

STUDI KOMPARATIF AKTIVITAS ANTIBAKTERIAMINYAK ATSIRI KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) DAN KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix*) TERHADAP PERTUMBUHAN *E. coli* DAN *B. subtilis* SEBAGAI SUMBER BELAJAR BIOLOGI SMA KELAS X MATERI BAKTERI

Taufik Rahmatulloh, Sabirin Matsjeh, Trianik Widyaningrum, Destri Ratna Ma'rifah

Pendidikan Biologi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, Jl. Ringroad Selatan,

Tamanan, Banguntapan, Bantul Yogyakarta-Indonesia 55166

e-mail: taufik1600008171@webmail.uad.ac.id

ABSTRAK

Jeruk nipis dan jeruk purut mempunyai kandungan minyak atsiri yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk nipis dan purut terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* sebagai sumber belajar biologi SMA kelas X materi bakteri.

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan dan 4 perlakuan yaitu konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5%, 10% minyak atsiri jeruk nipis dan jeruk purut. Pemisahan minyak atsiri kulit jeruk nipis dan jeruk purut menggunakan metode destilasi air. Minyak atsiri kemudian ditambahkan 1 ml ke dalam suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* masing-masing 1 ml kemudian dituangkan ke media Nutrient agar padat secara aseptis. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penelitian ini disusun sebagai bahan ajar *handout* dengan menggunakan metode pengembangan ADDIE terbatas pada *Analysis*, *Design*, dan *Development* yang selanjutnya dilakukan validasi dengan pengujian dosen ahli dari dosen pendidikan biologi dan dianalisis secara kuantitatif untuk mengetahui kelayakan *handout* sebagai bahan ajar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit jeruk nipis lebih menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dibandingkan jeruk purut pada konsentrasi 10% dengan jumlah koloni pada kulit jeruk nipis bakteri *E. coli* $0,573 \times 10^{10}$ dan *B. subtilis* $0,45 \times 10^{10}$ dan pada kulit jeruk purut *E. coli* $0,807 \times 10^{10}$ dan *B. subtilis* $0,453 \times 10^{10}$. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber belajar berupa bahan ajar *handout* biologi SMA kelas X materi bakteri dengan tingkat kelayakan masing-masing validator ahli bahan ajar sebesar 81% dan ahli materi sebesar 83,3%.

Kata kunci: Jeruk nipis, Jeruk purut, Antibakteria, *E. coli*, *B. subtilis*, *handout*.

PENDAHULUAN

Jeruk nipis dan jeruk purut merupakan anggota suku rutaceae yang banyak dijumpai di Indonesia dan banyak dimanfaatkan untuk konsumsi dalam bentuk olahan minuman. Pemanfaatan jeruk nipis dan jeruk purut umumnya hanya pada daging buahnya saja, sementara kulitnya masih jarang dimanfaatkan oleh masyarakat dan dibuang begitu saja. Kulit jeruk nipis dan jeruk purut mengandung banyak senyawa esensial yang dapat dimanfaatkan diantaranya minyak atsiri, *flavonoid*, *tannin*, *saponin*, *fenol*, dan *alkanoid* Pratiwi et al. (2013) Kandungan minyak atsiri pada kulit jeruk nipis dan jeruk purut dapat dimanfaatkan sebagai antibakteria yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen, contohnya bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

Escherichia coli dan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri patogen yang umum ditemukan di saluran pencernaan manusia. Keberadaan bakteri di saluran pencernaan manusia umumnya wajar dan bersifat membantu proses pencernaan, tetapi apabila terdapat dalam jumlah yang banyak maka keberadaannya akan berubah menjadi bersifat patogen dan berpotensi menyebabkan penyakit. Berdasarkan hal tersebut, penting adanya senyawa antibakteria yang dapat digunakan untuk

menghambat aktivitas dan pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*, yaitu dengan memanfaatkan kulit buah jeruk yang banyak mengandung minyak atsiri.

Penelitian yang dilakukan oleh Wiradona et al. (2014) mengenai pengaruh perasan kulit jeruk nipis terhadap daya hambat bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa perasan kulit jeruk nipis dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 80% mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Peningkatan pemberian perasan kulit jeruk nipis berbanding lurus dengan peningkatan daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi et al. (2013) mengenai efek anti bakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Salmonella typhi* secara invitro. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan konsentrasi perasan kulit jeruk nipis 0%, 0,39%, 0,78%, 1,56%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100% semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis maka semakin menurun pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Berdasarkan uraian tersebut penelitian mengenai pemanfaatan kulit jeruk nipis dan jeruk purut sebagai antibakteria pada bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* masih belum banyak dilakukan sehingga perlu untuk dilakukan

penelitian tentang pemanfaatan minyak atsiri dalam kulit jeruk nipis dan jeruk purut sebagai antibakteria terhadap aktivitas bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis*.

Berdasarkan hal tersebut penting untuk dilakukan penelitian Studi Komparatif Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dan Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) sebagai Antibakteria terhadap Pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis* sebagai Materi Pembelajaran Biologi SMA Kelas X Materi Bakteri.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dan deskriptif . Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan perlakuan konsentrasi minyak atsiri pada pertumbuhan E. coli dan B. subtilis dengan ulangan 3 kali dan 4 perlakuan. Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* sedangkan, variabel bebas yaitu konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan kulit jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) yaitu konsentrasi 10%, 5%, 2,5% dan 1,25%. Hasil penelitian dianalisis varian (ANOVA) untuk melihat perbedaan antara perlakuan dan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). penelitian eksperimen yang diperoleh dari penelitian

kemudian dianalisis potensi secara kualitatif sebagai sumber belajar yang dikemas dalam bentuk *handout* materi bakteri untuk pesesta didik SMA kelas X.

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan.

Pelaksanaan penelitian mulai bulan Februari – Maret 2022.

PROSEDUR PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan digital, *blender*, pisau, labu destilasi, pendingin/kondensor, statif, *erlenmeyer*, kompor, *microwave*, oven, *autoclave*, petridis, gelas beker, gelas ukur, tabung reaksi, pipet ukur, ose bulat, bunsen, vortek, rak tabung reaksi, *hand counter*, inkubator, dan kamera.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi kulit jeruk jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), kulit jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*), larutan NaCl fisiologis, NA agar, aquades, kapas, korek api, label, kertas payung, aluminium foil, plastik, tisu dan alkohol 70%.

Cara Kerja

1. Pemisahan Minyak Atsiri

Kulit jeruk nipis dan jeruk purut yang sudah kering ke,udian diblender ditimbang

sebanyak 150 gram dan dimasukkan ke dalam labu leher, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 200 mL. Peralatan destilasi air dirangkai, dengan menambahkan tabung pendingin. Setelah dilengkapi dengan pendingin dan termometer. Dilakukan pemanasan sampai air menguap. Proses destilasi air dijalankan sampai minyak atsiri kulit jeruk dan air terkondensasi di dalam tabung pendingin dan cairan air bercampur minyak atsiri ditampung dalam elemeyer. Selama proses destilasi volume air dijaga konstan dengan penambahan air sedikit demi sedikit. Distilat ditampung, dan ditambahkan NaCl untuk memudahkan proses pemisahan minyak atsiri dan air. Fase air dan minyak kulit jeruk dipisahkan dengan menggunakan corong pemisah. Minyak atsiri yang sudah terpisah ditambahkan Na_2SO_4 untuk menghilangkan air di dalam minyak. Kemudian Na_2SO_4 dipisahkan dari fase minyak dengan corong biasa yang dilengkapi dengan kertas saring.

2. Pembuatan Konsentrasi Minyak Atsiri

Untuk menyatakan komposisi larutan secara kuantitatif digunakan Konsentrasi 10 % = 1 mL minyak atsiri : 9 mL eter. Konsentrasi 5% = 0,5 mL minyak atsiri : 9,5 mL eter. Konsentrasi 2,5% = 0,25 mL minyak atsiri : 9,75 mL eter. Konsentrasi 1,25 % = 0,125 mL minyak atsiri : 9,875 mL eter.

3. Pembuatan Media

Nutrient agar (NA) sebanyak 2,25 gr ditimbang kemudian di larutkan kedalam aquades sebanyak 100 ml. Larutan PCA dimasukan kedalam erlenmeyer 250 ml kemudian di masak menggunakan *microwave* selama ± 20 menit. Setelah itu, erlenmeyer disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 45 menit dengan suhu 121°C . Setelah proses sterilisasi selesai media diangkat dan dinginkan. Larutan PCA di masukan kedalam petridis menggunakan metode tuang (*pour*).

4. Inokulum bakteri

Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* biakan murni di ambil menggunakan jarum ose bulat steril. bakteri yang telah di ambil disuspensi ke dalam tabung reaksi yang berisikan 10 ml larutan NaCl 0,9 %. Bakteri didiamkan selama 1 x 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C hingga mendapatkan kekeruhan. Kekeruhan yang didapatkan disetarakan dengan Mc farland 0,5 yang setara dengan jumlah pertumbuhan $1,5 \times 10^8$ CFU / ml.

5. Uji Aktivasi Bakteri

Media NA yang telah diseterilkan dituang ke dalam cawan petri, kemudian di diamkan di suhu ruangan hingga mengeras.

Masing –masing inokulum bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* disebar ke dalam cawan petri sebanyak 1 mL menggunakan pipet ukur 1 mL. Kemudian konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis dan kulit jeruk purut sebesar 10%, 5%, 2,5%, 1,25% dimasukkan ke dalam media NA yang telah berisikan inokulum bakteri, pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan pada tiap konsentrasi. Media yang telah diberi perlakuan kemudian diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Setelah dilakukan inkubasi jumlah koloni yang terbentuk dihitung, dengan prinsip satu sel bakteri hidup bila dibiakkan pada media padat akan tumbuh menjadi 1 koloni bakteri Ulfayani & Alfi (2019).

6. Uji Aktivasi Bakteri

Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* biakan murni di ambil menggunakan jarum ose bulat steril dengan metode *streak* kemudian di diamkan selama kurang 1X 24 jam sehingga mendapat kekeruhan, kekeruhan yang didapatkan disetrakan dengan larutan setandr Mc farlan 0,5 yang setara dengan pertumbuha 1,5 x 10⁸ CFU / ml. Masing masing minyak atsiri kulit jeruk nipis dan kulit jeruk purut dengan konsentrasi 10%, 5%, 2,5% dan 1,25% ditambahkan sebanyak 1 mL ke dalam

suspensi bakteri (*E.coli* dan *B.subtillis*) masing-masing 0,1 ml. Selanjutnya di tuangkan ke

media lalu di ratakan dengan drigalski.

Pengujian dilakukan

pengulangan sebanyak 3 kali.

Diinkubasi pada suhu pada suhu 37⁰C selama 24 jam di dalam inkubator.

7. Perhitungan Bakteri

Jumlah koloni dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{\text{Jumlah koloni per cawan petri} \times 1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Keterangan:

N : jumlah koloni produk (mL/ gram)

Faktor pengenceran : pengenceran x jumlah yang ditumbuhkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Perhitungan minyak atsiri kulit jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*

a. Perhitungan total bakteri *Escherichia coli* pada jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) tabel 1.

Waktu	Perlakuan	Total Bakteri	Jumlah	Rata-rata
24 Jam	Kontrol/ +	0,01 X10 ¹⁰	0,03 X 10 ¹⁰	0,01 X10 ¹⁰
	Kontrol/ +	0,01 X10 ¹⁰		
	Kontrol/ +	0,01 X10 ¹⁰		
	Kontrol/-	1,73 X10 ¹⁰	5,62X10 ¹⁰	1,70 X10 ¹⁰
	Kontrol/-	2,01 X10 ¹⁰		
	Kontrol/-	1,88 X10 ¹⁰		
	N.E ₁ U ₁ /10	0,88 X10 ¹⁰	1,72 X10 ¹⁰	0,573 X10 ¹⁰
	N.E ₁ U ₂ /10	0,27 X10 ¹⁰		
	N.E ₁ U ₃ /10	0,57 X10 ¹⁰		
	N.E ₂ U ₁ /5	1,01 X10 ¹⁰	2,84 X10 ¹⁰	0,947 X10 ¹⁰
	N.E ₂ U ₂ /5	0,86 X10 ¹⁰		
	N.E ₂ U ₃ /5	0,97 X10 ¹⁰		
	N.E ₃ U ₁ /2,5	1,30 X10 ¹⁰	3,87 X10 ¹⁰	1,29 X10 ¹⁰
	N.E ₃ U ₂ /2,5	1,11 X10 ¹⁰		
	N.E ₃ U ₃ /2,5	1,46 X10 ¹⁰		
	N.E ₄ U ₁ /1,2	1,37 X10 ¹⁰	5,10 X10 ¹⁰	1,873 X10 ¹⁰
N.E ₄ U ₂ /1,25	1,74 X10 ¹⁰			
N.E ₄ U ₃ /1,25	1,99 X10 ¹⁰			

b. Total bakteri *Bacillus subtilis* pada penambahan minyak atsiri kulit jeruk napes (*Citrus aurantifolia*) tabel 2.

Waktu	Perlakuan	Total Bakteri	Jumlah	Rata-rata
24 Jam	Kontrol/ +	0	0,02 X10 ¹⁰	0,007 X10 ¹⁰
	Kontrol/ +	0,01 X10 ¹⁰		
	Kontrol/ +	0,01 X10 ¹⁰		
	Kontrol/-	1,00 X10 ¹⁰	2,73 X10 ¹⁰	0,91 X10 ¹⁰
	Kontrol/-	0,74 X10 ¹⁰		
	Kontrol/-	0,99 X10 ¹⁰		
	N.B ₁ U ₁ /10	0,39 X10 ¹⁰	0,81 X10 ¹⁰	0,27 X10 ¹⁰
	N.B ₁ U ₂ /10	0		
	N.B ₁ U ₃ /10	0,42 X10 ¹⁰		
	N.B ₂ U ₁ /5	0,27 X10 ¹⁰	1,11 X10 ¹⁰	0,37 X10 ¹⁰
	N.B ₂ U ₂ /5	0,48 X10 ¹⁰		
	N.B ₂ U ₃ /5	0,36 X10 ¹⁰		
	N.B ₃ U ₁ /2,5	0,47 X10 ¹⁰	1,59 X10 ¹⁰	0,53 X10 ¹⁰
	N.B ₃ U ₂ /2,5	0,46 X10 ¹⁰		
	N.B ₃ U ₃ /2,5	0,66 X10 ¹⁰		
	N.B ₄ U ₁ /1,2	0,54 X10 ¹⁰	2,66 X10 ¹⁰	0,753 X10 ¹⁰
N.B ₄ U ₂ /1,25	0,84 X10 ¹⁰			
N.B ₄ U ₃ /1,25	0,88 X10 ¹⁰			

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat dilihat pada tabel 1 dan 2 minyak atsiri kulit jeruk nipis menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* di tunjukan dengan penurunan jumlah koloni bakteri. Hasil rata – rata jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yaitu konsentrasi 10% berjumlah 0,573 X10¹⁰, konsentasi 5% berjumlah 0, 947 X10¹⁰, konsentasi 2,5% berjumlah 1,29 X10¹⁰, konsentasi 1,25% berjumlah 1,873 X10¹⁰ dapat di lihat pada Tabel 1. Hasil rata – rata jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* yaitu konsentasi 10% berjumlah 0 , 27 X10¹⁰ , konsentasi 5% berjumlah 0 , 37 X10¹⁰, konsentasi 2,5% berjumlah 0,53 X10¹⁰, konsentasi 1,25% berjumlah 0,753 X10¹⁰ dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil yang di dapat dari kedua bakteri tersebut daya hambat pertumbuhan paling maksimal pada konsentrasi 10% yaitu jumlah rata- rata bakteri 0,573 X10¹⁰ untuk bakteri *Escherichia coli* dan jumlah rata- rata bakteri 0,27 X10¹⁰ untuk bakteri *Bacillus subtilis*, hal ini di karenakan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula aktivitas antibakteri yang dihasilkan Ariyanti et al. (2012). dapat dilihat dari daya hambat pertumbuhan paling rendah ada pada konsentrasi 1,25% dengan jumlah rata- rata bakteri 1,873 X10¹⁰

untuk bakteri *Escherichia coli* dan jumlah rata-rata bakteri $0,753 \times 10^{10}$ untuk bakteri *Bacillus subtilis* pada gambar 7 dan 9 terdapat penurunan jumlah koloni pada setiap peningkatan konsentrasi.

2. Hasil Perhitungan minyak atsiri kulit jeruk purut terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*

a. Total Bakteri *Escherichia coli* pada Penambahan Minyak atsiri Kulit Jeruk Purut tabel 3.

Waktu	Perlakuan	Total Bakteri	Jumlah	Rata-rata
24 Jam	Kontrol/+	$0,01 \times 10^{10}$	$0,02 \times 10^{10}$	$0,0066 \times 10^{10}$
	Kontrol/+	0×10^{10}		
	Kontrol/+	$0,01 \times 10^{10}$		
	Kontrol/-	$2,04 \times 10^{10}$	$4,79 \times 10^{10}$	$1,597 \times 10^{10}$
	Kontrol/-	$1,87 \times 10^{10}$		
	Kontrol/-	$0,88 \times 10^{10}$		
	P.E ₁ U ₁ /10	$0,93 \times 10^{10}$	$2,42 \times 10^{10}$	$0,807 \times 10^{10}$
	P.E ₁ U ₂ /10	$0,63 \times 10^{10}$		
	P.E ₁ U ₃ /10	$0,86 \times 10^{10}$		
	P.E ₂ U ₁ /5	$0,37 \times 10^{10}$	$2,89 \times 10^{10}$	$0,963 \times 10^{10}$
	P.E ₂ U ₂ /5	$0,85 \times 10^{10}$		
	P.E ₂ U ₃ /5	$1,67 \times 10^{10}$		
	P.E ₃ U ₁ /2,5	$1,06 \times 10^{10}$	$4,66 \times 10^{10}$	$1,553 \times 10^{10}$
	P.E ₃ U ₂ /2,5	$1,73 \times 10^{10}$		
	P.E ₃ U ₃ /2,5	$1,87 \times 10^{10}$		
	P.E ₄ U ₁ /1,25	$1,31 \times 10^{10}$	$4,60 \times 10^{10}$	$1,533 \times 10^{10}$
	P.E ₄ U ₂ /1,25	$1,62 \times 10^{10}$		
	P.E ₄ U ₃ /1,25	$1,67 \times 10^{10}$		

b. Total bakteri *Bacillus subtilis* pada penambahan minyak atsiri kulit purut (*Citrus hystrix* DC.) tabel 4.

Waktu	Perlakuan	Total Bakteri	Jumlah	Rata-rata
24 Jam	Kontrol/+	0	$0,01 \times 10^{10}$	$0,033 \times 10^{10}$
	Kontrol/+	$0,01 \times 10^{10}$		
	Kontrol/+	0		
	Kontrol/-	$1,03 \times 10^{10}$	$3,40 \times 10^{10}$	$1,133 \times 10^{10}$
	Kontrol/-	$0,75 \times 10^{10}$		
	Kontrol/-	$1,62 \times 10^{10}$		
	P.B ₁ U ₁ /10	$0,51 \times 10^{10}$	$1,36 \times 10^{10}$	$0,453 \times 10^{10}$
	P.B ₁ U ₂ /10	$0,51 \times 10^{10}$		
	P.B ₁ U ₃ /10	$0,34 \times 10^{10}$		
	P.B ₂ U ₁ /5	$1,75 \times 10^{10}$	$2,96 \times 10^{10}$	$0,987 \times 10^{10}$
	P.B ₂ U ₂ /5	$0,63 \times 10^{10}$		
	P.B ₂ U ₃ /5	$0,58 \times 10^{10}$		
	P.B ₃ U ₁ /2,5	$1,07 \times 10^{10}$	$2,99 \times 10^{10}$	$0,997 \times 10^{10}$
	P.B ₃ U ₂ /2,5	$0,90 \times 10^{10}$		
	P.B ₃ U ₃ /2,5	$1,02 \times 10^{10}$		
	P.B ₄ U ₁ /1,2	$1,04 \times 10^{10}$	$1,90 \times 10^{10}$	$0,95 \times 10^{10}$
	P.B ₄ U ₂ /1,2	Spreader		
	P.B ₄ U ₃ /1,2	$0,86 \times 10^{10}$		

Pada tabel 3 aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk purut mendapatkan hasil rata – rata jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yaitu dengan konsentrasi 10% dengan jumlah rata – rata $0,807 \times 10^{10}$, konsentrasi 5% jumlah rata – rata $0,963 \times 10^{10}$, konsentrasi 2,5% jumlah rata –rata $1,553 \times 10^{10}$, konsentrasi 1,25% dengan rata –rata $1,533 \times 10^{10}$ dapat di lihat pada Tabel 4. Hasil rata- rata jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 10% jumlah rata – rata $0,45 \times 10^{10}$, konsentrasi

5% jumlah rata –rata $0,987 \times 10^{10}$, konsentrasi 2,5% jumlah rata – rata $0,997 \times 10^{10}$, konsentrasi 1,25% jumlah rata- rata $0,95 \times 10^{10}$ dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan hasil penelitian Wibaldus et al. (2016) kandungan minyak atsiri kulit jeruk Nipis Rendemen minyak atsiri yang diperoleh sebesar 0,23% (b/b). Hasil identifikasi GC-MS menunjukkan bahwa minyak atsiri jeruk Nipis mengandung 5 senyawa mayor yaitu limonen (26,04%), - citral (10,40%), -pinen (18,84%), Citral (13,09%), dan -phellandren (6,29%) dan hasil penelitian dari Noverita et al. (2014) kandungan minyak atsiri kulit jeruk purut rendemen 0,5%. Hasil analisis menggunakan GC-MS menunjukkan bahwa minyak jeruk purut mengandung beberapa senyawa utama (citronella 14,18%, cyclohexene 10,10%, β -citronella 8,54%, beta phellandrene 4,47%, citronellyl acetate 1,95%). Dapat dilihat dari kedua penelitian tersebut kandungan senyanya minyak atsiri kulit jeruk nipis lebih tinggi dari minyak atsiri ulit jeruk purut sehingga minyak atsiri kulit jeruk nipis lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* Berdasarkan hasil yang didapat dari kedua bakteri tersebut dapat dilihat bahwa aktifitas antibakteri maksimal pada konsentrasi 10% dengan jumlah koloni rata-rata $0,807 \times 10^{10}$ untuk bakteri

Escherichia coli dan jumlah koloni rata–rata $0,45 \times 10^{10}$ untuk bakteri *Bacillus subtilis*.

Minyak atsiri kulit jeruk nipis dan jeruk purut dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena di dalam minyak atsiri tersebut terdapat kandungan senyawa fenolat yang bersifat hidrofobik dan dapat membelah lapisan lemak pada membran sel bakteri dan mitokondria yang membuat sel rusak, sehingga bakterinya mati. Hal ini kemudian membuat kebocoran luas dari sel bakteri yang berujung pada kematian sel. Putri et al. (2021).

Hasil penelitian studi komparatif aktivitas antibakteria minyak atsiri kulit jeruk nipis dan kulit jeruk purut terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* menunjukkan perbedaan hasil jumlah rata –rata koloni bakteri di setiap konsentrasi. Minyak atsiri yang paling aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* yaitu minyak atsiri kulit jeruk nipis. Pada konsentrasi 10% dengan perbandingan bakteri *Escherichia coli* pada minyak atsiri kulit jeruk nipis dengan jumlah rata – rata koloni bakteri $0,573 \times 10^{10}$ dengan minyak atsiri kulit jeruk purut dengan jumlah rata – rata koloni bakteri $0,807 \times 10^{10}$. Pada bakteri *Bacillus subtilis* dengan minyak atsiri kulit jeruk nipis dengan jumlah rata – rata koloni bakteri $0,27 \times 10^{10}$ dibandingkan dengan minyak atsiri kulit jeruk purut dengan

jumlah rata – rata koloni bakteri 0,453 X10⁶. Berdasarkan hasil perbandingan tersebut minyak atsiri kulit jeruk nipis mempunyai daya hambat pertumbuhan bakteri lebih aktif di bandingkan dengan minyak atsiri kulit jeruk purut.

3. HASIL PENELITIAN DIGUNAKAN SEBAGAI SUMBER BELAJAR

Hasil penelitian dapat digunakan sebagai sumber belajar yang dikemas dalam bentuk *handout* karena sesuai pada mata pelajaran biologi SMA kelas X materi bakteri. Pembuatan *handout* aktivitas antibakteria minyak atsiri kulit jeruk nipis dan kulit jeruk purut terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dilakukan 3 tahapan yaitu *analysis*, *design* dan *development* (ADDIE) yaitu sebagai berikut:

a. Tahap analisis (*analysis*)

Tahapan analisis bertujuan untuk mengidentifikasi kemungkinan penyebab dari masalah yang muncul dan untuk mengetahui kebutuhan yang mendasar bagi peserta didik. Berikut hal hal yang dilakukan pada tahapan analisis :

- 1) Analisis kebutuhan sekolah, kegiatan pada tahapan ini bertujuan untuk mengetahui bahan ajar apa saja yang digunakan disekolah dan yang dibutuhkan oleh peserta didik.
- 2) Analisis kurikulum, pada tahapan ini bertujuan untuk mengetahui kurikulum

apa yang digunakan sekolah, dan untuk mengetahui kompetensi inti, kompetensi dasar dan mengetahui materi materi apa saja yang dapat dicantumkan pada proses pembuatan bahan ajar.

- 3) Analisis potensi bahan ajar, setelah mengetahui kurikulum yang digunakan sekolah langkah selanjutnya menetapkan tujuan pembelajaran berdasarkan kompetensi inti dan kompetensi dasar materi bakteri yang sesuai dengan kurikulum.

b. Tahap Desain (*Design*)

Pada tahap desain dilakukan 4 perancangan dalam sebuah *handout* yaitu:

- 1) Sampul (cover), sampul terbuat dari kertas yang berkualitas bagus dan tebal dari pada isi *handout*
- 2) Bagian selanjutnya setelah cover terdapat halaman judul, kata pengantar, kompetensi dasar, indikator pencapaian kompetensi, tujuan, dan petunjuk penggunaan.
- 3) Pada bagian isi memuat materi materi pendukung terkait materi bakteri kemudian di padupadankan dengan materi dan informasi dari hasil penelitian.
- 4) Pada bagian penutup *handout* terdapat evaluasi bagi siswa dan daftar pustaka.

c. Tahapan Pengembangan (Development)

Pada tahapan ini *handout* dikembangkan sesuai dengan desain yang telah ditetapkan sebelumnya. Langkah langkah pada pengembangan *handout* yaitu :

- 1) *Handout* dicetak dengan ukuran kertas A4
- 2) *Handout* di validasi oleh validator Pendidikan Biologi untuk menilai rancangan dan penyusunan *Handout* layak atau tidak apabila di gunakan sebagai bahan ajar biologi kelas X pada materi bakteri.

Validator memberikan penilaian terhadap bahan ajar *Handout* berdasarkan parameter yang terdapat pada 46 lembar validasi. Hasil validasi bahan ajar (*handout*) yang dilakukan oleh dua orang ahli (validator). Hasil validasi bahan ajar *handout* dianalisis menggunakan langkah langkah sebagai berikut :

- 1) Validator memberikan skor untuk setiap point pernyataan instrumen dengan pilihan jawaban berikut :

Tabel 5. Skala Likert

Penilaian	Skor
Sangat setuju (SS)	4
Setuju (S)	3
Tidak setuju (TS)	2
Sangan tidak setuju (STS)	1

- 2) Peneliti menjumlahkan skor total untuk semua indikator yang telah dinilai tim validator.

- 3) Memberikan persentase (%) penilaian dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Nilai Total} = \frac{\text{Jumlah skor yang diperoleh}}{\text{Jumlah skor maksimal}} \times 10$$

- 4) Persentase penilaian yang diperoleh diinterpretasikan kedalam kategori tingkat kevalidan sebagai berikut :

Tabel 6. Presentasi penilaian

No	Nilai	Kategori Kevaliditas
1	85,1%-100%	Sangat valid, dapat digunakan tanpa revisi
2	70,1%-85%	Cukup valid, dapat digunakan namun perlu revisi
3	50,1% - 70%	Kurang valid, disarankan tidak digunakan karena perlu revisi besar
4	0,1%-50%	Tidak valid, tidak boleh digunakan

Tabel 7. hasil penilaian produk validator 1.

No	Aspek komponen	Persentase	Kategori
1	Kelayakan isi	75 %	Cukup valid
2	Penyajian materi	91 %	Sangat valid
3	Kebahasaan	70%	Kurang valid
4	Kegrafisan	66%	kurang valid
	Rata rata	81 %	Cukup valid

Berdasarkan hasil tabulasi validator pertama yang memahami keilmuan bahan ajar (*handout*). Diketahui bahwa rata rata dari hasil validasi bahan ajar *handout* studi komparatif minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* memperoleh nilai 75,5 % yang menunjukkan bahwa *handout* tersebut dikategorikan cukup.

Tabel 8. hasil penilaian produk validator 2.

No	Aspek komponen	Persentase	Kategori
1	Kelayakan isi	75%	Cukup valid
2	Penyajian materi	91,6 %	Sangat valid
3	Kebahasaan	75%	cukup valid
4	Kegrafisan	91,6%	Sangat valid
	Rata rata	83,3 %	Cukup valid

Berdasarkan hasil tabulasi validator kedua yang memahami keilmuan terkait materi bakteri (*handout*). Diketahui bahwa rata rata dari hasil validasi bahan ajar *handout* studi komparatif minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* memperoleh nilai 83,3 % yang menunjukkan bahwa *handout* tersebut dikategorikan cukup valid.

Berdasarkan penilaian yang diberikan oleh kedua validator dan perbaikan yang telah dilakukan, maka *handout* studi komparatif aktivitas antibakteria minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *B. subtilis* layak digunakan sebagai bahan ajar biologi SMA kelas X pada materi bakteri. *Handout* yang disusun diharapkan mampu meningkatkan minat siswa untuk belajar. Menurut Rozalia et al. (2018) penggunaan bahan ajar *handout* dapat memberikan suasana belajar menjadi lebih bermakna, sehingga siswa tidak hanya terpaku oleh penjelasan guru dan buku paket yang digunakan sehari hari di sekolah, dan membuat siswa lebih bebas menggali pengetahuannya sendiri.

KESIMPULAN

Minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) bisa dijadikan antibakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi maksimal 10 %. Minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) lebih aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dibandingkan dengan minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*). Hasil penelitian dapat digunakan sebagai bahan ajar *handout* biologi SMA kelas X materi bakteri dengan tingkat kelayakan dari masing – masing validator ahli bahan ajar sebesar 81%, dan ahli materi sebesar 82,15%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrianto P, Jimmy P, & P.S. Anindita. (2016). Uji daya hambat ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal E-GiGi (EG)*, 4(2).
- Ariyanti, N., Kadek, D. I. B. G., & Sudriga, S. K. (2012). Daya Hambat Ekstra Kulit Lidah Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis Miller*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphelococcus aerus* ATCC 25923 dan *Eschericia coli* ATCC 25922. *Jurnal Biologi*, 16(1), 1–1.
- Fardiaz, S. (1989). *Mikrobiologi Pangan*. IPB.
- Nofiyanti, Z., & Nurtjahyani, Sd. (2017). Pengembangan Handout Biologi Berbentuk Katalog Disertai Gambar Berwarna Pada Materi Sistem Pernapasan. *Proceeding Biology Education Conference*, 1(1), 2302–0733.
- Noverita, Jayuska, A., & Alimuddin, A. H. (2014). Uji Aktivitas Antirayap Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Cytrus Hystrix D.C*) Terhadap Rayap Tanah (*Coptotermes Sp*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3(2).
- Pratiwi, D., Suswati, I., & Abdullah, M. (2013). Efek Anti Bakteri Ekstrak

- Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Terhadap *Salmonella Typhi* Secara In Vitro. *J Kesehatan Andalas*, 2(1), 05. *Kesehat Gigi.*, 1(1), 20–27.
- Putri, I. A., Fatimura, M., Husnah, & Bakrie, M. (2021). Pembuatan Minyak Atsiri Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*) Dengan Menggunakan Metode Distilasi Uap Langsung. *Jurnal Redoks Universitas PGRI Palembang*, 6(2).
- Ulfayani, M., & Alfi, sapitri. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sereh Wangi (*Cymbopogon Nardus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans*. *KLOROFIL*, 3(2), 15–19.
- Wibaldus, Afghani, J., & Puji, A. (2016). bioaktivitas minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*citrus aurantifolia*) terhadap rayap tanah (*Coptotermes sp.*). *JKK*, 5(1), 44–51.
- Wiradona, I., Suwarsono, Zakiyatul, & Novi Anna. (2014). Pengaruh Perasan Kulit Jeruk Nipis Terhadap Daya Hambat Bakteri *Streptococcus Mutans*. . *J*