

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL EKSTRAK ETANOL BUAH JERUK KINGKIT (*Triphasia trifolia*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Escherichia coli*

TEST OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NANOPARTICLES OF ETHANOL EXTRACT OF ORANGE FRUIT (*TRIPHASIA TRIFOLIA*) ON THE INHIBITORY POWER OF *ESCHERICHIA COLI* BACTERIA

Novita Herdiana ^{1*}, Okta Inggil Lestari ², Dewi Sartika ³, Neti Yuliana ⁴, Veronica Wanniatie ⁵

¹²³⁴⁵ Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung

* penulis korespondensi: novitaherdiana1976@gmail.com

Tanggal masuk: 2 Februari 2026

Tanggal diterima: 2 Mei 2026

Abstract

Escherichia coli is a bacterium that belongs to the group of gram-negative bacteria that has pathogenic properties. To reduce *e. coli* contamination in the body, you can use natural ingredients made from citrus fruits. Kingkit oranges contain active substances that can reduce *e. coli* contamination. The kingkit orange fruit is extracted, followed by the formation of nanoparticles. The formation of nanoparticles through the ionic gelation method using chitosan polymer and sodium tripolyphosphate (NaTPP). This study aims to determine the antibacterial activity of nanoparticles of ethanol extract of kingfruit citrus fruit against the inhibition of *Escherichia coli* bacteria. This research was conducted using three different concentrations of chitosan, namely 0.10%, 0.50%, and 1.25%. The data obtained were analyzed using the RAL analysis of variance, and further tests were carried out using the BNT test at the 5% level. The results showed that nanoparticles of ethanol extract of kingkit oranges could inhibit the growth of *e. coli* with an inhibition zone diameter of 10.71 mm with moderate antibacterial activity. The best concentration of nanoparticles of ethanol extract of kingkit oranges to reduce the growth of *Escherichia coli* was at a concentration of 0.50%. At the real level of 5%.

Keywords: Antimicrobial, Inhibition, *E. coli*, Nanoparticles, Kingkit Fruit

Abstrak

Escherichia coli merupakan bakteri yang termasuk kedalam golongan bakteri gram negatif yang memiliki sifat patogen. Untuk menurunkan cemaran *e. coli* di dalam tubuh dapat menggunakan bahan alami yang terbuat dari buah jeruk kingkit. Buah jeruk kingkit memiliki kandungan zat aktif yang dapat menurunkan cemaran *e. coli*. Buah jeruk kingkit diekstrak dan dilanjutkan dengan pembentukan nanopartikel. Pembentukan nanopartikel melalui metode gelasi ionik dengan menggunakan polimer kitosan dan natrium tripolifosfat (NaTPP). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit terhadap daya hambat bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan menggunakan 3 konsentrasi kitosan yang berbeda yaitu 0.10%, 0.50%, dan 1.25%. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan sidik ragam RAL dan dilakukan uji lanjut menggunakan uji BNT taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit mampu menghambat pertumbuhan *e. coli* dengan diameter zona hambat sebesar 10,71 mm dengan aktivitas antibakteri sedang. Konsentrasi terbaik nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit untuk menurunkan pertumbuhan *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 0,50% pada taraf nyata 5 %.

Kata kunci: Antimikroba, Daya hambat, *E. coli*, Nanopartikel, Buah jeruk kingkit



Lisensi

Ciptaan disebarluaskan di bawah Lisensi Creative Commons Atribusi-BerbagiSerupa 4.0 Internasional.

PENDAHULUAN

Escherichia coli adalah salah satu bakteri koliform yang masuk ke dalam famili *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* itu sendiri merupakan jenis bakteri enterik atau bakteri yang dapat hidup dan bertahan di dalam saluran pencernaan. *Escherichia coli* berbentuk batang serta bersifat Gram-negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan merupakan flora alami pada saluran pencernaan manusia (Hainil et al., 2021). *E. coli* patogen pertama kali teridentifikasi sebagai penyebab diare pada tahun 1935. Pada beberapa tahun belakangan ini, temuan berupa informasi keracunan pangan yang diakibatkan oleh bakteri *E. coli* meningkat dengan pengaruh yang signifikan terhadap kesehatan.

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* bisa ditangani dengan beberapa cara, salah satunya yaitu dengan menggunakan obat antibiotik. Penggunaan obat antibiotik dalam jangka panjang akan menyebabkan masalah pada kesehatan tubuh. Penggunaan antibakteri berbahan dasar alami menjadi salah satu upaya untuk menurunkan angka resistensi antibiotik (Azah et al., 2020). Salah satu tanaman yang berpotensi adalah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*). Tanaman ini diketahui mengandung minyak atsiri yang memiliki aktivitas antibakteri dan berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *E. Coli* (Hardisto dan Tjandra, 2019). Pemanfaatan buah jeruk kingkit dalam bentuk nanopartikel ekstrak etanol diharapkan dapat meningkatkan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit tersebut. Sejalan dengan hal tersebut, dibutuhkan antibakteri alternatif yang terbuat dari bahan alami untuk mengatasi infeksi akibat bakteri *E. coli* tersebut. Salah satu pengobatan yang dapat dicoba untuk meminimalisir penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* yakni dengan memanfaatkan buah jeruk kingkit yang dibuat menjadi nanopartikel ekstrak etanol jeruk kingkit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Sebagian besar tanaman obat yang hanya diekstrak dalam proses pembuatannya akan menunjukan aktivitas yang kurang optimal karena banyak senyawa bioaktifnya bersifat kurang larut, yang berdampak pada rendahnya bioavailabilitas (Yadav et al., 2020). Hal ini yang menyebabkan kurangnya penyerapan fungsi berbagai komponen aktif yang terdapat dalam tanaman obat, dengan kondisi tersebut maka perlu konsumsi obat secara berulang dan dengan dosis yang cukup besar untuk mendapatkan fungsi yang optimal (Adila et al., 2013). Salah satu solusinya dengan melakukan rekayasa nanoteknologi pada ekstrak komponen bioaktif tanaman obat. Metode nanoteknologi bertujuan untuk mengecilkan ukuran partikel dan memperluas permukaan obat sehingga memudahkan obat untuk menyebar di dalam darah (Martien et al., 2012).

Nanopartikel dianggap sebagai agen pembawa obat yang baik karena memiliki ukuran yang kecil, serta memiliki sifat fisik dan kimia yang berbeda sehingga berbagai senyawa kimia dapat dengan mudah melekat (Raj et al., 2015).



Nanopartikel merupakan partikel koloid dengan rentang ukuran 10-1000 nm. Polimer yang digunakan untuk pembentukan nanopartikel salah satunya adalah kitosan dan Na-TPP (Natrium Tripolifosfat). Muatan positif gugus amina kitosan berinteraksi dengan muatan negatif TPP (Raj et al., 2015). untuk membentuk kompleks dengan ukuran dalam rentang nanopartikel (Kafshgari et al., 2011) Kitosan mempunyai sifat spesifik yaitu adanya sifat bioaktif, biokompatibel, pengkelat, antibakteri dan dapat terbiodegradasi (Martien et al., 2012). Dalam bentuk mikro/nanopartikel, kitosan mempunyai banyak keunggulan yakni stabil selama penggunaan, luas permukaan yang tinggi, dapat dijadikan matriks untuk berbagai jenis obat (Agnihotri et al., 2004). Salah satu metode yang digunakan untuk pembuatan nanopartikel adalah dengan gelasi ionik. Kitosan mempunyai muatan positif yang kuat yang dapat mengikat muatan negatif dari senyawa lain atau berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena sifat utamanya adalah antibakteri (Suherman et al, 2018).

Penelitian tentang uji daya hambat nanopartikel ekstrak buah jeruk kingkit terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* masih cukup langka, sehingga dilakukan penelitian ini untuk melihat efektivitas daya hambat nanopartikel ekstrak buah jeruk kingkit sebagai antimikroba alami terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu buah jeruk kingkit matang berwarna merah yang diperoleh dari daerah Liwa, Lampung Barat, aquades, etanol 96%, asam asetat 2%, Kitosan dan Natrium Tripolifosfat (NaTPP), media Nutrient Agar, dan Bakteri *Escherichia coli*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu *rotary evaporator*, *magnetic stirrer*, neraca analitik, loyang, oven, *powder grinder*, *blender*, *hotplate*, *densitometer*, cawan petri, ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vortex, bunsen, autoklaf, inkubator, mikropipet, jangka sorong, erlenmeyer, pipet tetes, dan kertas cakram.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu tahap pertama pembuatan ekstrak jeruk kingkit, tahap kedua pembuatan nanopartikel ekstrak buah jeruk kingkit dan selanjutnya uji aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak buah jeruk kingkit terhadap bakteri *Escherichia coli*. Penelitian uji aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 konsentrasi nanopartikel yang berbeda yaitu 0,10 %, 0,50 %, dan 1,25 % sebanyak 4 kali ulangan. Data yang diperoleh diuji kesamaan ragamnya dengan menggunakan uji barlet dan kemenambahan data dengan uji Tuckey. Selanjutnya, data dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan. Analisis data dilanjutkan dengan menggunakan uji

beda nyata terkecil (BNT) pada taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Preparasi sampel

Tahapan preparasi sampel dilakukan dengan menggunakan 1 kg sampel buah yang diperoleh dari daerah Krui Kabupaten Pesisir Barat provinsi Lampung. Selanjutnya, untuk mendapatkan buah dengan kualitas yang baik, dilakukan proses sortasi pada buah dan kemudian dihitung kadar airnya. Selanjutnya buah jeruk kingkit dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung selama kurang lebih 24 jam, dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 72-93 jam. Setelah sampel sudah kering, kemudian sampel buah dikecilkan ukurannya menggunakan alat chopper dan dihaluskan menggunakan power grinder. Kemudian, hasil bubuk halus buah yang dihasilkan dihitung kadar airnya dan siap untuk dimaserasi.

Pembuatan ekstrak jeruk kingkit

Pemisahan senyawa aktif dari buah jeruk kingkit sebelumnya perlu dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi yang dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan metode maserasi. Langkah pertama yaitu 300 gram sampel bubuk buah jeruk kingkit yang sudah dihaluskan kemudian ditimbang dan dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 500 ml selama 3x24 jam dengan tiga kali penyaringan kemudian disimpan dalam wadah tertutup, tidak terkena cahaya matahari dan di dalam suhu ruang selama 24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 30°C dan akan diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan larutan kitosan

Pembuatan kitosan dengan konsentrasi 0,10%; 0,50%; dan 1,25% dilakukan dengan melarutkan 0,10g; 0,50g; dan 1,25g serbuk kitosan dalam 100 ml larutan asam asetat 2% menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 250 rpm selama 30 menit.

Pembuatan larutan Natrium Tripolifosfat (NaTPP)

Larutan natrium tripolifosfat 0,01% diperoleh dengan cara melarutkan serbuk natrium tripolifosfat 0,01 g kedalam 100 ml aquades dengan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 250 rpm selama 30 menit.

Proses pembuatan nanopartikel ekstrak jeruk kingkit

Formulasi penggunaan kitosan : Ekstrak Jeruk Kingkit : NaTPP dalam pembuatan nanopartikel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 . Formulasi penggunaan kitosan : Ekstrak Jeruk Kingkit : NaTPP dalam pembuatan nanopartikel (100 ml) dengan perbandingan 10:5:1.

Perlakuan	Ekstrak Jeruk Kingkit (ml)	Kitosan (ml)	NaTPP (ml)
A (0,10%)	62,5	31,25	6,25
B (0,50%)	62,5	31,25	6,25
C (1,25%)	62,5	31,25	6,25

Keterangan : 0,10 %; 0,50 % dan 1,25 % (konsentrasi kitosan murni)

Prosedur pembuatan nanopartikel ekstrak jeruk kingkit didasarkan pada penelitian sebelumnya dengan modifikasi perbandingan ekstrak kitosan: NaTPP yaitu 10: 5: 1 dalam 100 ml (Nurviana et al., 2020). Formulasi penggunaan kitosan, ekstrak jeruk kingkit dan NaTPP dapat dilihat pada tabel.1. Ekstrak buah jeruk kingkit dicampurkan dengan larutan kitosan dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 250 rpm (30 menit). Kemudian larutan NaTPP ditambahkan kedalam larutan kitosan ekstrak pada temperatur ruangan dengan putaran *magnetic stirrer* pada kecepatan 250 rpm (4 jam) hingga terbentuk koloid nanopartikel. Setelah ini sediaan nanopartikel disonikasi (30 menit).

Peremajaan bakteri uji

Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan media Nutrient Agar miring. Sebanyak 2 ose kultur bakteri *Escherichia coli* murni diambil lalu digoreskan pada media Nutrient Agar miring secara aseptis lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan suspensi bakteri uji

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan mengikuti prosedur yang dimodifikasi (Aristyawan et al, 2017). Siapkan kultur murni dengan cara mengambil bakteri *Escherichia coli* yang sebelumnya telah dibiakkan pada media agar sebanyak 2 ose, kemudian dilarutkan ke dalam NaCl steril 0,9% secara aseptik. Setelah itu diukur tingkat kekeruhan suspensi bakteri uji dengan menggunakan alat densitometer sampai muncul angka 0,5 McF pada alat. Standar 0,5 Mc Farland setara dengan $1-2 \times 10^8$ CFU/ml.

Uji aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit

Uji daya hambat nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit dilakukan dengan menggunakan biakan bakteri *Escherichia coli*. Kemudian jarum ose yang telah disterilkan dimasukkan kedalam suspensi bakteri *Escherichia coli* (telah dibiakkan), kemudian digoreskan pada media Nutrient Agar (NA). Selanjutnya, kertas cakram yang sudah disiapkan dicelupkan dalam nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit dengan variasi konsentrasi 0,10 %, 0,50 %, dan 1,25 %, dan

digunakan etanol 96 % sebagai kontrol positif, aquades sebagai kontrol negatif dan ekstrak etanol buah jeruk kingkit masing-masing menggunakan konsentrasi 1,25 ml. Kemudian, kertas cakram diletakkan diatas media yang sudah dioleskan biakan *Escherichia coli*. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan menggunakan suhu 37°C. Setelah proses inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur menggunakan jarum ose.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak

Hasil yang diperoleh dari ekstrak etanol buah jeruk kingkit dengan pelarut etanol 96% secara fisik menunjukkan warna oranye pekat kemerahan, berbentuk cairan dengan bau ciri khas buah jeruk kingkit. Warna yang terbentuk pada ekstrak buah jeruk kingkit dikarenakan adanya kandungan senyawa β - karoten pada buah jeruk kingkit. Beta karoten merupakan pigmen organik yang berwarna kuning, oranye atau merah oranye yang dapat terjadi secara alamiah dalam tumbuhan yang berfotosintesis, ganggang, beberapa jenis jamur dan bakteri (Kusbandari dan Susanti, 2017).

Ekstraksi buah jeruk kingkit dilakukan menggunakan pelarut etanol. Pemilihan pelarut etanol 96% dikarenakan pelarut ini sering digunakan untuk proses ekstraksi dan dianggap lebih efektif untuk mengekstrak senyawa aktif yang berasal dari tumbuhan. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat (Rahayu et al., 2018). Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorbsinya baik dan kemampuan penyaringannya yang tinggi sehingga dapat mencari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat. Pelarut etanol merupakan pelarut yang paling baik dalam menarik senyawa fenolik dan flavonoid (Mardiyaningsih dan Aini, 2014). Hal ini disebabkan karena alkohol merupakan pelarut semi-polar sehingga dapat memudahkan untuk melarutkan senyawa yang polar maupun non-polar seperti tanin, flavonoid, fenol, dan minyak atsiri (Fadillah, 2014).

Hasil Nanopartikel

Metode gelasi ionik merupakan metode yang digunakan dalam proses pembuatan nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit. Proses pembuatan formulasi nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit dilakukan dengan cara mereaksikan campuran kitosan, ekstrak etanol buah jeruk kingkit dengan natrium tripolifosfat (Na-TPP). Penelitian ini menggunakan modifikasi perbandingan ekstrak: kitosan : NaTPP yaitu 10:5:1 dalam volume 100 ml. Pencampuran kitosan dengan ekstrak etanol buah jeruk kingkit dan natrium tripolifosfat (Na-TPP) dilakukan secara bertahap. Pembuatan nanopartikel dengan menggunakan metode gelasi ionik memiliki beberapa keuntungan yaitu diantaranya proses

terjadinya reaksi mudah, tidak memerlukan proses pemanasan sehingga dapat menurunkan kemungkinan rusaknya senyawa aktif pada bahan yang akan dibuat nanopartikel.

Nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit memiliki pH 3,07–3,60 yang menunjukkan kondisi asam, sehingga masih mendukung protonasi kitosan dalam pembentukan nanopartikel. Namun, nilai tersebut berada di bawah kisaran pH optimum (4–6), yang dapat mempengaruhi karakteristik dan stabilitas nanopartikel yang terbentuk (Abdassah, 2017). Nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit dengan variasi konsentrasi kitosan yang berbeda memperoleh ukuran partikel yang berbeda-beda. Nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0,10 % menghasilkan ukuran partikel sebesar 1035,2 nm. Nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0,50% menghasilkan ukuran 1018,6 nm dan nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 1,25% menghasilkan ukuran partikel sebesar 1780,9 nm. Berdasarkan hasil yang di peroleh dapat disimpulkan bahwa hasil tersebut tidak memenuhi persyaratan ukuran nanopartikel. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan persyaratan ukuran nanopartikel yaitu 10-1000 nm (Guge et al., 2024). Salah satu faktor yang mempengaruhi pembentukan ukuran partikel adalah kecepatan pengadukan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa semakin cepat proses pengadukan akan diperoleh ukuran partikel yang semakin kecil (Kunmowal et al., 2019) Perbedaan antar penggunaan konsentrasi nanopartikel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbedaan antar penggunaan konsentrasi nanopartikel

Perlakuan	Warna	Kekentalan	Ukuran (nm)
K1	Oranye pekat agak kemerahan	Cair	1035,2
K2	Oranye pekat agak kemerahan	Agak kental	1018,6
K3	Oranye pekat agak kemerahan	Lebih kental	1780,9

Keterangan :

K1 : nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0,10 %

K2 : nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0,50 %

K3 : nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 1,25 %

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa semua konsentrasi nanopartikel (0,10%, 0,50% dan 1,25%) memiliki warna yang sama yaitu orange pekat agak kemerahan. sedangkan tingkat kekentalan berbeda pada setiap kosentrasi, dimana K1 (0,10%) menghasilkan tekstur cair, perlakuan K2 (0,50%) menghasilkan tekstur agak kental, dan perlakuan K3 (1,25%) menghasilkan tekstur lebih kental. Perbedaan tingkat kekentalan pada nanopartikel tersebut dikarenakan penggunaan konsentrasi kitosan yang berbeda. Semakin banyak konsentrasi kitosan yang digunakan dalam proses pembentukan nanopartikel

maka viskositasnya semakin kental. Peningkatan konsentrasi kitosan pada proses pembentukan nanopartikel dapat menyebabkan naiknya viskositas sistem, sehingga dispersi nanopartikel yang terbentuk menjadi lebih kental. Kondisi ini berkaitan dengan semakin banyaknya rantai polimer kitosan yang saling berinteraksi di dalam larutan, yang pada akhirnya dapat mendorong terjadinya agregasi partikel selama proses pembentukan nanopartikel. (Nasution., 2013). Ukuran partikel yang dihasilkan berbeda – beda pada setiap konsentrasi, hal ini menunjukkan semakin banyak konsentrasi kitosan yang ditambahkan maka ukuran partikel semakin besar. Peningkatan konsentrasi kitosan cenderung menghasilkan ukuran nanopartikel yang lebih besar, yang diduga akibat meningkatnya jumlah rantai polimer dan interaksi dengan Na-TPP selama proses pembentukan partikel (Windy et al., 2022).

Daya Hambat Nanopartikel Ekstrak Etanol Buah Jeruk Kingkit Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Diameter zona hambat dengan penambahan nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* berkisar antara 10,71 – 9,12 mm. Hasil Uji lanjut menggunakan BNT taraf 5% nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Diameter Zona Hambat dan Uji Lanjut BNT taraf 5 % Nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Perlakuan	Rata-rata (mm)	Kategori
K-	-	-
K+	8,42 ^b ± 0,15	Sedang
K1	9,12 ^{bc} ± 0,21	Sedang
K3	10,03 ^{cd} ± 0,37	Sedang
K2	10,71 ^d	Sedang

Keterangan :

K- : Kontrol negatif (Aquades)

K+ : Kontrol positif (Etanol)

K1 : Nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0,10 %

K2 : Nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0,50 %

K3 : Nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 1,25 %

Berdasarkan data pada Tabel 3 menunjukkan uji daya hambat nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* menghasilkan diameter zona hambat berbeda pada semua perlakuan. Hasil analisis sidik ragam dan uji lanjut BNT menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan terhadap pengukuran daya hambat pada semua perlakuan. Aktivitas antibakteri cenderung mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi kitosan dalam pembuatan nanopartikel. Diameter zona hambat

terbesar terdapat pada perlakuan nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit dengan konsentrasi kitosan 0,50% (K2) dengan ukuran zona hambat sebesar 10,71mm. Sementara itu, nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit dengan konsentrasi kitosan 1,25% (K3) menghasilkan diameter zona hambat terkecil, yaitu 10,03 mm. Menurut Surjowadjo et al., (2015), apabila diameter zona hambat mencapai kurang dari atau sama dengan 5 mm, kekuatan hambatnya terhadap bakteri dianggap rendah. Untuk diameter zona hambat dalam rentang 6 hingga 10 mm, klasifikasinya sebagai sedang; sementara untuk diameter zona hambat antara 11 hingga 20 mm, dikategorikan sebagai tinggi; dan jika diameter zona hambat melebihi atau sama dengan 21 mm, dianggap sangat tinggi. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa nanopartikel yang berasal dari ekstrak etanol jeruk kingkit menunjukkan efektivitas yang baik dalam mencegah perkembangan bakteri gram negatif dan gram positif, seperti *Escherichia coli*. Aktivitas antimikroba terbentuk karena adanya komponen bioaktif berupa flavonoid, tanin, terpenoid, dan alkaloid yang memiliki sifat antimikroba pada ekstrak etanol buah jeruk kingkit. Menurut Herdiana et al. (2024) menyatakan bahwa, ekstrak etanol buah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia*) mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin yang berperan sebagai agen antibakteri terhadap bakteri uji.

Perlakuan nanopartikel dengan Konsentrasi kitosan 0.10% (K1) dan nanopartikel dengan Konsentrasi kitosan 0.50% (K2) berbeda nyata terhadap diameter zona hambat, sedangkan perlakuan nanopartikel dengan Konsentrasi kitosan 0.50 % (K2) dan nanopartikel dengan Konsentrasi kitosan 1.25% (K3) menunjukan hasil yang tidak berbeda nyata. Perlakuan K- memiliki perbedaan yang nyata dengan semua perlakuan karena K- merupakan kontrol negatif yaitu aquades yang menyebabkan tidak adanya zona hambat terhadap bakteri.

Kandungan senyawa antimikroba cenderung mengalami peningkatan efektifitas akibat adanya pengecilan ukuran partikel melalui sistem pembentukan nano dengan metode gelas ionik. Menurut Vargas et al., (2020), mengurangi ukuran partikel akan meningkatkan luas permukaan, yang pada gilirannya akan meningkatkan proses penguraian partikel. Hal ini dapat mengakibatkan peningkatan manfaat senyawa aktif pada jeruk kingkit, dengan demikian meningkatkan laju disolusi dan bioavailabilitas secara merata. Penggunaan konsentrasi kitosan yang melebihi ambang batas maksimum dalam pembuatan nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit dapat menurunkan efektifitas metabolit sekunder yang terdapat pada buah jeruk kingkit. Hal ini ditandai dengan terbentuknya nilai zona hambat pada konsentrasi kitosan 1,25 % (K3) yang cenderung lebih kecil dibandingkan konsentrasi kitosan 0,50% (K2). Penurunan efektifitas ini diduga dapat terjadi dikarenakan pada konsentrasi tersebut suspensi ekstrak nanopartikel cenderung mengalami peningkatan, sehingga laju alir dan difusi senyawa metabolit sekunder tidak sempurna. Hal ini sesuai dengan

pernyataan Das et al., (2018) bahwa semakin tinggi viskositas fluida, semakin besar gaya yang diperlukan, yang kemudian dapat mempengaruhi permeabilitas suspensi terhadap bakteri. Selain itu, penurunan efektivitas diduga terjadi karena ikatan silang yang terbentuk cenderung tidak sempurna dan tidak teratur. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Fiore et al., (2022) bahwa konsentrasi kitosan yang berlebihan dapat menghambat interaksi antara muatan positif pada kitosan dan metabolit sekunder dengan ion negatif dari membran sel mikroorganisme.

Penggunaan konsentrasi kitosan yang tepat pada pembuatan nanopartikel akan membentuk struktur nanopartikel yang baik akan mempengaruhi proses pendispersian zat dari ekstrak etanol buah jeruk kingkit sehingga mempengaruhi daya hambat pertumbuhan bakteri. Kitosan memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk termasuk bakteri gram positif dan gram negatif. Adanya polikation yang bermuatan positif pada kitosan dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit (Qudsi, 2016). Kitosan sekarang banyak diolah oleh para ahli menjadi ukuran nanopartikel yang berkisar 100-400 nm. Faktor terbentuknya zona hambat pada nanopartikel dipengaruhi oleh larutan kitosan, yang memiliki kemampuan menghambat bakteri. Terdapat dua kemungkinan mekanisme kitosan sebagai antibakteri. Pertama kitosan menempel pada permukaan sel bakteri membentuk membran polimer yang dapat mencegah masuknya nutrisi ke dalam sel sehingga sel akan mati. Kedua kitosan dengan bobot molekul yang rendah dapat masuk ke dalam sel dan meliputi sel. Karena kitosan dapat mengadsorpsi substansi elektronegatif dalam sel mengganggu aktivitas bakteri (Li et al., 2016)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dapat disimpulkan bahwa nanopartikel ekstrak etanol buah jeruk kingkit memiliki aktivitas antibakteri terbesar pada konsentrasi kitosan 0,50% yaitu sebesar 10,71 mm dan termasuk kedalam zona daya hambat sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada LPPM Universitas Lampung yang telah memberikan dana hibah BLU untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Hainil, S., Elfasyari, T.Y., Sulitya, R.I., 2021. Identification of *Escherichia coli* in pure soy milk at the market of Jodoh Batam City. *J. SURYA Med.* 7, 25–30.
- Azah, N.I., Zuhrotun, A., 2020. Potensi *Theobroma cacao* L. sebagai antibiotik alami. *Farmaka* 17, 1–9.
- Hardisto, K., Tjandra, O., 2019. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk

- kingkit (*Triphasia trifoliata* DC) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. *Tarumanagara Med. J.* 1, 555–558.
- Yadav, S., Sharma, A.K., Kumar, P., 2020. Nanoscale self-assembly for therapeutic delivery. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8, 1–24.
- Adila, R., Nurmiati., Agustien, A., 2013. Uji antimikroba *Curcuma* spp. terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Biol. Univ. Andalas* 2, 1–7.
- Martien, R., Adyatmika., Irianto, I.D.K., Farida, V., Sari, D.P., 2012. Technology developments nanoparticles as drug delivery systems. 8, 133–144.
- Raj, L.F.A.A., Jonisha, R., Revathi, B., Jayalakshmy, E., 2015. Preparation and characterization of BSA and chitosan nanoparticles for sustainable delivery system for quercetin. *J. Appl. Pharm. Sci.* 5, 1–5.
- Kafshgari, M.H., Khorram, M., Khodadoost, M., Khavari, S., 2011. Reinforcement of chitosan nanoparticles obtained by an ionic cross-linking process. *Iranian Polym. J.* 20, 445–456.
- Agnihotri, S.A., Mallikarjuna, N.N., Aminabhavi, T.M., 2004. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. 100, 5–28.
- Suherman, B., Latif, M., Teresia, S., Dewi, R., 2018. Potensi kitosan kulit udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram. *Media Farm.* XIV, 116–127.
- Nurviana, V., Alifiar, I., Wulandari, W., Dewi, R., Nuraeni, R., 2020. Potensi antioksidan sediaan nanopartikel ekstrak kernel biji limus (*Mangifera foetida* Lour). *J. Farm. Udayana*, 144–151.
- Aristyawan, A.D., Sugijanti, N.E., Suciati., 2017. Potensi antibakteri dari ekstrak etanol spons *Agelas cavernosa*. *J. Farm. dan Ilmu Kefarmasian Indones.* 4, 39–43.
- Kusbandari, A., Susanti, H., 2017. Kandungan beta karoten dan aktivitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ekstrak buah blewah (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* L.) secara spektrofotometri UV-Visibel. 14, 37–42.
- Rahayu, W.P., Nurjanah, S., Komalasari, E., 2018. *Escherichia coli*: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko.
- Mardiyarningsih, A., Aini, R., 2014. Pengembangan potensi ekstrak daun pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebagai agen antibakteri. *Pharmaciana* 4, 185–192.

- Fadillah, H., 2014. Optimasi Sabun Cair Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *rubrum*) Variasi Virgin Coconut Oil (VCO) dan Kalium Hidroksida (KOH) Menggunakan Simplex Lattice Design. [Naskah Publikasi].
- Abdassah, M., 2017. Nanopartikel dengan gelasi ionik. *Farmaka* 15, 45–52.
- Guge, S.R.S., Lukum, A., Kunusa, W.R., 2024. Pembuatan nano kitosan menggunakan metode gelasi ionik. *Jamb.J.Chem* 6, 1–8.
- Kunmowal, S., Fatimawali., Jayanto, I., 2019. Uji aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak lengkuas putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *PHARMACON* 8, 781–790.
- Nasution, Z., Agusnar, H., Alfian, Z., Wirjosentono, B., 2013. Pengaruh viskositas kitosan dari berbagai berat molekul terhadap pembuatan kitosan nanopartikel menggunakan ultrasonic bath. *J. Teknol. Kim. Unimal* 2, 68–79.
- Windy, Y.M., Dilla, K.N., Claudia, J., Noval., Hakim, A.R., 2022. Karakterisasi dan formulasi nanopartikel ekstrak tanaman bundung (*Actinoscirpus grossus*) dengan variasi konsentrasi basis kitosan dan Na-TPP menggunakan metode gelasi ionik. *J. Surya Med.* 8, 25–29.
- Surjowadjo, P., Susilorini, T.E., Sirait, G.R.B., 2015. Daya hambat dekok kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. penyebab mastitis pada sapi perah. *J. Ternak Trop.* 16, 40–48.
- Herdiana, N., Hidayati, S., Sartika, D., Yuliandari, P., Zuidar, A.S., 2024. Identification of bioactive compounds and antibacterial activity of limeberry (*Triphasia trifolia*) fruit ethanol extract against *Staphylococcus aureus*. *Trop. J. Nat. Prod. Res.* 8, 5820–5824.
- Vargas-Hernandez, M., et al., 2020. Nanoparticles as potential antivirals in agriculture. *Agriculture* 10, 1–18.
- Das, S., Kalita, M.C., Shukla, S., 2018. Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Brassica oleracea* var. *gongylodes* and their antimicrobial activity against bacteria. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 7, 1135–1145.
- Fiore, V., Badagliacco, D., Sanfilippo, C., Pirrone, R., Siengchin, S., 2022. Lemongrass plant as potential sources of reinforcement for biocomposites: A preliminary experimental comparison between leaf and culm fibers. *J. Polym. Environ.* 30, 4726–4737.
- Qudsi, D.C.M., Sudjari., Rahayu, S.I., 2016. Perbandingan efektivitas kitosan (2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucopyranose) dan nano kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* secara in vitro. 229–240.

Li, J., Wu, Y., Zhao, L., 2016. Antibacterial activity and mechanism of chitosan with ultra high molecular weight. Carbohydr. Polym. 148, 200–205.