

Analisis GC-MS dan daya anti bakteri minyak atsiri *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse

Antibacterial activity and GC-MS analysis of the *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse essential oil

Sri Mulyani^{*}), Susilowati dan Maslan Maniur Hutabarat
Fakultas Farmasi UGM

Abstrak

Telah dilakukan penelitian mengenai komponen penyusun dan aktivitas antibakteri minyak atsiri yang diperoleh dari daun dan kulit buah *Citrus amblycarpa*.

Komponen penyusun minyak atsiri diidentifikasi menggunakan GC-MS dan aktivitas anti bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 ditentukan dengan metode dilusi cair. Komponen penyusun minyak atsiri daun yang dapat diidentifikasi adalah β -pinena, linalool, sitronelal, sitronelol dan geraniol, sedang minyak atsiri kulit buah adalah β -pinena, simena, limonena dan sitronelal.

Aktivitas anti bakteri minyak dari daun terhadap *S. aureus* lebih aktif dibanding kulit buah, sementara aktivitas minyak dari kulit buah lebih aktif terhadap *E. coli* dibanding minyak daunnya.

Kata kunci: *Citrus amblycarpa*, Minyak atsiri, Anti-bakteri.

Abstract

A research about anti-bacterial activity and components of essential oil from leaves and peels of *Citrus amblycarpa* have been done.

The components of essential oil had been identified by using GC-MS and anti-bacterial activity against *S. aureus* ATCC 25923 and *E. coli* ATCC 25922 had been determined with liquid dilution method. The component of essential oil from leaves that can be identified are β -pinene, linalool, citronellal, citronellol and geraniol, while from peels are β -pinena, cymene, limonene and citronellal.

Oil from the leaves has stronger anti-bacterial activity against *S. aureus* than from peels. On the other hand oil from peels is stronger anti-bacterial activity against *E. coli*.

Key words : *Citrus amblycarpa*, essential oil, anti-bacterial activity.

Pendahuluan

Dewasa ini, tanaman penghasil minyak atsiri banyak dimanfaatkan sebagai aroma terapi untuk terapi komplementer. Di bidang industri minyak atsiri mempunyai nilai ekonomi yang tinggi karena banyak digunakan sebagai bahan pewangi atau penyedap baik dalam kosmetik, makanan, maupun obat-obatan. Minyak atsiri suatu tanaman mempunyai komponen kimia yang tertentu, yang pada prinsipnya akan memberi aktivitas yang spesifik bagi tanaman tersebut (Claus *et al.*, 1970).

Beberapa tanaman dari marga Citrus suku Rutaceae seperti *C. Lemon*, dan *C. Reticulo* telah dimanfaatkan sebagai aromaterapi dengan efek antiseptik dan meringankan stress/relaksasi (Keville, 1999; Price and Price, 1995). Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap tumbuhan Citrus diantaranya adalah efek apoptosis pada *cell line* A549 kanker paru-paru dari nobeletinnya (Luo *et al.*, 2008). Penelitian efek pencegahan 8 tanaman Citrus terhadap bahaya kanker lambung (Bae *et al.*, 2008), juga penelitian mengenai efek ekstrak

C. aurantium terhadap peningkatan anti oksidan dan penurunan kerusakan pada hepar (Jiao *et al.*, 2007). Di Indonesia banyak terdapat tanaman Citrus yang lain, salah satunya adalah *C. Amblycarpa* (Hassk) Ochse (jeruk limau). Menurut Agusta (2000), kulit buah jeruk limau segar mengandung minyak atsiri yang komponen penyusunnya terdiri dari α -pinena, β -pinena, β -mirsena, linalool, limonena, mirsenol, kamfena hidrat, dan α -terpineol.

Metodologi

Bahan dan alat penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri hasil destilasi air dan uap air dari daun dan kulit buah *C. Amblycarpa* (Diperoleh dari desa Cebongan, Purwakarta, Jawa Barat).

Aktivitas anti-bakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923, dan *E. Coli* ATCC 25922, dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM dengan pelarut propilena glikol, media BHI dan BHI DS (Oxoid), media agar darah, media agar Mc Conkey. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi air-uap air, Refraktometer ABBE, Piknometer, GC-MS (Shimadzu QP.5000).

Cara penelitian

Isolasi dan penetapan sifat kimia

Isolasi minyak atsiri dari daun dan kulit buah yang masih segar dari *C. Amblycarpa* menggunakan destilasi air dan uap air. Minyak yang diperoleh setelah dibebaskan dari sisa-sisa air dengan menggunakan natrium sulfat anhidrat dihitung rendemen dan tetapan fisiknya, meliputi bobot jenis dan indeks bias. Bobot jenis

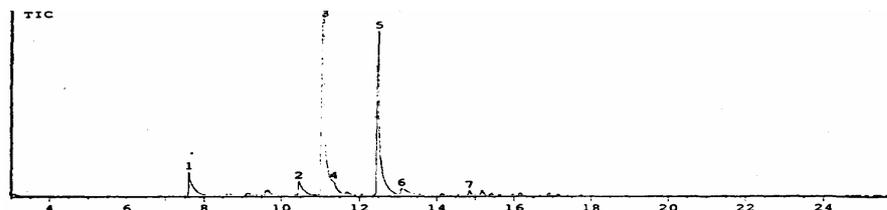
ditetapkan dengan menggunakan alat piknometer 10 mL pada suhu 25 °C, sedang indeks bias ditetapkan dengan menggunakan refraktometer ABBE pada suhu 20 °C.

Analisis komponen kimia penyusun minyak

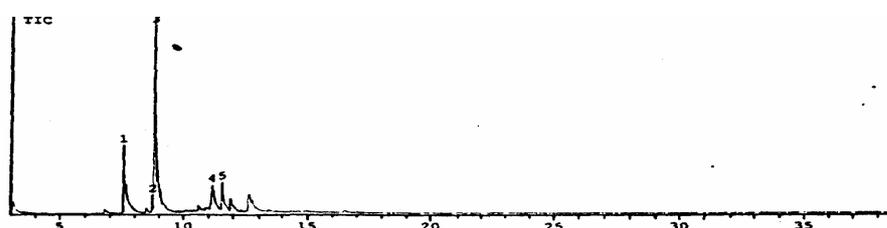
Analisis komponen minyak dilakukan dengan menggunakan GC-MS dengan kondisi sebagai berikut : Injektor mode split 1:60, suhu 280 °C. Kolom yang digunakan adalah : DB-1 (100 % dimetil polisiloksan, penyangga fused silika), panjang 30 m, diameter 0,25 mm; suhu kolom : 40-270 °C, dengan kenaikan suhu 10 °C/5 menit. Gas pembawa helium, suhu detektor 280 °C, dengan jenis pengionan *Electron Impact* (EI). Masing-masing puncak dari hasil kromatografi dibuat spektra massanya dan dibandingkan dengan spektra bank data NIST.

Uji aktivitas anti bakteri

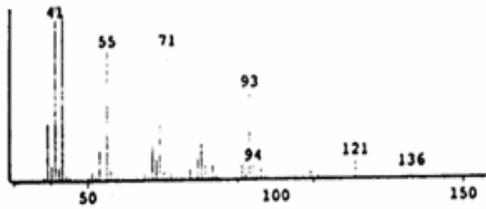
Aktivitas anti bakteri diuji dengan metode dilusi cair, menggunakan bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. Coli* ATCC 25922. Dalam tabung uji dibuat satu seri kadar minyak dalam pelarut propilena glikol 5 %, dan ditambah suspensi bakteri uji dalam media BHI DS dengan kerapatan kuman 10⁶ CFU/mL, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 - 24 jam. Kadar hambat minimal (KHM) ditentukan dengan melihat kadar terkecil yang masih menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan jernihnya larutan). Kadar bunuh minimum (KBM) ditentukan dengan menggosokkan larutan uji pada media agar darah untuk *S. aureus* dan media Mc Conkey (*E. coli*) di inkubasi pada suhu 37 °C selama 18 - 24 jam. Nilai KBM adalah kadar larutan terkecil yang mampu membunuh bakteri ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan di media.



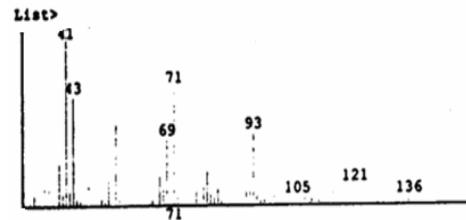
Gambar 1. Kromatogram gas minyak atsiri daun jeruk limau.



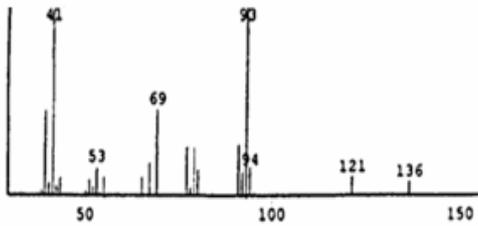
Gambar 2. Kromatogram gas minyak atsiri kulit buah jeruk limau.



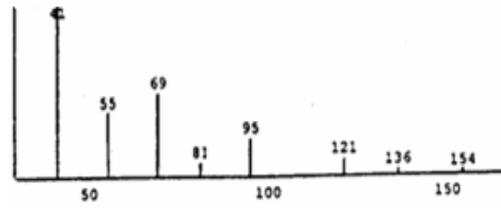
Gambar 3a. Spektra Massa sampel puncak no. 1 dari minyak daun.



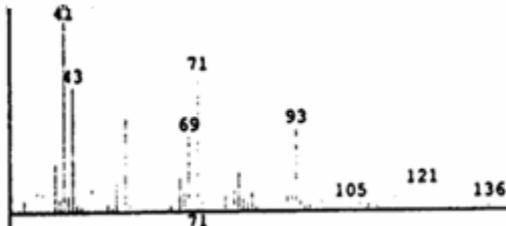
Gambar 7a. Spektra Massa sampel puncak no.3 minyak daun.



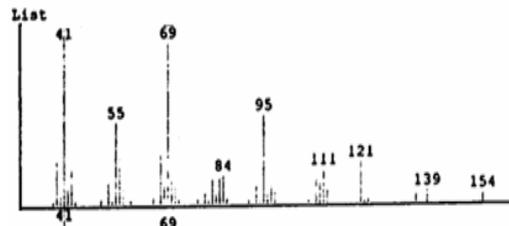
Gambar 3b. Spektra massa sampel puncak no.1 minyak kulit buah.



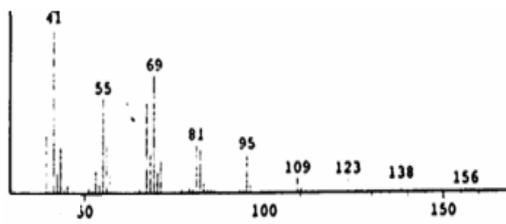
Gambar 7b. Spektra Massa sampel puncak no.4 minyak kulit buah.



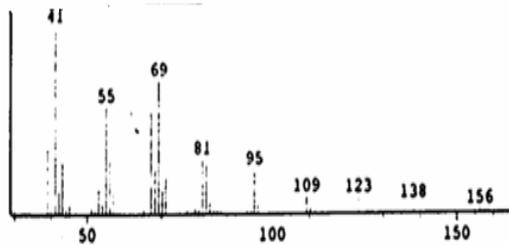
Gambar 4. Spektra Massa senyawa beta-pinena (NIST).



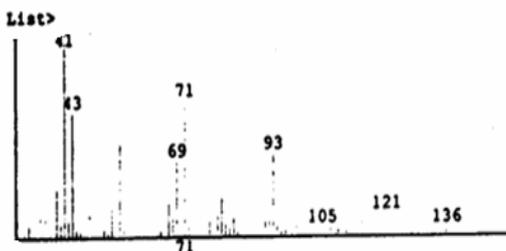
Gambar 8. Spektra Massa senyawa sitronelal (NIST).



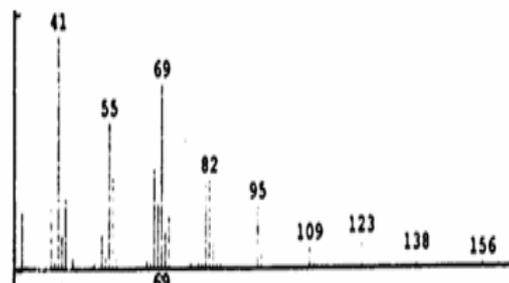
Gambar 5. Spektra massa sampel puncak no2 minyak daun.



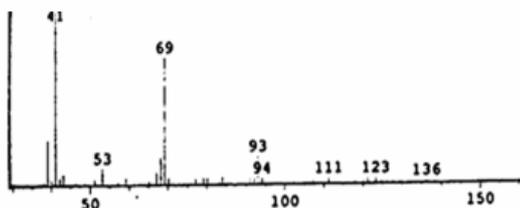
Gambar 9. Spektra massa puncak no.5 minyak daun.



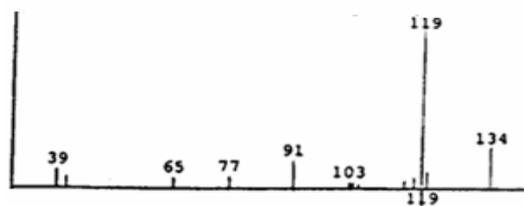
Gambar 6. Spektra Massa senyawa Linalool (NIST).



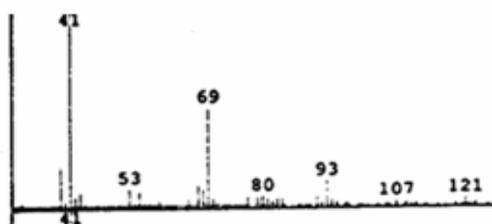
Gambar 10. Spektra massa senyawa sitronelol (NIST).



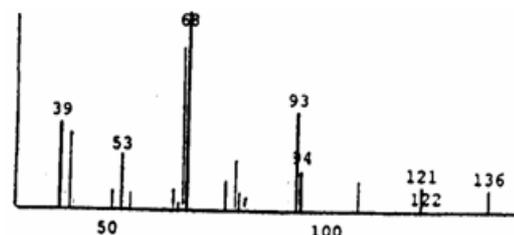
Gambar 11. Spektra massa sampel puncak no.6 minyak daun.



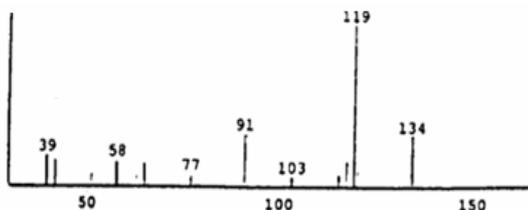
Gambar 14. Spektra massa senyawa simena (NIST).



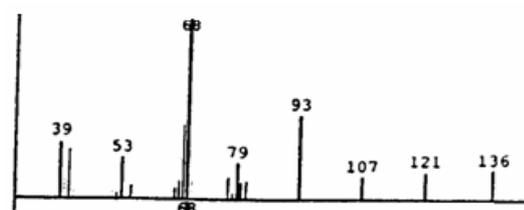
Gambar 12. Spektra massa senyawa geraniol (NIST).



Gambar 15. Spektra massa sampel puncak no.3 minyak kulit buah.



Gambar 13. Spektra massa sampel puncak no.2 minyak kulit buah.



Gambar 16. Spektra massa senyawa limonena (NIST).

Tabel I. Hasil rendemen dan tetapan fisika minyak atsiri daun dan kulit buah jeruk limau.

	Minyak Daun	Minyak Kulit Buah
Rendemen (%)	0,47 ± 0,035	0,72 ± 0,027
Bobot jenis (25 °C)	0,8629 ± 0,0089	0,8957 ± 0,0010
Indeks bias (20 °C)	1,4478 ± 6,7028.10 ⁻⁴	1,4736 ± 2,4495.10 ⁻⁴

Hasil dan Pembahasan

Hasil destilasi minyak atsiri dari daun dan kulit buah jeruk limau serta tetapan fisika minyak hasil destilasi, tertera pada Tabel I.

Dari hasil rendemen terlihat, bahwa minyak atsiri yang berasal dari kulit buah lebih besar dibanding yang berasal dari daun. Demikian halnya dengan bobot jenis serta indeks biasnya. Adanya perbedaan tetapan fisika dari 2 jenis minyak ini kemungkinan

disebabkan adanya perbedaan komposisi senyawa penyusunnya. Komponen penyusun minyak daun jeruk limau yang dapat diidentifikasi adalah β-pinena, linalool, sitronelal, sitronelol dan geraniol. Sedangkan minyak kulit buah jeruk limau tersusun dari β-pinena, simena, limonena dan sitronelal. Menurut Lota, dkk (2001) tiga komponen utama dalam minyak atsiri kulit buah jeruk umumnya adalah limonena, terpinena, dan linalil asetat, sementara komponen

penyusun minyak atsiri daun adalah linalool, γ -terpinena, dan metil-N-metil antranilat. Hasil analisis GC-MS dari minyak atsiri daun dan kulit buah jeruk limau yang dapat

peptidoglikan, lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida.

Minyak atsiri pada dasarnya memiliki kelarutan yang rendah di dalam air, sehingga

Tabel II. Hasil GC-MS minyak atsiri daun dan kulit buah jeruk limau

Puncak No.	Minyak Daun			Minyak Kulit buah		
	Waktu Retensi (menit)	Senyawa	Kadar %	Waktu Retensi (menit)	Senyawa	Kadar %
1	7,601	β -pinena	5,54	7,522	β -pinena	12,75
2	10,450	linalool	12,62	8,733	simena	16,37
3	11,075	sitronelal	44,02	8,783	limonena	41,25
4	12,475	sitronelol	31,57	11,158	sitronelal	19,60
5	13,075	geraniol	5,83	11,550	belum ter-	10,03
6	14,833	belum ter-identifikasi	0,42		identifikasi	

Tabel III. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun dan kulit buah jeruk limau terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Kadar (% v/v)	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	KHM	KBM	KHM	KBM
Minyak atsiri daun	0,039	0,039	12,875	12,875
Minyak atsiri kulit buah	0,312	0,625	2,500	2,500

diidentifikasi tertera pada Tabel II, kromatogram gas tertera pada Gambar 1, dan 2, spektrum massa dari 7 senyawa yang teridentifikasi dan spektra bank data NIST tertera pada gambar 3a, 3b, 4, 5, 6, 7a, 7b, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16.

Adanya perbedaan komponen penyusun dari kedua minyak tersebut mengakibatkan aktivitas anti bakteri yang berbeda. Hasil aktivitas antibakteri dari kedua minyak di atas tertera pada Tabel III.

Dari hasil di atas terlihat, bahwa minyak atsiri baik dari daun maupun kulit buah keduanya lebih aktif membunuh bakteri *S. aureus* dibanding terhadap *E. coli*. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan susunan dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri Gram (+) relatif lebih sederhana, hanya terdiri dari komponen peptidoglikan dan asam teikoat, sementara dinding sel bakteri Gram (-) mempunyai struktur berlapis 3, terdiri dari

mereka tidak mampu mencapai tingkatan yang cukup untuk bersifat toksik pada membran sel, meskipun afinitas mereka pada membran cukup tinggi. Adanya lapisan lipopolisakarida pada membran sel bakteri Gram (-) akan melindungi senyawa-senyawa polar penyebab lisis sel agar tidak terjadi penetrasi pada membran. Sedangkan pada bakteri Gram (+) yang tidak mempunyai lapisan lipo-polisakarida yang melindungi membran, mengakibatkan minyak atsiri akan lebih mudah merusak protein porin, sehingga menyebabkan sel lisis (More, 2007, Jawetz *et al.*, 1996). Menurut Knolboch dkk (1986), aktivitas antibakteri dari senyawa terpenoid berturut-turut adalah fenol, diikuti aldehida, keton, alkohol dan hidrokarbon. Adanya perbedaan penyusun komponen minyak dari daun dan kulit buah (kualitatif dan kuantitatif) menyebabkan perbedaan aktivitasnya. Minyak dari daun aktivitas anti bakterinya

terhadap *S. aureus* lebih besar dibanding dari kulit buah, sedang minyak dari kulit buah lebih aktif terhadap *E. coli* dibanding minyak daunnya. Hal ini kemungkinan disebabkan minyak daun mengandung sitronelal (36,6 %) sitronelol 31,5 %, geraniol 5,8 % dan β -pinena 5,54 %, sedang minyak buah mengandung setronelal 19,6 %, linalool 10,03 %, sedang β -pinena 12,75 % dan simena 16,37 %. Adanya senyawa terpena teroksidasi dari minyak daun yang lebih besar dibanding minyak dari kulit buah, menyebabkan minyak daun memiliki senyawa-senyawa polar yang dapat menyebabkan sel lisis lebih banyak dibanding minyak dari kulit buah, sehingga aktivitas minyak daun terhadap *S. aureus* lebih besar dibanding minyak kulit buahnya. Seding minyak kulit buah yang mengandung terpena hidrokarbon lebih banyak dibanding minyak daun menyebabkan minyak kulit buah lebih

lipofilik dibanding minyak daun. Dengan demikian minyak dari kulit buah lebih mudah menetrasi membran *E. coli* dibanding dari minyak daunnya, sehingga senyawa-senyawa polar penyebab lisis yang ada dalam minyak kulit buah lebih mudah masuk dalam sel. Dengan demikian aktivitas minyak dari kulit buah terhadap *E. coli* lebih besar dibanding minyak dari daunnya.

Kesimpulan

Rendemen, bobot jenis, indeks bias dan aktivitas terhadap *S. aureus* dari minyak daun lebih besar dibanding minyak kulit buah. Aktivitas minyak dari kulit buah terhadap *E. coli* lebih besar dibanding minyak daunnya. Komponen minyak atsiri daun yang dapat diidentifikasi adalah β -pinena, linalool, sitronelal, sitronelol, geraniol, sedang minyak atsiri dari kulit buah adalah β -pinena, simena, limonen, dan sitronelal.

Daftar Pustaka

- Agusta, A., 2000, Minyak Atsiri Tumbuhan Tropik Indonesia, *ITB*, Bandung.
- Bae, J.M., Lee, E.J., and Guejati, G., 2008, Citrus Fruit in take and Stomach Cancer Risk a Quantitative Systematic review, *Gastric Cancer*, 11 (1) 23-32.
- Claus, E.P., Tyler, V.E., and Brady, L.R., 1970, Pharmacognosy., *Lea-Febiger*, USA.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., and Adelberg, E.A., 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, Terjemahan oleh Nugroho Edi dan Maulany, Edisi XX., Jakarta, EGC, 234-240.
- Jiao S, Huang C, Wang H, and Yu S, 2007, Effects of *Citrus aurantium* extract on Liver Anti-oxidant Defense Function in Experimental Diabetic Mose., *Wei Sheng Yan Jiu*, 36 (6), 689-692
- Keville, K., 1999, Aromatherapy for Dummies, *IDG Books., Worldwide Inc.*, NewYork.
- Knobloch, K., Weis, N., and Weigand, H., 1986, Mechanism of Antimicrobial Activity of Essential Oil, *Planta Medica*, 6, 556.
- Lota, M.L., Serra, D.R., Tomi, F., and Casanova, J., 2001, Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins., *Biochem Sys and Ecol.*, January 29, 77-104
- Luo, G., Guan, X., and Zhou, L., 2008, Apoptotic Effect of Citrus Fruit Extract Nobiletin on Lung Cancer Cell Line A549 in vitro and in vivo, *Cancer Biol. Ther.*, 7, 6.
- More, F.N., 2007, Antimicrobial Properties of Conifers Essential Oil, a Summary, *Thompsons Rivers University*, London.
- Price, S., and Price, L., 1995, Aromatherapy for Health Professionals, *Churchill Livingstone*, London.

* Corresponding : Dra. Sri Mulyani SU., Apt.
Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada
E-mail: smu1433@gmail.com