbeda dengan teknik difusi, metode ini tidak menampilkan zona hambat, tetapi memberikan data kuantitatif mengenai konsentrasi senyawa yang efektif dalam menghambat atau membunuh bakteri (Devanty Indha Handyawati Putri, 2023; Michał Michalik, 2024).

Metode difusi cakram merupakan salah satu teknik yang paling banyak digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri. Prinsip kerja metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa antibakteri dalam ekstrak untuk berdifusi melalui media agar dan menghambat pertumbuhan bakteri pada area sekeliling cakram uji (Agape, 2019; Karlina Intan, 2021). Dalam prosesnya, kertas cakram steril dengan ukuran tertentu terlebih dahulu direndam atau ditetesi dengan larutan ekstrak uji, kemudian ditempatkan di permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri uji, sehingga terbentuk zona hambat setelah inkubasi apabila ekstrak memiliki aktivitas antibakteri (Devanty Indha Handyawati Putri, 2023; Brunika Mega Handayani, 2024).

Selama masa inkubasi, senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak akan berdifusi secara radial dari cakram ke dalam media agar. Apabila ekstrak memiliki kemampuan antibakteri, maka akan muncul zona hambat berupa area jernih di sekitar cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada daerah tersebut (Agape, 2019; Devanty Indha Handyawati Putri, 2023). Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dalam satuan milimeter sebagai parameter efektivitas antibakteri dari ekstrak yang diuji (Brunika Mega Handayani, 2024; Karlina Intan, 2021).

Metode difusi cakram banyak digunakan karena praktis, sederhana, serta tidak memerlukan peralatan yang rumit. Selain itu, metode ini memungkinkan pengujian beberapa konsentrasi ekstrak secara bersamaan, sehingga memudahkan perbandingan efektivitas. Dalam penelitian ini, metode difusi cakram digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, karena teknik ini dinilai paling

sesuai dan efisien untuk bahan alam (Fakhruzy *et al.*, 2020; Handoyo, 2020).

F. Zona Hambat

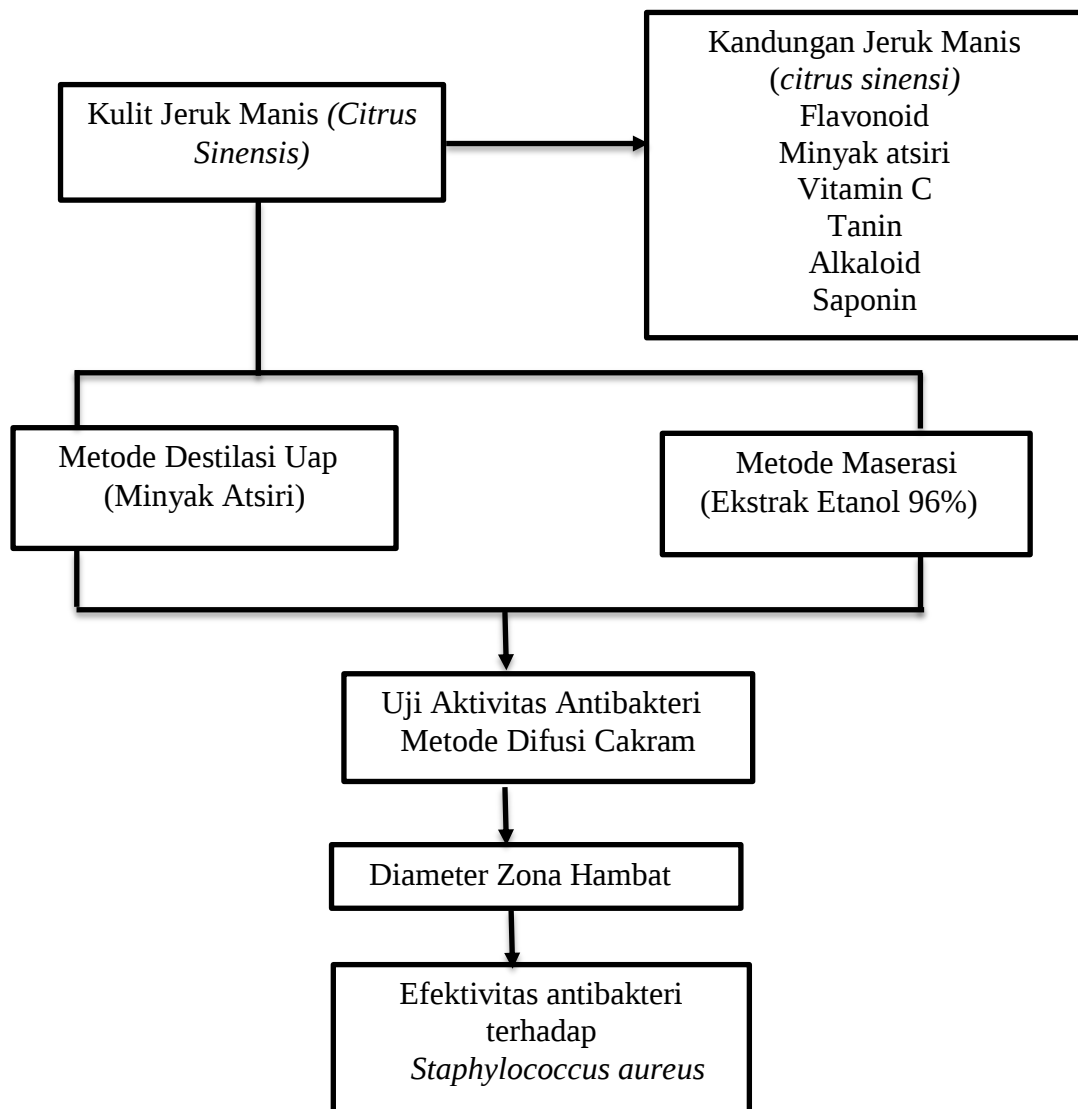
Zona hambat adalah daerah bening yang terbentuk di sekitar cakram atau sumuran pada media pertumbuhan bakteri sebagai tanda adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak yang diuji. Area bening tersebut muncul karena senyawa aktif dalam ekstrak berdifusi ke dalam media agar sehingga mampu menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri di sekitarnya. Diameter zona hambat diukur menggunakan mistar atau jangka sorong dengan satuan milimeter (mm) maupun sentimeter (cm). Pengukuran dilakukan dari satu sisi ke sisi lainnya melalui titik tengah cakram atau sumuran. Untuk memperoleh hasil yang lebih akurat, pengukuran biasanya dilakukan pada dua arah yang saling tegak lurus kemudian dirata-ratakan. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, maka semakin kuat kemampuan antibakteri dari ekstrak tersebut. Oleh karena itu, zona hambat digunakan sebagai indikator untuk menilai efektivitas ekstrak alami, seperti daun pepaya dan daun kemangi, dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Posangi *et al.*, 2016).

Tabel 1. Kategori Zona Hambat

Kategori	Diameter zona hambat (mm)
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

(Syahputri *et al.*, 2023)

G. Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka konsep.