



Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Sabun Cair Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922

Iqbal Sirajudin Maulidinawan^{1*}, Tatiana Siska Wardani², Bagas Ardiyantoro³

¹⁻³Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia

Email: iqbalsirajuddin61@gmail.com*

Alamat: Jl. K.H Samanhudi No.93, Sondakan, Kec. Laweyan, Kota Surakarta, Jawa Tengah 57147

*Korespondensi penulis

Abstract. Skin that is prone to bacterial infections requires proper care using products containing antibacterial agents. One potential alternative is kaffir lime leaves (*Citrus hystrix*), which are known to contain antibacterial compounds. This study aimed to evaluate the formulation of liquid soap containing kaffir lime leaf extract and to determine the optimal concentration for inhibiting bacterial growth. An experimental laboratory design was applied, and the antibacterial effectiveness was tested using the disk diffusion method against two test bacteria, namely *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Statistical analysis was performed using One-Way ANOVA, followed by Scheffe's post-hoc test to identify significant differences among treatment groups. The results indicated that the liquid soap containing kaffir lime leaf extract exhibited good physical quality and met standard parameters, including organoleptic evaluation, pH, viscosity, and foam height tests. Antibacterial testing showed that the highest inhibition zone against *Staphylococcus aureus* was observed at a 15% concentration with a zone diameter of 18.28 mm (strong category), while the highest inhibition zone against *Escherichia coli* was also at a 15% concentration with a diameter of 19.03 mm (strong category). The One-Way ANOVA results showed a significance value ($p < 0.05$), indicating a statistically significant difference among treatments for both bacterial species. These findings suggest that liquid soap formulated with kaffir lime leaf extract, particularly at a 15% concentration, has strong antibacterial activity and potential as an effective skin care product. Further studies are recommended to evaluate safety, stability, and long-term effectiveness.

Keywords: *Escherichia coli*, ethanol extract, kaffir lime leaves, liquid soap, *Staphylococcus aureus*.

Abstrak. Kulit yang rentan terhadap infeksi bakteri memerlukan perawatan dengan produk yang mengandung zat antibakteri. Salah satu alternatif yang dapat dimanfaatkan adalah daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) yang diketahui memiliki kandungan senyawa antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sediaan sabun cair berbahan ekstrak daun jeruk purut serta menentukan konsentrasi optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan pengujian efektivitas antibakteri melalui metode difusi cakram terhadap dua bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Analisis statistik dilakukan menggunakan uji One Way ANOVA, dilanjutkan dengan uji Scheffe untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sabun cair ekstrak daun jeruk purut memiliki mutu fisik yang baik dan memenuhi standar parameter mutu, meliputi uji organoleptis, pH, viskositas, dan tinggi busa. Pengujian antibakteri menunjukkan bahwa konsentrasi 15% memberikan daya hambat tertinggi terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 18,28 mm (kategori kuat) dan terhadap *Escherichia coli* dengan zona hambat 19,03 mm (kategori kuat). Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan pada kedua jenis bakteri. Temuan ini mengindikasikan bahwa sediaan sabun cair ekstrak daun jeruk purut, khususnya pada konsentrasi 15%, memiliki potensi sebagai produk perawatan kulit dengan aktivitas antibakteri yang efektif. Penelitian ini merekomendasikan pengembangan lebih lanjut untuk memastikan keamanan, stabilitas, dan efektivitas penggunaan dalam jangka panjang.

Kata kunci: Daun jeruk purut, Ekstrak etanol, *Escherichia coli*, Sabun cair, *Staphylococcus aureus*.

1. LATAR BELAKANG

Kulit berfungsi melindungi organ dalam tubuh dari berbagai pengaruh fisik seperti gesekan, perubahan suhu, radiasi UV, dan tekanan. Ketika kulit terluka, mikroorganisme seperti bakteri dapat masuk dan menyebabkan infeksi. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* termasuk sebagai contoh bakteri penyebab infeksi tersebut. Cara sederhana terkait menjaga higienitas serta kebersihan kulit yakni mandi dengan sabun (Usman & Baharuddin, 2023). Sabun cair merupakan produk pembersih kulit dengan bentuk cair yang mengandung surfaktan, pengawet, penstabil busa, pewangi, pewarna yang aman, serta tidak menyebabkan iritasi (Nasution, *et al.*, 2023). Pengembangan sabun cair dengan bahan alami penting dilakukan karena dapat memberikan manfaat tambahan seperti efek lembut, melembapkan, aktivitas antibakteri, dan aroma yang menyenangkan (Usman & Baharuddin, 2023). Daun jeruk purut, yang kaya akan tanin, steroid, triterpenoid, dan minyak atsiri, sering digunakan dalam pengobatan tradisional. Kandungan alkaloid, polifenol, flavonoid, dan tanin pada daun jeruk purut memberikan efek antibakteri dan antioksidan (Nasution *et. al*, 2023). *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen umumnya terdapat pada manusia. *E. coli* menyebabkan gangguan pencernaan dan masalah pada sistem kerja lambung, menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas global. *S. aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi yang sering terjadi. Diare juga menjadi masalah kesehatan yang umum (Geofani *et al.*, 2022). Berdasarkan hal tersebut, studi ini dimaksudkan guna melakukan formulasi ataupun pengujian antibakteri sabun cair yang mengandung ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.

2. KAJIAN TEORITIS

Sabun mandi cair bekerja dengan mekanisme pengemulsian lemak dan kotoran oleh surfaktan. Molekul surfaktan mempunyai bagian hidrofilik (suka air) serta hidrofobik (suka minyak), sehingga memungkinkan pengangkatan minyak dan kotoran dari kulit ke dalam air bilasan (Handayani *et al.*, 2022). Sabun mandi cair harus memenuhi parameter mutu seperti pH (kisaran 5,5-7,5), viskositas, daya busa, serta keamanan terhadap kulit (Cahyaningsih *et al.*, 2016). Tren terbaru dalam pengembangan sabun mandi cair meliputi penggunaan bahan alami seperti minyak esensial, ekstrak herbal, dan probiotik untuk meningkatkan manfaat kesehatan kulit (Mishra *et al.*, 2020). Hal yang terkandung pada daun jeruk purut berupa alkaloid, polifenol, minyak atsiri, tanin, flavonoid. Jeruk purut mempunyai efek farmatologis yang menjadi antiseptik dan antioksidan. Senyawa pada daun ini bisa difungsikan menjadi antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, dan tanin (Siregar *et al.*, 2020). Maimunah *et al.*, (2020),

melaporkan bahwa ekstrak daun jeruk purut menunjukkan aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus*, dengan zona hambat yang tergolong sedang di berbagai konsentrasi: 5% (6,7 mm), 10% (7,2 mm), 15% (7,3 mm), dan 20% (8,3 mm). Di samping itu, merujuk pada Siregar *et al.*, (2020), menegaskan bahwasanya infusa daun jeruk purut di konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat yakni 14,3 mm terhadap *Escherichia coli*, yang dikategorikan sebagai kuat. Istilah *Staphylococcus* muasal bahasa Yunani, yakni "staphyle" dan "kokkos," bermakna kelompok anggur dengan bentuk kokus atau bulat. Istilah "aureus" diambil dari bahasa Latin, "gold," yang mengindikasikan bahwa bakteri ini bertumbuh dengan koloni yang besar dengan warna kuning. *Staphylococcus aureus* termasuk Gram positif yang tidak motil, banyak ditemukan pada membran hidung dan kulit manusia (Najiya, 2022). *Escherichia coli* termasuk Gram negatif berbentuk batang yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas, meskipun beberapa strain dapat menyebabkan infeksi (Younis, 2022). Sebagian besar *E. coli* bersifat komensal, membantu pencernaan dan sintesis vitamin K, tetapi strain patogen bisa memicu diare, infeksi saluran kemih (ISK), hingga sepsis (Ekhuemelo & Ekhuemelo, 2021).

3. METODE PENELITIAN

Alat Dan Bahan

Peralatan yang dimanfaatkan studi berikut yakni pH meter, gelas ukur, batang pengaduk, pipet tetes, erlenmeyer, timbangan analitik, labu takar, cawan, inkubator, autoklaf, oven, blender, beker, penangas, piknometer, jarum ose, pinset, *rotary evaporator*. Sementara bahan yang dipergunakan diantaranya daun jeruk purut, isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Media Nutrient Agar (NA), minyak zaitun, Kalium Hidroksida (KOH), Natrium Carboksil Metil Selulosa (CMC), Sodium Lauryl Sulfate (SLS), asam stearat, Butyl Hidroksi Anisol (BHA), indikator fenolftalein, alkohol 96%, nutrien agar, sabun Dettol, dan aluminium foil.

Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Masukkan sebanyak 250 gram simplisia daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) pada wadah tertutup berwarna gelap, berikutnya tambahkan 2 liter etanol 96% sebagai pelarut pada perbandingan sampel dan pelarut 1:7,5. Campuran tersebut ditutup rapat dan diaduk berulang kali untuk memastikan pelarut meresap ke seluruh permukaan simplisia. Perendaman dilakukan pada durasi 5 hari sembari diaduk sesekali. Hasil

maserasi selanjutnya diproses dengan *rotary evaporator*, dan lakukan penguapan pada hasil pemekatan menggunakan *waterbath* (Maimunah *et al.*, 2020).

Skrining Fitokimia

Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0.1 gram ekstrak daun jeruk purut pada tabung reaksi, lalu tambah dengan 10 tetes HCl pekat. Larutan tersebut diuji menggunakan reagen Meyer, Dragendorf, atau Wagner. Kehadiran alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih (guna reagen Meyer), merah jingga (guna reagen Dragendorf), dan coklat (guna reagen Wagner) (Forestryana & Arnida, 2020).

Identifikasi Tanin

Dilakukan pelarutan sejumlah 0,1 g ekstrak kental daun jeruk purut pada metanol, selanjutnya tambah sekitar 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Dikatakan positif pada sampel apabila kandungan tanin terbentuk warna hijau gelap atau biru kehitaman (Forestryana & Arnida, 2020).

Identifikasi Saponin

Untuk identifikasi saponin, larutkan 0,5 g ekstrak pada 5 mL aquades, dipanaskan pada durasi 15 menit, dan lakukan pengocokan 10 detik. Ekstrak dikatakan positif terdapat saponin apabila terbentuk buih yang stabil sekitar 10 menit pada ketinggian berkisar 1 cm sampai dengan 10 cm, buih tersebut tidak hilang sesudah penambahan 1 tetes asam klorida (HCl) 1N (Forestryana & Arnida, 2020).

Identifikasi Flavonoid

Untuk identifikasi flavonoid, 0,5 g ekstrak daun jeruk purut ditimbang pada tabung reaksi, tambah dengan 5 mL etanol 70%, dan pansakan dengan durasi 5 menit. Berikutnya ditambah dengan serbuk magnesium dan HCl. Terbentuknya larutan berwarna merah jingga menandakan keberadaan flavonoid (Forestryana & Arnida, 2020).

Formulasi Sediaan Sabun Cair Daun Jeruk Purut (*Maimunah et al., 2020*) & (*Korompis et al., 2020*)

Tabel 1. Formulasi Sediaan Sabun Cair Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*).

Bahan	Formulasi (%)			Kegunaan
	F1	F2	F3	
Ekstrak daun jeruk purut	5	10	15	Zat aktif
Kalium hidroksida	8	8	8	Alkali
Carboximethyl cellulose	0,5	0,5	0,5	Pengental Asam
Sodium Laureth Sulfa	0,5	0,5	0,5	Surfaktan
Asam Stearat	0,25	0,25	0,25	Zat penetral
Butil Hidroxy Toluena	0,5	0,5	0,5	Antioksidan
Minyak zaitun	15	15	15	Asam lemak
Aquadest	100	100	100	Pelarut

Cara Kerja Pembuatan Sabun Cair Daun Jeruk Purut

Mula-mula, semua bahan ditimbang sesuai dengan jumlah yang telah ditentukan. Sebanyak 15 mL minyak zaitun masukkan pada gelas kimia, lalu ditambahkan 8 mL kalium hidroksida dengan bertahap sambil dipanaskan di temperatur 50°C sampai terbentuk pasta sabun. Pasta sabun tersebut dicampur bersama 15 mL aquades, kemudian ditambahkan Carboxymethyl cellulose (CMC) yang sudah dilarutkan pada aquades panas, dan lakukan pengadukan sampai tercampur rata. Berikutnya, asam stearat, Sodium Lauryl Sulfate (SLS), dan Butylated Hydroxyanisole (BHA) ditambahkan secara berurutan, masing-masing diaduk hingga homogen setelah penambahan setiap bahan. Ekstrak daun jeruk purut ditambahkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan dan diaduk hingga rata. Terakhir, aquades ditambahkan hingga volume sabun cair mencapai 100 mL, lalu dipindahkan pada wadah bersih yang sudah siap sebelumnya. Proses pembuatan sabun cair melalui pemanfaatan ekstrak etanol daun jeruk purut disesuaikan dengan tiap-tiap konsentrasi yang telah ditentukan.

Evaluasi Fisik Sediaan Sabun Cair

Uji Organoleptik

Uji organoleptis mencakup observasi tampilan ketersediaan berupa wujud, rupa, aroma dari sabun mandi cair ekstrak etanol daun jeruk purut (Usman & Baharuddin, 2023).

Uji Homogenitas

Lakukan penimbangan sediaan sejumlah 0,1 gram dan letakkan di objek gelas, lakukan pengamatan apakah ditemukan keberadaan butiran kasar di dasar objek gelas (Usman & Baharuddin, 2023).

Uji pH

Lakukan pengenceran sediaan sejumlah 1 gram dimana aquades sampai 10 ml selanjutnya uku pH sediaan melalui penggunaan pH meter. Namun, sebelum itu dilakukan kalibrasi pada pH meter melalui penggunaan larutan dapar pH 7. Lakukan perlakuan sejumlah 3 kali (Ratna&Salasa, 2020). Syarat pengujian pH sediaan sabun cair merujuk pada SNI 4085:2017 yakni pada kisaran pH 4,0-10,0 (Rahmi, 2023).

Uji Tinggi Busa

Lakukan pelarutan sediaan sejumlah 1gram dengan aqudest 10 ml, jika telah larut maka berikutnya lakukan pengadukan melalui penggunaan magnetic stirer. Lakukan pengukuran dan pengamatan pada tinggi busa yang terbentuk. Lakukan perlakuan sebanyak 3 kali (Usman & Baharuddin, 2023).

Uji Viskositas

Lakukan pengukuran viskositas formulasi sabun cair melalui penggunaan viscometer Brookfield dengan spindle no. 4 pada kecepatan 30 rpm (Angga, Andi Maryam, Hamdi, 2024). Syarat viskositas merujuk pada SNI 06-4085 (1996) sejumlah 400-4000 mPa.s (Rahmi, 2023).

Uji Hedonik

Uji kesukaan konsumen terhadap sabun cair ekstrak daun jeruk purut dilaksanakan dengan melibatkan sepuluh panelis. Panelis diberi sampel sabun dengan tiga formula, yaitu F1, F2, dan F3, untuk menilai bentuk, bau, dan warna sabun melalui pengisian kuesioner. Syarat menjadi panelis adalah berusia minimal dua puluh tahun serta tidak memiliki riwayat penyakit kulit atau gangguan pernapasan. Selain itu, mereka tidak boleh pernah mengalami gangguan kulit seperti panu, kadas, atau kurap (Lestari *et al.*, 2020).

Uji Antibakteri Sediaan Sabun Cair

Peremajaan Bakteri

Ambil koloni tunggal yang tumbuh di media cawan melalui penggunaan jarum ose, selanjutnya inokulasikan dengan zig-zag di media miring di tabung reaksi. Lakukan proses ini dengan cara aseptik di dekat api Bunsen. Selanjutnya bungkus tabung reaksi dengan kertas dan inkubasi pada inkubator dengan durasi 24 jam (Rosmania & Yanti, 2020).

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri bisa dilaksanakan melalui teknik pewarnaan gram. Langkah awal yang perlu dilakukan yaitu membersihkan kaca objek menggunakan alkohol 96% dan lewatkan pada api Bunsen. Apabila sudah dipastikan dingin dan steril, maka selanjutnya meneteskan kultur bakteri pada objek gelas menggunakan jarum ose. Setelah itu, tetesi Gram A (Kristal violet) pada kaca preparat, biarkan selama 60 detik dan bilas dengan aquades kemudian ditiriskan. Selanjutnya tetesi Gram B (Iodium) pada kaca preparat, biarkan selama 60 detik dan bilas dengan aquades berikutnya ditiriskan. Kemudian cuci preparat dengan Gram C (Larutan alcohol-aseton) pada durasi 15-30 detik. Terakhir tetesi kaca preparat dengan Gram D (Safranin) pada durasi 60 detik, lalu bilas dan keringkan. Amati kaca preparat dengan melihat dibawah mikroskop pada perbesaran 1000x (Ibrahim *et al.*, 2017).

Pembuatan McFarland 1

Larutan standar McFarland 1 pembuatannya memakai dua komponen: larutan BaCl₂ 1,175% dan H₂SO₄ 1%. Sejumlah 0,1 mL larutan BaCl₂ 1,175% dicampur bersama 9,9 mL larutan H₂SO₄ 1%, lalu lakukan pengocokan sampai homogen. Larutan standar McFarland 1 ini memiliki nilai absorbansi yang setara dengan banyaknya sel bakteri dan kepadatan $0,3 \times 10^9$ bakteri/mL (Anatasya Pajan *et al.*, 2016).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Mengambil biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan ose ditambahkan di NaCl 0,9 % sejumlah 10 ml, homogenkan bersama vortex atau dikocok sampai bisa mendapat kekeruhan serupa dengan larutan standar *Mc farland* (Tantri Dwi Lestari *et al.*, 2025).

Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditanam di media NA melalui penggunaan metode streak plate. Ambil hasil peremajaan bakteri sejumlah satu ose dan goreskan di media NA pada cawan petri. Berikutnya aplikasikan sampel di kertas cakram steril bagi tiap-tiap formula (F0, F1, F2, F3) dan kontrol positif. Kertas cakram steril yang sudah berisikan sampel dan kontrol negatif diletakkan pada media yang telah disuspensi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Selanjutnya, dilakukan inkubasi selama 1 hari pada suhu 37°C. Lakukan pengamatan melalui pengukuran diameter zona hambat yang ada pada sekitar kertas cakram pada suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Rosmania & Yanti, 2020). Rumus perhitungan diameter zona hambat menurut Pananginan (2020), yaitu:

$$D = \frac{d1 + d2}{2} - X$$

Keterangan

d1 = diameter vertikal zona bening pada media

d2 = diameter horizontal zona bening pada media

x = diameter kertas cakram

Tabel 2. Kriteria Kekuatan Antibakteri (Kulla & Herrani, 2022).

No	Diameter Zona Hambat	Kekuatan Antibakteri
1.	>20 mm	Zona hambat sangat kuat
2.	10-20 mm	Zona hambat kuat
3.	5-10 mm	Zona hambat sedang
4.	0-5 mm	Zona hambat lemah

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman Jeruk Purut

Determinasi tanaman di UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu RSUP Dr. Sarjito. Determinasi menyatakan hasil bahwa tanaman tersebut benar tanaman daun jeruk purut.

Pengambilan Bahan dan Pembuatan Simplisia

Pengambilan daun jeruk purut diambil dari Desa Gunungsari, Madiun, Jawa Timur. Daun dipetik saat tanaman dalam kondisi sehat dan telah mencapai umur yang cukup untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder secara optimal. Waktu pengambilan yang ideal

adalah pagi hari setelah embun menguap, karena kadar air dalam daun relatif stabil dan tidak terlalu tinggi. Selain itu, daun yang dipilih yaitu yang tidak rusak, berwarna hijau segar, dan belum terlalu tua, guna memastikan efektivitasnya sebagai bahan baku.

Tanaman daun jeruk purut yang telah didapatkan kemudian dilakukan sortasi basah sebanyak 2,5 kg untuk memisahkan daun yang masih berwarna hijau dengan batangnya serta memisahkan dengan kotoran dan bahan asing yang tidak dibutuhkan. Berikutnya cuci bersama air mengalir agar hilang kotorannya, kemudian dilakukan perajangan supaya pengeringan bisa lebih cepat, dan lakukan pengeringan yaitu dengan diangin-anginkan selama 5 hari, setelah simplisia kering dilakukan sortasi kering supaya kotoran yang terlewatkan pada tahap sebelumnya bisa terpisah dan simplisia sudah kering dihaluskan dengan cara diblender sampai halus hingga didapatkan serbuk halus sebanyak 250 gram daun jeruk purut.

Pembuatan Ekstrak

Dalam penelitian ini, digunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi, karena zat aktif pada daun jeruk purut tidak tahan terhadap pemanasan. Etanol 96% dipilih karena efektif dan banyak digunakan dalam proses ekstraksi maserasi karena memiliki daya larut yang tinggi terhadap berbagai senyawa aktif. Sampel daun jeruk purut yang sudah dihaluskan di timbang sebanyak 200 gram dan di larutkan kedalam etanol 96% 2Liter dengan perbandingan (1:10) direndam selama 5 hari. Filtrat dipisahkan dari residu, kemudian dimasukkan kedalam *rotary evaporator* kemudian dilakukan pemekatan di atas *waterbath*.

Uji Kadar Air, Susut Pengeringan dan Uji Kadar Abu

Uji kadar air pada ekstrak sangat penting untuk mengetahui kestabilan dan kualitas ekstrak yang dihasilkan. Kadar air yang terlalu tinggi bisa menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme, mempercepat reaksi degradasi senyawa aktif, dan memperpendek umur simpan ekstrak. Metode yang umum digunakan adalah menggunakan alat moisture analyzer untuk memperoleh hasil yang cepat dan akurat. Menurut Kemenkes RI (2022) syarat kadar air pada ekstrak jeruk purut tidak kurang dari 18,01%. Nilai uji kadar air ekstrak daun jeruk purut 16,1%.

Uji susut pengeringan merupakan metode penting untuk menentukan kadar air dan pelarut yang masih tertinggal dalam ekstrak. Prosedur ini dilakukan dengan cara menimbang sejumlah ekstrak, kemudian dikeringkan pada suhu tertentu hingga beratnya tetap, lalu dihitung selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan. Menurut Kemenkes RI

(2022) syarat penyusutan kering ekstrak daun jeruk purut kurang dari 10%. Nilai uji susut pengeringan ekstrak daun jeruk purut 6,5%.

Uji kadar abu pada ekstrak bertujuan untuk mengetahui jumlah total mineral atau sisa anorganik yang tidak menguap setelah proses pembakaran. Proses uji dilakukan dengan membakar sejumlah ekstrak dalam cawan porselen hingga seluruh bahan organik habis terbakar dan menyisakan residu abu. Menurut Kemenkes RI (2022) syarat kadar abu pada ekstrak daun jeruk purut tidak melebihi 10,4%. Nilai uji kadar abu ekstrak daun jeruk purut 7,5%.

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia menjadi langkah awal yang krusial dalam mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak tumbuhan. Senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin memiliki aktivitas biologis yang berpotensi sebagai agen terapeutik. Proses skrining dilakukan menggunakan reagen khusus yang menghasilkan perubahan warna atau endapan sebagai indikator keberadaan senyawa tertentu. Skrining fitokimia sangat bermanfaat dalam mengevaluasi potensi ekstrak sebagai bahan obat alami.

Tabel 3. Skrining Fitokimia.

Identifikasi Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Alkaloid	Mayer	Endapan putih atau kekuningan	+
	Dragendorff	Endapan merah jingga	+
	Wagner	Endapan coklat	+
Flavonoid	Serbuk mg, Hcl	Kuning jingga atau merah	+
Tanin	FeCl ₃	warna hijau kehitaman.	+
Saponin	aquadest	Berbusa	+

Hasil skrining fitokimia ekstrak daun jeruk purut memperlihatkan munculnya kandungan ekstrak daun jeruk purut yakni senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Hasil skrining fitokimia sesuai dengan penelitian M. Pandapotan Nasution *dkk*, 2023 menegaskan bahwasanya ekstrak daun jeruk purut memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin.

Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilaksanakan melalui penambahan H₂SO₄ pekat untuk menciptakan kondisi asam. Kalium dikromat yang semula berwarna jingga akan berubah menjadi hijau kebiruan jika bereaksi dengan larutan yang mengandung etanol. Perubahan warna ini terjadi sebab ion dikromat (berwarna jingga) tereduksi menjadi ion kromium (berwarna hijau).

Pembuatan Formulasi Sabun Cair

Dalam pembuatannya, formulasi sabun cair ekstrak daun jeruk purut dibuat menjadi tiga formulasi, dengan konsentrasi ekstrak daun jeruk purut yang berbeda F1 (5%), F2 (10%) dan F3 (15%). Bahan yang digunakan pada pembuatan sabun cair yaitu Kalium Hidroksida (KOH), Carboximethyl cellulose (CMC), Sodium Laureth Sulfa (SLS), Asam Stearat, Butil Hidroxy Toluena (BHT), dan Minyak zaitun. Formulasi sabun cair dapat di lihat pada table 7.

Tabel 4. Formulasi Sabun Cair.

Bahan	Formulasi (%)			Kegunaan
	F1	F2	F3	
Ekstrak daun jeruk purut	5	10	15	Zat aktif
Kalium hidroksida	8	8	8	Alkali
Carboximethyl cellulose	0,5	0,5	0,5	Pengental
				Asam
Sodium Laureth Sulfa	0,5	0,5	0,5	Surfaktan
Asam Stearat	0,25	0,25	0,25	Zat penetral
Butil Hidroxy Toluena	0,5	0,5	0,5	Antioksidan
Minyak zaitun	15	15	15	Asam lemak
Aquadest	100	100	100	Pelarut

Lakukan penimbangan terlebih dahulu pada bahan yang dipakai berdasarkan takaran yang disarankan. Masukkan minyak zaitun sejumlah 15mL pada gelas kimia, selanjutnya tambahkan kalium hidroksida 8mL secara perlahan dengan jumlah yang sedikit sambil dipanaskan terus-menerus pada temperatur 50⁰C sampai didapar sabun pasta. Tambahkan sabun pasta dengan aquades sejumlah 15 mL kemudian masukkan CMC yang sudah dikembangkan pada aquades panas, lakukan pengadukan sampai homogen. Tambah dengan asam stearat, diaduk hingga homogen. Tambah dengan SLS, diaduk hingga homogen. Tambahkan BHA, aduk sampai homogen. Tambah aquades pada sabun cair sampai volume 100 mL, masukkan pada wadah bersih yang telah

disiapkan sebelumnya. Pembuatan sabun cair ekstrak etanol daun jeruk purut disesuaikan tiap-tiap konsentrasi. Proses saponifikasi melalui penggunaan minyak zaitun dengan basa seperti KOH yang membuat sabun cair menjadi stabil dan homogen. Bahan SLS pada sabun cair menjadi bahan penting sebagai pembusa dan pembersih, serta strukturnya dapat larut dalam minyak dan air (Usman & Baharuddin, 2023).

Evaluasi mutu Fisik Sediaan Sabun Cair Ekstrak Daun Jeruk Purut

1) Uji organoleptis

Hasil uji organoleptis menunjukkan karakteristik yang serupa pada ketiga formula sabun cair. Formula 1 (F1) menghasilkan sabun cair berwarna kekuningan dengan aroma khas daun jeruk purut dan memiliki bentuk cair. Formula 2 (F2) dan Formula 3 (F3) menghasilkan sabun cair dengan warna hijau kehitaman dengan aroma khas daun jeruk purut dan berbentuk cair. Kian tingginya konsentrasi ekstrak daun jeruk purut, warna sabun cair pun kian pekat dan aromanya tajam, serta mempengaruhi bentuk sediaan menjadi semakin cair.

2) Uji Homogenitas

Hasil pengujian homogenitas memperlihatkan bahwa seluruh formulasi sabun cair ekstrak daun jeruk purut (F1, F2, dan F3) homogen, yang berarti semua bahan tercampur sempurna tanpa adanya gumpalan.

3) Uji pH

Hasil uji pH menemukan bahwa ketiga formulasi sabun cair ekstrak daun jeruk purut mempunyai nilai pH yang mana menegaskan terpenuhinya kualifikasi SNI 4085:2017, yaitu antara pH 4,0-10,0 (Rahmi, 2023). Formula 1 mengandung pH 6,85, Formula 2 mengandung pH 7,12, dan Formula 3 mengandung pH 7,25. pH terlalu asam memicu iritasi, dimana pH terlampaui basa memicu kulit kering. Makin tinggi konsentrasi ekstrak daun jeruk purut, pH cenderung meningkat karena senyawa-senyawa dalam ekstrak bersifat asam, sejalan dengan penelitian Pandapotan, dkk (2023) yang menunjukkan peningkatan derajat keasaman seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak.

4) Uji Viskositas

Hasil uji viskositas memperlihatkan bahwa ketiga formulasi sabun cair ekstrak daun jeruk purut mempunyai viskositas yang baik, memenuhi syarat SNI 06-4085 (1996) yaitu antara 400-4000 mPa.s (Rahmi, 2023). Formula 1 memiliki viskositas 3177 mPa.s, Formula 2 memiliki viskositas 2287 mPa.s, dan Formula 3 memiliki

viskositas 1078 mPa.s. Hal tersebut sebagai bukti bahwa makin rendah konsentrasi ekstrak yang ditambah, viskositas sabun cair semakin tinggi.

5) Uji Tinggi busa

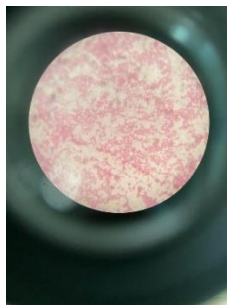
Uji tinggi busa yang mana di lakukan bahwa semakin tinggi ekstrak yang di berikan, maka akan makin banyak busa yang hasilkan. Hal tersebut sejalan dengan adanya kandungan saponin di ekstrak daun jeruk purut, jika ekstrak yang diberikan lebih banyak, maka dapat menghasilkan busa lebih banyak pada sediaan sabun cair.

6) Uji Hedonik

Uji hedonik yang telah dilakukan aspek warna pada sediaan sabun cair yang paling tinggi pada formulasi 1 dengan penambahan ekstrak 5% yang berwarna kekuningan. Aspek aroma pada sediaan sabun cair ekstrak daun jeruk purut yang paling disukai pada formulasi 3 dengan penambahan ekstrak 15%. Aspek tekstur pada sediaan sabun cair ekstrak daun jeruk purut yang paling di sukai pada formulasi dengan penambahan ekstrak 15%.

Identifikasi Bakteri

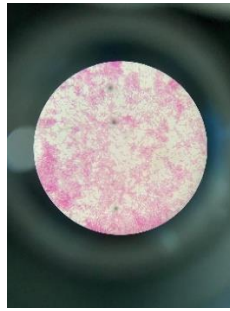
1) Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Gambar 1. Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus*

Temuan hasil kegiatan pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil bakteri berwarna ungu, berbentuk bulat yang tidak teratur, mempunyai sifat non-motil, dan tidak membentuk spora. Ciri-ciri tersebut menandakan bahwa bakteri termasuk Gram-Positif, serta memiliki beberapa karakteristik patogenik, termasuk kemampuannya untuk menyebabkan berbagai infeksi pada manusia.

2) Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922



Gambar 2. Pewarnaan gram *Escherichia coli*

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pewarnaan sederhana, dari hasil pewarnaan bakteri tersebut didapatkan hasil bakteri *Escherichia coli* yang mana bakteri tersebut berbentuk batang, koloni yang bundar, saling berpasangan (diplobasil) dan membentuk rantai pendek (streptobasil). Ciri-ciri tersebut menandakan bahwa bakteri tersebut bersifat Gram-Negatif, serta mempertegas tentang bakteri *Escherichia coli*.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut

1) Zona hambat bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922

Berdasarkan hasil uji antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sebagaimana telah dilakukan bahwa zona hambat paling besar didapat di konsentrasi ekstrak 15% didapatkan rata-rata zona hambat 12,68 mm diklasifikasikan zona hambat kuat. Studi oleh Astriani pada tahun 2021 menjelaskan bahwa ekstrak daun jeruk purut dengan konsentrasi 10% mendapatkan zona hambat sejumlah 8,11 mm pada bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi ekstrak daun jeruk purut sebesar 5% sudah bisa memicu terhambatnya pertumbuhan bakteri sebesar 5,83mm dalam kategori zona hambat sedang, serta pada konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 10% menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 6,41mm termasuk dalam kategori sedang. Semakin tinggi penambahan ekstrak daun jeruk purut, maka zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri *Escherichia coli* semakin besar. Sehingga penggunaan konsentrasi ekstrak daun jeruk purut yang lebih besar dapat menjadi pilihan yang optimal dan lebih baik untuk sediaan sabun cair yang bisa memicu terhambatnya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

2) Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pengujian pada aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut akan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mendapatu bahwa zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi ekstrak 15%, dengan rata-rata 14,83 mm. studi oleh Astriani (2021) membuktikan bahwa ekstrak daun jeruk purut konsentrasi 10% bisa memicu terhambatnya bakteri *Staphylococcus aureus* hingga 9,55 mm, yang tergolong pada kategori sedang. Konsentrasi 5% menghasilkan zona hambat rata-rata 8,50 mm, dan konsentrasi 10% menghasilkan zona hambat rata-rata 9,41 mm (kategori sedang). Maka, makin tinggi konsentrasi ekstrak daun jeruk purut, akan makin besar terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga menjadi pilihan yang baik sediaan sabun cair yang berfungsi menghambat bakteri ini.

Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair1) Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pengujian pada aktivitas antibakteri di sediaan sabun cair menggunakan tiga formula: F1 (5% ekstrak daun jeruk purut), F2 (10% ekstrak daun jeruk purut), dan F3 (15% ekstrak daun jeruk purut). Kontrol negatif (F0) adalah sediaan tanpa zat aktif, sedangkan kontrol positif menggunakan sabun cair merek X. Metode difusi cakram dipergunakan dalam menguji aktivitas antibakteri melalui pengukuran zona hambat yang tercipta di sekeliling cakram kertas. Hasilnya menunjukkan bahwa zona hambat tertinggi didapatkan di konsentrasi 15% (F3) dengan rata-rata 18,28 mm (kategori kuat). Konsentrasi 5% (F1) menghasilkan zona hambat 9,03 mm (kategori sedang), dan konsentrasi 10% (F2) menghasilkan zona hambat 15,45 mm (kategori kuat). Zona hambat yang besar ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan minyak zaitun dalam formulasi sabun cair, yang mempunyai kandungan senyawa fenolik dan vitamin E. Senyawa fenolik memiliki aktivitas antibakteri melalui pembentukan kompleks dengan protein sel, yang dapat menghambat aktivitas enzim pada bakteri (Dimpudus et al., 2017). Zona hambat pada kontrol positif (sabun cair merek X) sangat tinggi, yaitu 23,43 mm, sedangkan kontrol negatif (F0) tidak mendapat hasil zona hambat.

2) Zona hambat bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922

Pengujian aktivitas antibakteri penting guna menemukan kemampuan sabun cair yang mengandung ekstrak daun jeruk purut dalam memicu terhambatnya pertumbuhan *Escherichia coli*. Studi ini dimaksudkan untuk menentukan efektivitas konsentrasi daun

jeruk purut sebagai agen antibakteri, khususnya dalam mengatasi infeksi kulit yang disebabkan oleh *Escherichia coli*. Hasil uji memperlihatkan bahwa zona hambat tertinggi terbentuk pada sediaan sabun cair pada konsentrasi ekstrak 15%, dengan rata-rata 19,03 mm (kategori kuat). Di konsentrasi 5%, zona hambat yang dihasilkan yaitu 8,80 mm (kategori sedang), dan pada konsentrasi 10%, zona hambat adalah 17,46 mm (kategori kuat). Adanya minyak zaitun dalam formulasi sabun cair dapat berkontribusi pada zona hambat yang besar karena kandungan senyawa fenolik dan vitamin E, yang memiliki aktivitas antibakteri melalui pembentukan kompleks dengan protein sel (Dimpudus *et al.*, 2017). Kontrol positif (sabun cair merek X) menghasilkan zona hambat 23,43 mm, sementara kontrol negatif (F0) tidak menghasilkan zona hambat. Hasil studi memperlihatkan bahwa sabun cair dengan ekstrak daun jeruk purut lebih efektif dalam menghambat *Escherichia coli* dibandingkan *Staphylococcus aureus*. Formulasi F3 (15% ekstrak) menghasilkan rata-rata zona hambat terbesar pada *Escherichia coli* ($19,03 \pm 0,21$ mm), sedangkan terhadap *Staphylococcus aureus* hanya ($18,28 \pm 0,21$ mm). Perbedaan ini menunjukkan bahwa senyawa aktif didalam ekstrak daun jeruk purut, seperti flavonoid dan saponin, mampu menembus lapisan lipopolisakarida (LPS) pada *Escherichia coli*, sehingga mengganggu integritas membran dan aktivitas enzimatik di dalam sel. Meskipun bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* umumnya lebih resisten, senyawa lipofilik dari ekstrak terbukti cukup kuat untuk menembus perlindungan tersebut dan menghambat pertumbuhan bakteri secara signifikan. Secara kuantitatif dan fungsional, sabun cair dengan ekstrak daun jeruk purut lebih potensial menjadi antibakteri pada *Escherichia coli*.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan temuan, ekstrak daun jeruk purut dapat disimpulkan yaitu menunjukkan aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 pada formula 1 (5%), formula 2 (10%), dan formula 3 (15%). Zona hambat rata-rata terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 8,50 mm (5%), 9,41 mm (10%), dan 14,83 mm (15%), menunjukkan potensi antibakteri yang baik. Terhadap *Escherichia coli*, zona hambat rata-rata adalah 8,80 mm (5%), 17,46 mm (10%) dan 19,03 mm (15%). Evaluasi fisik sediaan sabun cair ekstrak daun jeruk purut memperlihatkan bahwa seluruh sediaan memenuhi standar mutu fisik yang baik, termasuk viskositas, tinggi busa, homogenitas, dan pH yang sesuai. Konsentrasi ekstrak daun jeruk purut yang paling efektif dalam menghambat kedua bakteri

adalah 15%, dengan zona hambat 18,28 mm pada *Staphylococcus aureus* dan 19,03 mm pada *Escherichia coli*. Uji statistik menunjukkan perbedaan signifikan antara kedua bakteri tersebut.

Disarankan untuk penelitian selanjutnya, membuat sediaan farmasi antibakteri dari ekstrak daun jeruk purut dengan cara fraksinasi untuk memperoleh senyawa-senyawa secara terpisah, serta melangsungkan pengujian akan aktivitas antibakteri sediaan sabun cair ekstrak daun jeruk purut pada bakteri lain.

DAFTAR REFERENSI

- Cahyaningsih, D., Ariesta, N., & Amelia, R. (2016). Pengujian parameter fisik sabun mandi cair dari surfaktan Sodium Laureth Sulfate (SLES). *Jurnal Sains Natural*, 6(1), 10–15. <https://doi.org/10.31938/jsn.v6i1.250>
- Ekhuemelo, D. O., & Ekhuemelo, C. (2021). Antibacterial activities of extracts from stem bark and sawdust of *Erythrophleum suaveolens* (Guill. & Perri.) Brenan, *Pterocarpus erinaceous* (Poir) and *Vitellaria paradoxa* Gaertn. F. *Nigerian Journal of Plant Protection*, 35(2), 62–71.
- Forestryana, D., & Arnida, A. (2020). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun jeruju (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859>
- Geofani, C., Septianingrum, N. M. A. N., & Dianita, P. S. (2022). Literature review: Efektivitas daya hambat antibakteri tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Borobudur Pharmacy Review*, 2(2), 36–49. <https://doi.org/10.31603/bphr.v2i2.6699>
- Handayani, K. Y., Rezki, A. S., Fahmi, A. G., & Saputra, I. S. (2022). Formulasi sabun cair cuci piring menggunakan ekstrak air tanaman lidah buaya (*Aloe vera* L.): Formulation of dishwashing liquid soap using the aqueous plant extract of (*Aloe vera* L.). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(2), 263–272. <https://doi.org/10.37874/ms.v7i2.314>
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2017). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 159–163. <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.29>
- Korompis, F. C., Yamlean, P. V. Y., & Lolo, W. A. (2020). Formulasi dan uji efektivitas antibakteri sediaan sabun cair ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Pharmacon*, 9(1), 30. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.27407>
- Lestari, G., Suciati, I., & Herlina, H. (2020). Formulasi sediaan sabun cair dari ekstrak daun bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* L.). *Jurnal Ilmiah Jophus: Journal of Pharmacy Umus*, 1(02), 29–36. <https://doi.org/10.46772/jophus.v1i02.135>
- Lestari, T. D., Wardani, T. S., & Rohmana, V. M. (2025). Uji efektivitas antibakteri ekstrak dan fraksi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Pengabdian Masyarakat dan Riset Pendidikan*, 3(3), 248–264. <https://doi.org/10.31004/jerkin.v3i3.389>

- Maimunah, S., Rayhana, R., & Silalahi, Y. C. E. (2020). Antibacterial activity extract of leaves of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC) against *Staphylococcus aureus* bacteria. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus*, 6(2), 129–138. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v6i2.1767>
- Mishra, R., Soti, A., Bhardwaj, R., Kulkarni, S. S., & Thompson, M. C. (2020). Transverse vortex-induced vibration of a circular cylinder on a viscoelastic support at low Reynolds number. *Journal of Fluids and Structures*, 95, 102997. <https://doi.org/10.1016/j.jfluidstructs.2020.102997>
- Najiya, U. L. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak akar jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode dilusi. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi*, 4(2), 43–53. <https://doi.org/10.52674/jkikt.v4i2.68>
- Nasution, M. P., & Milala, S. C. B. (2023). Uji antibakteri formulasi sediaan hand soap ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Health and Medical Science*, 8(1), 16–27. <https://doi.org/10.51178/jhms.v2i2.1263>
- Rahmi, A. (2023). Formulasi dan uji fisik sediaan sabun mandi cair dari ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* [L] Urb) kombinasi minyak lavender (*Lavandula angustifolia*). *SITAWA: Jurnal Farmasi Sains dan Obat Tradisional*, 2(2), 107–116. <https://doi.org/10.62018/sitawa.v2i2.43>
- Rosmania, R., & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76. <https://doi.org/10.56064/jps.v22i2.564>
- Siregar, S., Indriani, I., Rizky, V. A., Krisdianilo, V., & Marbun, R. A. T. (2020). Perbandingan aktivitas antibakteri infusa daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasimed (JFM)*, 3(1), 39–46. <https://doi.org/10.35451/jfm.v3i1.524>
- Usman, Y., & Baharuddin, M. (2023). Uji stabilitas dan aktivitas sabun mandi cair ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, 12(2), 43–49. <https://doi.org/10.35799/jm.v12i2.44775>