

Antibacterial Activity Test of Various Ethanol Solvent Concentrations Extract of Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Peel on *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, and *Salmonella typhii*

Tabitha S G Purba¹ & Joshua H. L. Tobing^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Advent Indonesia, Bandung, Indonesia;

Article History

Received : November 03th, 2025

Revised : November 10th, 2025

Accepted : November 14th, 2025

*Corresponding Author: **Joshua H. L. Tobing**, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Advent Indonesia, Bandung, Indonesia;
Email:
joshuahltobing@gmail.com

Abstract: The rise of antibiotic resistance necessitates the discovery of new antibacterial agents. Sweet orange (*Citrus sinensis*) peel often considered waste, contains bioactive compounds with potential antimicrobial properties. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of ethanol extracts from sweet orange peel on *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, and *Salmonella typhii*. This laboratory experimental study uses sweet orange peel extracted by maceration using 30%, 40%, and 50% ethanol as solvent. The highest average inhibition zones were observed at the 50% concentration for all bacteria: *E. coli* (7,683 mm), *S. typhii* (8,400 mm), and *S. dysenteriae* (7,250 mm). Statistical analysis confirmed that the extract concentration has a very significant effect ($p = 0,000$) on the inhibition zone, with higher concentrations yielding larger zones. A significant interaction was also found between the type of bacteria and time ($p = 0,000$). Ethanol extract of sweet orange (*Citrus sinensis*) peel has moderate antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, and *Salmonella typhii*. Its effectiveness is concentration-dependent, with the 50% ethanol extract shows the strongest inhibition. This suggests that orange peel waste is a promising source of natural antibacterial compounds.

Keywords: Antibacterial activity, *Citrus sinensis*, orange peel extract, *Escherichia coli*, *Salmonella typhii*, *Shigella dysenteriae*, inhibition zone, ethanol concentration

Pendahuluan

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik yang memiliki peran ganda dalam kehidupan (Khastini *et al.*, 2022). Di satu sisi, berbagai bakteri memiliki peran penting dalam siklus nutrisi dan kesehatan lingkungan tapi di sisi lain, keberadaan bakteri yang patogen tetap menjadi ancaman serius bagi Kesehatan (Liyantifa & Afriansyah, 2025). Bakteri-bakteri patogen ini dapat menyebabkan berbagai penyakit infeksi, mulai dari infeksi ringan hingga penyakit berat yang mengancam jiwa (Ihsan, 2021). *Escherichia coli* adalah bakteri yang beberapa strainnya memiliki sifat yang patogen yang menyebabkan penyakit serius, seperti diare, Infeksi Saluran Kemih (ISK), dan

bahkan sepsis (Lase, 2021). sehingga hal ini menjadi fokus utama dalam meningkatkan kesehatan masyarakat. *Shigella dysenteriae* adalah bakteri yang bersifat patogen penyebab utama diare berdarah (disentri), suatu infeksi usus yang ditandai dengan diare berdarah, nyeri perut, dan demam (Kotloff *et al.*, 2013). *Salmonella typhii* adalah bakteri Gram-negatif dan bersifat patogen yang menyebabkan demam tifoid (*typhoid fever*), suatu penyakit sistemik yang ditandai dengan demam tinggi, sakit kepala, malaise, dan gangguan gastrointestinal (Stanaway *et al.*, 2019).

Infeksi bakteri merupakan suatu kondisi patologis yang terjadi ketika bakteri patogen berhasil masuk, bertahan, dan berkembang biak dalam tubuh inang, melebihi kemampuan

pertahanan alamiah inang tersebut (Kherid, 2020). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen terus menjadi masalah kesehatan global, terutama di negara berkembang seperti Indonesia (Jap & Widodo, 2021). Masalah kesehatan masyarakat utama di Indonesia masih mencakup demam tifoid, diare berdarah (disentri), dan penyakit gastrointestinal lainnya yang disebabkan oleh kuman berbahaya (Susanti *et al.*, 2024). Diare masih menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas, terutama pada anak balita, dengan angka morbiditas 7% pada tahun 2023 (Muttaqin, 2025). Sementara itu, demam tifoid di Indonesia dengan *Incidence Rate* 500 per 100.000 penduduk, dimana sekitar 80% kasus terjadi pada anak usia 3-19 tahun (Putri, 2023). Sehingga diperlukan upaya yang tepat untuk meningkatkan kesehatan masyarakat.

Pengobatan infeksi umumnya menggunakan antibiotik (Sudiri, 2019), namun penggunaan yang tidak rasional mengakibatkan terjadinya krisis resistensi antibiotik, yaitu bakteri menjadi kebal terhadap efek obat sehingga mengurangi efektivitas terapi (Niken *et al.*, 2023). Situasi ini mendorong pencarian sumber senyawa bioaktif dengan sifat antibakteri baru yang lebih aman, salah satunya dari bahan alam seperti jeruk manis (*Citrus sinensis*) yang kaya akan flavanon dan flavon polimetoksilasi yang sangat jarang ditemukan pada tanaman lain (Astuti *et al.*, 2021).

Buah jeruk manis terkenal karena kandungan vitamin C-nya (Budiarto *et al.*, 2023), namun juga merupakan sumber berharga lainnya seperti fenolik dan karotenoid yang terkenal memiliki manfaat kesehatan (Oikeh *et al.*, 2020). Kulit jeruk manis (adalah bagian dari buah jeruk yang sering dianggap sebagai sisa atau limbah setelah buahnya dikonsumsi (Andrade *et al.*, 2023). Ternyata kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) mengandung senyawa flavonoid seperti hesperidin dan naringin, serta senyawa limonoid seperti limonin yang memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan (Andrade *et al.*, 2023). Namun, dalam proses penggunaan senyawa bioaktif kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) terdapat masalah yang menjadi penghambat, seperti senyawa minyak atsiri (limonen) dan beberapa flavonoid (hesperidin)

tidak stabil terhadap panas (Nomura *et al.*, 2021). Pemanasan berlebih dapat menyebabkan penguapan, oksidasi, atau degradasi senyawa-senyawa bioaktif ini (Kamel *et al.*, 2022).

Karakteristik senyawa aktif kulit jeruk manis yang mudah terdegradasi oleh panas menjadi pertimbangan utama dalam pemilihan metode ekstraksi. Senyawa bioaktif seperti limonen dapat menguap, sementara flavonoid seperti hesperidin berisiko terhidrolisis pada suhu tinggi (Wu *et al.*, 2018). Oleh karena itu, metode maserasi dengan suhu kamar (Cacique *et al.*, 2020) dan bekerja berdasarkan prinsip perbedaan konsentrasi antara bahan tumbuhan dan pelarut (Amelia *et al.*, 2021). Maserasi merupakan teknik ekstraksi langsung yang melibatkan perendaman bahan tanaman dalam pelarut tertentu selama jangka waktu tertentu guna mengekstrak zat kimia aktif (Arrofiqi *et al.*, 2024). Metode ini dipilih sebagai solusi untuk meminimalisir kehilangan senyawa aktif mempertahankan stabilitas senyawa bioaktif selama proses ekstraksi.

Penelitian umumnya menguji aktivitas ekstraksi kulit jeruk menggunakan pelarut dengan variasi konsentrasi pelarut etanol 50%-96%. Penelitian ini memiliki karakteristik khusus yang membedakannya dari studi-studi sebelumnya, terutama dalam pemilihan rentang konsentrasi pelarut yaitu etanol 30%, 40%, dan 50% untuk ekstraksi senyawa bioaktif dari kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*). Pemilihan etanol sebagai pelarut dalam ekstraksi senyawa aktif dari kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) didasarkan pada karakteristiknya yang semipolar dan toksisitas yang rendah (Hakim, 2024), sehingga dapat menarik senyawa bioaktif dalam kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) seperti flavonoid (hesperidin) hingga minyak atsiri (limonen) (Do *et al.*, 2013). Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas antibakteri dari ekstraksi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dengan variasi konsentrasi pelarut etanol (30%, 40% dan 50%) pada bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella typhi*.

Bahan dan Metode

Jenis Penelitian

Penelitian termasuk penelitian eksperimental laboratorik. Tujuan penelitian ini

adalah menguji aktivitas antibiotik dari ekstraksi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) pada bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella typhi*.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan sejak bulan April sampai September 2025. Tempat pelaksanaan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Advent Indonesia di Jalan Kolonel Masturi No. 228 Cihanjuang Rahayu, Parongpong, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat 40559.

Alat dan Bahan

Alat penelitian ini adalah pisau, talenan, timbangan digital, *grinder* simplisia, oven, ayakan *mesh* 40, inkubator, timbangan digital, gelas ukur, labu kerucut, gelas piala, corong, pipet tetes, botol penyimpanan, tabung kerucut, gelas ukur, pipet ukur, spatula, shaker, kertas saring *whatman* nomor 1, karet penutup, *vaccum rotary evaporator*, botol vial, timbangan analitik, mikro pipet, kaca arloji, *hot plate*, batang pengaduk, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), lemari pendingin, *vortex*, cawan petri, ose, dan spiritus. Bahan penelitian ini adalah kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*), etanol 30%, 40% dan 50%, bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), antibiotik meropenem, dan cefotaxime.

Pembuatan Simplisia

Mencuci dan memotong kulit jeruk manis yang didapat dari kebun jeruk Purba Dolok, Simalungun, Sumatera Utara sebanyak 4.6 kg. Memotong dengan ukuran 1x2 cm, kemudian mengeringkan menggunakan oven dengan suhu 50° C selama 24 jam. Menghaluskan bahan yang telah dikeringkan menggunakan *grinder* dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh.

Pengenceran Pelarut

Pengenceran pelarut etanol akan menggunakan rumus pengenceran yaitu $C_1V_1 = C_2V_2$. Sebanyak 1000 mL etanol 30%, 40% dan 50% dibuat dari konsentrasi bahan utama etanol 70%. Untuk membuat 1000 mL 30% dibutuhkan 429 mL etanol 70% dan 571 mL air suling, untuk membuat 1000 mL etanol 40% dibutuhkan 571 mL etanol 70% dan 429 mL air suling, dan untuk

membuat 1000 mL etanol 50% dibutuhkan 714 mL etanol 70% dan 286 mL air suling.

Proses Ekstraksi

Proses maserasi digunakan untuk mengekstrak 300 gram simplisia. Menggunakan pelarut etanol 30%, 40%, dan 50%, simplisia dimaserasi selama 1 x 24 jam dengan rasio berat pelarut 1:10. Kertas saring *Whatman* no. 1 digunakan untuk menyaring ekstrak setelah proses maserasi 24 jam. *Evaporator* putar vakum kemudian digunakan untuk mengentalkan hasil penyaringan dengan metode penguapan selama tiga jam lima belas menit pada suhu 60 derajat Celcius dan kecepatan *evaporator* putar 100 rpm. Ekstrak kental kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 50°C selama 12 jam. Timbangan digital kemudian digunakan untuk menimbang ekstrak pekat setelah dipindahkan ke cawan petri. Hasil ekstrak yang diperoleh adalah 25,735 gram konsentrasi 30%, 23,837 gram konsentrasi 40%, dan 12,531 gram konsentrasi 50%. Semua hasil ekstraksi akan disimpan di dalam lemari pendingin.

Strerilisasi Alat

Alat dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan sebelum dipakai. Peralatan dilapisi dengan kertas HVS dan disterilkan menggunakan lemari sterilisator selama 15 menit.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Mengambil bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella typhi* menggunakan jarum ose dan disuspensikan dalam tabung reaksi berisi 10 mL NaCl fisiologis dengan konsentrasi 0,9 %. Mengaduk suspensi menggunakan *vortex* sampai merata selama 2 menit. Kemudian suspensi bakteri distandarisasi dengan McFarland 0,5 yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL menggunakan alat spektrofotometer.

Pembuatan Media Agar MHA

Sebanyak 18 cawan digunakan dengan setiap cawan berisi 20 mL media agar. Pembuatan media agar mengikuti panduan yang tertera pada kemasan yaitu setiap 38 gram agar *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dilarutkan dengan 1000 mL air suling. Oleh karena itu, dibutuhkan 13,68 gram bubuk agar *Mueller-Hinton Agar* (MHA) di dalam pelarut air suling sebanyak 360

mL. Kemudian, bubuk agar *Mueller-Hinton Agar* (MHA) akan dilarutkan dengan air suling di dalam labu kerucut pada *hot plate* dan diaduk menggunakan batang pengaduk sampai media agar bening. Larutan media agar akan disterilisasi menggunakan lemari steril selama 15 menit. Kemudian, larutan media agar dituangkan ke setiap cawan petri secara merata dan didiamkan sampai larutan agar memadat.

Pembuatan Konsentasi Larutan

Sebanyak 1 mg ekstraksi dari etanol 30%, 40%, dan 50% masing-masing dilarutkan dengan air suling sebanyak 10 mL dan diaduk menggunakan *vortex* sampai rata. Setelah itu, kertas cakram dengan ukuran 5 mm dicelupkan ke dalam larutan dan didiamkan selama 10 menit.

Pengujian Antibakteri dan Pengukuran Zona Hambat

Suspensi bakteri digoreskan ke cawan petri menggunakan metode *streak* dengan menggunakan penyeka kapas. Penyeka kapas direndam dalam tabung reaksi yang berisi suspensi bakteri selama 1 menit. Kemudian, penyeka kapas akan digoreskan menggunakan metode *streak* ke cawan petri yang berisi agar MHA. Setiap cawan petri yang telah diolesi bakteri kemudian ditutup dengan cakram kertas yang telah dicelupkan ke dalam larutan ekstrak. Setelah itu, cawan berisi ekstrak dan bakteri disimpan dalam inkubator bersuhu 34°C selama sehari penuh. Jangka sorong digunakan untuk mengukur zona hambat setelah 24 jam. Data dikumpulkan menggunakan zona bersih pada area cakram kertas sebagai referensi. Teknik analisis data menggunakan analisis parametrik univariat.

Hasil dan Pembahasan

Klasifikasi Daya Hambat

Berdasarkan diameter zona penghambatan, daya hambat diklasifikasikan menjadi empat kategori: sangat kuat (> 20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-9 mm), dan lemah (< 5 mm) (Pabundu *et al.*, 2024). Tabel 1 menampilkan semua kategori. Temuan penelitian menunjukkan bahwa diameter zona penghambatan lebih dari 20 mm dikaitkan dengan kategori sangat kuat. Di sisi lain, diameter zona penghambatan untuk kelompok lemah kurang dari 5 mm.

Tabel 1. Klasifikasi Daya Hambat

Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Hambat
> 20	Sangat Kuat
10-20	Kuat
5-9	Sedang
< 5	Lemah

Zona Hambat Ekstraksi Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) terhadap *Escherichia coli*

Ekstraksi 30% menghasilkan zona hambat yang berkisar antara 6,0 mm (replika 5) hingga 6,9 mm (replika 2). Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat pada ekstraksi 30% adalah 6,483 mm, yang tergolong sedang. Ekstraksi 30% menghasilkan zona hambat yang berkisar antara 6,0 mm (replika 5) hingga 6,9 mm (replika 2). Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat pada ekstraksi 30% adalah 6,483 mm, yang tergolong sedang. Ekstraksi 40% menghasilkan zona hambat yang berkisar antara 6,7 mm (replika 5) hingga 7,6 mm (replika 4). Pada ekstraksi 40%, rata-rata zona hambat berukuran 7,233 mm, yang tergolong sedang (Tabel 2).

Tabel 2. Ekstraksi Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) terhadap *Escherichia coli*

Perlakuan	Zona Hambat (mm)						Rata-Rata (mm)	Daya Hambat
	Replika 1	Replika 2	Replika 3	Replika 4	Replika 5	Replika 6		
Ekstraksi 30 %	6,8	6,9	6,3	6,6	6,0	6,3	6,483	Sedang
Ekstraksi 40 %	7,4	7,5	7,3	7,6	6,7	6,9	7,233	Sedang
Ekstraksi 50 %	7,9	7,8	7,6	8,0	7,3	7,5	7,683	Sedang

Zona hambat yang terbentuk dari ekstraksi 50% bervariasi dari 7,3 mm (replika 5) hingga 8,0 (replika 4). Rata-rata zona hambat pada ekstraksi 50% adalah 7,683 mm dengan kategori daya hambat sedang (tabel 2). Dari ekstraksi

dengan konsentrasi 30% ke 40% memiliki nilai rata-rata zona hambat yang meningkat dari 6,483 mm menjadi 7,233 mm. Begitu juga dengan ekstraksi konsentrasi 40% ke 50% mengalami peningkatan dari 7,233 mm menjadi 7,683 mm.

Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan kandungan senyawa aktif dalam ekstraksi meningkatkan efektivitas antibakteria (tabel 2).

Zona Hambat Ekstraksi Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) terhadap *Salmonella typhi*

Zona inhibisi hambat 2 adalah 5,3 mm, sedangkan replika 4 dan 5 adalah 6,7 mm. Ini merupakan hasil ekstraksi 30%. Dengan kategori inhibisi sedang, zona hambat rata-rata pada ekstraksi 30% adalah 6,183 mm (Tabel 3).

Ekstraksi 40% menghasilkan zona hambat berkisar antara 5,7 mm (replika 2) hingga 7,3 mm (replika 3 dan 5). Dengan kategori hambat sedang, zona inhibisi rata-rata pada ekstraksi 40% adalah 6,700 mm (Tabel 3). Ekstraksi 50% menghasilkan zona hambat berkisar antara 6,3 mm (replika 1) hingga 7,7 mm (replika 5 dan 6). Dengan kategori hambat sedang, zona inhibisi rata-rata pada ekstraksi 50% adalah 8,400 mm (Tabel 3).

Tabel 3. Ekstraksi Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) terhadap *Salmonella typhi*

Perlakuan	Zona Hambat (mm)						Rata-Rata (mm)	Daya Hambat
	Replika 1	Replika 2	Replika 3	Replika 4	Replika 5	Replika 6		
Ekstraksi 30 %	5,7	5,3	6,3	6,7	6,7	6,4	6,183	Sedang
Ekstraksi 40 %	6,0	5,7	7,3	6,9	7,3	7,0	6,700	Sedang
Ekstraksi 50 %	6,3	6,5	7,6	7,0	7,7	7,7	8,400	Sedang

Ekstraksi dengan konsentrasi 30% ke 40% memiliki nilai rata-rata zona hambat yang meningkat dari 6,183 mm menjadi 6,700 mm. Begitu juga dengan ekstraksi konsentrasi 40% ke 50% mengalami peningkatan nilai rata-rata zona hambat yaitu 6,700 mm menjadi 8,400 mm. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak meningkatkan efektivitas antibakteri (tabel 3).

Zona Hambat Ekstraksi Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) terhadap *Shigella dysenteriae*

Zona hambat yang terbentuk dari ekstraksi 30% bervariasi dari 6,0 mm (replika 5)

hingga 7,0 (replika 2). Rata-rata zona hambat pada ekstraksi 30% adalah 6,316 mm dengan kategori daya hambat sedang (tabel 4). Zona hambat yang terbentuk dari ekstraksi 40% bervariasi dari 6,4 mm (replika 3 dan 5) hingga 7,5 (replika 3 dan 5). Rata-rata zona hambat pada ekstraksi 40% adalah 6,833 mm dengan kategori daya hambat sedang (tabel 4). Zona hambat yang terbentuk dari ekstraksi 50% bervariasi dari 6,9 mm (replika 3 dan 5) hingga 7,8 (replika 2). Rata-rata zona hambat pada ekstraksi 50% adalah 7,250 mm dengan kategori daya hambat sedang (tabel 4).

Tabel 4. Ekstraksi Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) terhadap *Shigella dysenteriae*

Perlakuan	Zona Hambat (mm)						Rata-Rata (mm)	Daya Hambat
	Replika 1	Replika 2	Replika 3	Replika 4	Replika 5	Replika 6		
Ekstraksi 30 %	6,9	7,0	5,7	6,2	6,0	6,1	6,316	Sedang
Ekstraksi 40 %	7,3	7,5	6,4	6,7	6,4	6,7	6,833	Sedang
Ekstraksi 50%	7,7	7,8	6,9	7,1	6,9	7,1	7,250	Sedang

Ekstraksi dengan konsentrasi 30% ke 40% memiliki nilai rata-rata zona hambat yang meningkat dari 6,316 mm menjadi 6,833 mm. Demikian pula, nilai rata-rata zona hambat meningkat dari 6,833 mm menjadi 7,250 mm ketika konsentrasi ekstraksi dinaikkan dari 40% menjadi 50%. Hal ini menunjukkan bahwa efikasi antibakteri ekstrak meningkat seiring dengan peningkatan kadar komponen aktifnya (Tabel 4).

Hasil Analisis Statistik

Bakteri, konsentrasi, waktu (hari), dan interaksi antar variabel interaksi bakteri dengan konsentrasi, interaksi bakteri dengan waktu (hari), interaksi konsentrasi dengan waktu (hari), dan interaksi antara bakteri dengan konsentrasi dan waktu (hari) semuanya memiliki nilai signifikansi (p) menurut hasil analisis statistik univariat pada Tabel 5.

Bakteri memiliki nilai signifikansi ($p = 0,620$) lebih tinggi $\alpha = 0,05$ di antara faktor-faktor ini. Hipotesis "Tidak ada pengaruh jenis

bakteri yang digunakan terhadap ukuran zona hambat yang dihasilkan" diterima, yang menunjukkan bahwa jenis bakteri yang digunakan tidak memiliki dampak yang nyata terhadap ukuran zona hambat. Dengan kata lain, rata-rata zona hambat tidak berbeda secara signifikan menurut jenis bakteri yang digunakan dalam penelitian ini (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil Analisis Zona Hambat menurut Variabel-variabel Penelitian (Bakteri, Konsentrasi, Waktu dan Interaksinya)

Sumber		Jumlah Kuadrant Tipe III	DK	Kuadrant Rerata	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	5506.155	1	5506.155	4015.391	.000
	Error	2.743	2	1.371		
Bakteri	Hypothesis	2.289	2	1.145	.539	.620
	Error	8.494	4	2.124		
Konsentrasi	Hypothesis	9.037	2	4.519	155.414	.000
	Error	.116	4	.029		
Waktu (Hari)	Hypothesis	2.743	2	1.371	77.435	.998
	Error	5.993E-6	.000	.018		
Bakteri * Konsentrasi	Hypothesis	.254	4	.064	3.330	.069
	Error	.153	8	.019		
Bakteri * Waktu (Hari)	Hypothesis	8.494	4	2.124	111.330	.000
	Error	.153	8	.019		
Konsentrasi * Waktu (Hari)	Hypothesis	.116	4	.029	1.524	.283
	Error	.153	8	.019		
Bakteri * Konsentrasi * Waktu (Hari)	Hypothesis	.153	8	.019	.002	1.000
	Error	416.755	33	12.629		

Hipotesis nol yang menyatakan "Tidak terdapat pengaruh tingkat konsentrasi terhadap zona hambat yang terbentuk" ditolak karena data faktor konsentrasi pada Tabel 5 memiliki nilai signifikansi ($p = 0,000$) lebih kecil dari $\alpha = 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi ekstraksi memiliki pengaruh yang sangat signifikan terhadap ukuran zona hambat. Hipotesis "Tidak terdapat pengaruh waktu (hari) terhadap zona hambat yang terbentuk" diterima karena faktor waktu (hari) memiliki nilai signifikansi ($p = 0,998$) yang lebih tinggi dari nilai $\alpha = 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa lamanya waktu (hari) tidak memiliki pengaruh utama yang signifikan terhadap ukuran zona hambat (Tabel 5).

Interaksi antara bakteri dengan konsentrasi memiliki nilai signifikansi ($p = 0,069$) yang lebih besar dari nilai $\alpha = 0,05$. Maka hipotesis yang menyatakan "Tidak terdapat pengaruh dari interaksi antara bakteri dengan konsentrasi terhadap zona hambat yang terbentuk" diterima, artinya tidak terdapat interaksi yang signifikan antara bakteri dan konsentrasi. Pengaruh konsentrasi pada zona hambat tidak bergantung pada jenis bakteri yang diuji, begitu juga sebaliknya pengaruh jenis bakteri pada zona

hambat tidak bergantung pada konsentrasi (tabel 5).

Interaksi antara bakteri dengan waktu (hari) memiliki nilai signifikan ($p = 0,000$) yang lebih kecil dari $\alpha = 0,05$ (tabel 5). Maka hipotesis yang menyatakan "Tidak terdapat pengaruh dari interaksi antara bakteri dengan waktu (hari) terhadap zona hambat yang terbentuk." ditolak, artinya terdapat interaksi yang signifikan antara bakteri dengan waktu (hari). Pengaruh bakteri pada zona hambat bergantung pada waktu (hari). Semakin lama waktu (hari) semakin meningkat zona hambat yang terbentuk. Interaksi antara konsentrasi dengan waktu (hari) mempunyai nilai signifikansi ($p = 0,283$) yang lebih besar dari nilai $\alpha = 0,05$. Maka hipotesis yang menyatakan "Tidak terdapat pengaruh dari interaksi antara konsentrasi dengan waktu (hari) terhadap zona hambat yang terbentuk" diterima, artinya tidak terdapat interaksi yang signifikan antara konsentrasi dengan waktu (hari). Perubahan zona hambat seiring waktu tidak bergantung pada konsentrasi yang digunakan (tabel 5).

Interaksi antara bakteri, konsentrasi dan waktu (hari) memiliki nilai signifikansi ($p = 1,000$) yang lebih besar dari $\alpha = 0,05$ (tabel 5).

Maka hipotesis yang menyatakan “Tidak terdapat pengaruh interaksi antara bakteri, konsentrasi dan waktu (hari) terhadap zona hambat yang terbentuk.” diterima, artinya tidak terdapat interaksi yang signifikan antara bakteri dengan konsentrasi diberbagai level waktu (jam).

Kesimpulan

Studi ini menemukan bahwa daya hambat ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) terhadap bakteri *Salmonella typhii*, *Shigella dysenteriae*, dan *Escherichia coli* bervariasi tergantung pada penggunaan ekstraksi pelarut etanol 30%, 40%, atau 50%. Seiring meningkatnya konsentrasi ekstraksi, diameter zona hambat semakin membesar, terutama pada konsentrasi 50%. Seiring interaksi bakteri dan waktu (hari), diameter zona hambat juga semakin membesar. Setelah dosis 40% dan 30%, konsentrasi 50% menunjukkan daya hambat paling besar.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, staf laboratorium serta Universitas Advent Indonesia yang telah menyediakan fasilitas yang memadai sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Referensi

- Amelia, S., Amananti, W., & Febriyanti, R. (2021). Perbandingan Metode Maserasi dan Refluks terhadap Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*). *Diploma, DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama*. <http://eprints.poltektegal.ac.id/125/>
- Andrade, M. A., Barbosa, C. H., Shah, M. A., Ahmad, N., Vilarinho, F., Khwaldia, K., Silva, A. S., & Ramos, F. (2023). Citrus By-Products: Valuable Source of Bioactive Compounds for Food Applications. *Antioxidants*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/antiox12010038>
- Arrofiqi, M. R., Sakti, A. S., & Dita, F. (2024). Kajian Literatur: Aplikasi Sejumlah Metode Ekstraksi Konvensional untuk Mengekstraksi Senyawa Fenolik dari Bahan Alam. *Jurnal Penelitian Farmasi & Herbal*, 7 (1). <https://doi.org/10.36656/jpfh.v7i1.1972>
- Astuti, M. T., Ningsih, A. R., & Marcellia, S. (2021). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon L.*) terhadap Bakteri *Salmonella thypi* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 7(2), Article 2. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v7i2.84>
- Budiarto, R., Mubarak, S., Nursuhud, N., & Rahmat, B. P. N. (2023). Citrus is a Multivitamin Treasure Trove: A Review. *Journal of Tropical Crop Science*, 10(01), Article 01. <https://doi.org/10.29244/jtcs.10.1.57-70>
- Cacique, A. P., Barbosa, É. S., Pinho, G. P. de, & Silvério, F. O. (2020). Maceration Extraction Conditions for Determining the Phenolic Compounds and the Antioxidant Activity of *Catharanthus Roseus* (L.) G. Don. *Ciência e Agrotecnologia*, 44, e017420. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044017420>
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2013). Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of *Limnophila Aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Pabundu, D., Simbala, H., & Hariyanto, Y. (2024). Antibacterial Efficay Test of Ethanol Extract of Yaki Areca Nut (*Areca vestiaria*) Against the Growth of *Propionibacterium acnes*, the Cause of Acne. *PHARMACON*, 13(3), 761-769.
- Hakim, A. (2024). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Research Gate*. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Ihsan, B. (2021). Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio spp.* dan *Salmonella spp.*) yang Mengontaminasi Ikan Layang dan Bandeng di Pasar Tradisional: Identification of Pathogenic Bacteria Contamination (*Vibrio spp.* and *Salmonella spp.*) in Flying Fish and Milkfish in Traditional Markets. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 89–96.

- <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i1.34198>
- Jap, A. L. S., & Widodo, A. D. (2021). Diare Akut yang Disebabkan oleh Infeksi. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 27(3), 282–288. <https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v27i3.2068>
- Kamel, F., Sabir, S., Mahal, A., & Wei, X. (2022). In vitro Antibacterial Activity of Orange Peel Oil Extract from Citrus Sinensis Fruit in Erbil. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(4), 157–160. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2021.93484.4416>
- Khastini, R. O., Zahranie, L. R., Rozma, R. A., & Saputri, Y. A. (2022). Review: Peranan Bakteri Pendegradasi Senyawa Pencemar Lingkungan melalui Proses Bioremediasi. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(1), 345–360. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i1.4836>
- Kherid, M. T. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstraksi Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta Merr.*) dan Fraksinya terhadap *Salmonella typhi*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(2), 97–102. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.5>
- Kotloff, K. L., Nataro, J. P., Blackwelder, W. C., Nasrin, D., Farag, T. H., Panchalingam, S., Wu, Y., Sow, S. O., Sur, D., Breiman, R. F., Faruque, A. S., Zaidi, A. K., Saha, D., Alonso, P. L., Tamboura, B., Sanogo, D., Onwuchekwa, U., Manna, B., Ramamurthy, T., ... Levine, M. M. (2013). Burden and Aetiology of Diarrhoeal Disease in Infants and Young Children in Developing Countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A prospective, case-control study. *The Lancet*, 382(9888), 209–222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60844-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60844-2)
- Lase, H. (2021). Hubungan Personal Hygiene Penjamah dengan Keberadaan Bakteri *Eschericia coli* pada Es Batu yang Digunakan Penjual Minuman di Kecamatan Medan Timur Kota Medan Sumatera Utara. <https://repository.uhn.ac.id/handle/123456789/5250>
- Liyantifa, B., & Afryansyah, A. (2025). Peran Mikrobiota Usus dalam Homeostasis Imun: Pendekatan Kritis untuk Inovasi Kesehatan di Era Society 5.0. *Jurnal Penelitian Sains*, 27(0), 1–8. <https://doi.org/10.56064/jps.v27i0.1183>
- Muttaqin, A. (2025). Hubungan Sanitasi Lingkungan dengan Kejadian Diare pada Balita di Kelurahan Angke Kecamatan Tambora Kota Administrasi Jakarta Barat Tahun 2024. *Jurnal Untuk Masyarakat Sehat (JUKMAS)*, 9(1), 104–116. <https://doi.org/10.52643/jukmas.v9i1.6114>
- Niken, N., Arman, E., Pebriansyah, R., & Yusuf, R. N. (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstraksi Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Saintika Meditory*, 6(2), 296–305. <https://doi.org/10.30633/jsm.v6i2.1961>
- Nomura, R., Ohata, J., Otsugu, M., Okawa, R., Naka, S., Matsumoto-Nakano, M., & Nakano, K. (2021). Inhibitory effects of flavedo, albedo, fruits, and leaves of *Citrus unshiu* extracts on *Streptococcus mutans*. *Archives of Oral Biology*, 124(105056). <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105056>
- Oikeh, E. I., Oviasogie, F. E., & Omoregie, E. S. (2020). Quantitative Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activities of Fresh and Dry Ethanol Extracts of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (sweet Orange) peels. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00193-w>
- Putri, M. F. E. (2023). Determinan Kejadian Demam Typhoid di Wilayah Kerja Puskesmas Rawat Inap Kemiling Kota Bandar Lampung Tahun 2023. Diploma, Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang. <https://doi.org/10/DAFTAR%20PUSTAKA.pdf>
- Stanaway, J. D., Reiner, R. C., Blacker, B. F., Goldberg, E. M., Khalil, I. A., Troeger, C. E., Andrews, J. R., Bhutta, Z. A., Crump, J. A., Im, J., Marks, F., Mintz, E., Park, S. E., Zaidi, A. K. M., Abebe, Z., Abejie, A. N., Adedeji, I. A., Ali, B. A., Amare, A. T., ... Hay, S. I. (2019). The Global Burden of Typhoid and Paratyphoid Fevers: A

-
- Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(4), 369–381. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30685-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30685-6)
- Sudiri, S. H. (2019). Profil Penggunaan Antibiotik pada Pasien Rawat Jalan di RST Wirasakti Kupang Periode Maret–Mei 2018. Diploma, Poltekkes Kemenkes Kupang. <http://repository.poltekkeskupang.ac.id/2076/>
- Susanti, N., Rasyid, Z., Hasrianto, N., Redho, A., & Fadhli, R. (2024). Analisis Penyakit Diare di Desa Cipang Kiri Hulu dan Faktor Lingkungan Fisik yang Mempengaruhinya. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 23(3), 374–381. <https://doi.org/10.14710/jkli.23.3.374-381>
- Wu, G. A., Terol, J., Ibanez, V., López-García, A., Pérez-Román, E., Borredá, C., Domingo, C., Tadeo, F. R., Carbonell-Caballero, J., Alonso, R., Curk, F., Du, D., Ollitrault, P., Roose, M. L., Dopazo, J., Gmitter, F. G., Rokhsar, D. S., & Talon, M. (2018). Genomics of the Origin and Evolution of Citrus. *Nature*, 554(7692), 311–316. <https://doi.org/10.1038/nature25447>