

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri patogen yang bersifat oportunistik dan sering menjadi penyebab berbagai infeksi, termasuk infeksi luka, saluran kemih, dan saluran pernapasan. Bakteri ini memiliki kemampuan resistensi terhadap berbagai antibiotik, menjadikannya ancaman serius bagi kesehatan global (Behzadi et al, 2021). Menurut laporan *World Health Organization* (WHO) tahun 2024, resistensi antibiotik yang disebabkan oleh bakteri gram negatif, termasuk *P. aeruginosa*, menjadi salah satu prioritas tertinggi untuk pengembangan terapi baru (WHO, 2024). Indonesia sendiri menghadapi tantangan besar dalam menangani resistensi antibiotik akibat penggunaan yang tidak rasional, sehingga diperlukan alternatif terapi yang efektif dan ramah lingkungan (Lestari dan Marchaban, 2023).

Berbagai penelitian telah mengungkapkan potensi pemanfaatan bahan alam sebagai sumber senyawa antibakteri. Salah satu bahan yang menjanjikan adalah kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*). Konsumsi jeruk manis di Indonesia mengalami peningkatan signifikan dalam beberapa tahun terakhir, menyebabkan tingginya produksi limbah kulit jeruk yang belum dimanfaatkan secara optimal (Alvi et al., 2022). Kulit jeruk manis kaya akan senyawa bioaktif seperti *flavonoid*, *terpenoid*, *polifenol*, dan *limonin*, yang memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Limonin, yang merupakan komponen utama dalam kulit jeruk (98%), telah terbukti efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen, termasuk *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *P. aeruginosa* dalam penelitian *in vitro* (Azghar et al., 2023). Namun, penelitian terkait efektivitas ekstrak kulit *C. sinensis* dalam meningkatkan ketahanan organisme hidup terhadap infeksi *P. aeruginosa* secara *in vivo* masih sangat terbatas.

Dalam penelitian *in vivo*, *Drosophila melanogaster* atau lalat buah menjadi organisme model yang ideal untuk menguji efektivitas senyawa bioaktif terhadap patogen. *D. melanogaster* memiliki sistem kekebalan bawaan (*innate immunity*) yang mirip dengan vertebrata, serta lebih dari 70% kesamaan genetik dengan manusia (Harnish et al., 2021). Selain itu, siklus hidup yang cepat, biaya pemeliharaan rendah, dan kemudahan perawatan menjadikan *D. melanogaster* sebagai alternatif yang efisien dibandingkan dengan penggunaan hewan vertebrata (Liu dan Chassagne, 2023). Penggunaan *D. melanogaster* sebagai model infeksi *P. aeruginosa* telah banyak diaplikasikan dalam penelitian untuk memahami mekanisme interaksi patogen dan inang serta mengevaluasi potensi kandidat antimikroba.

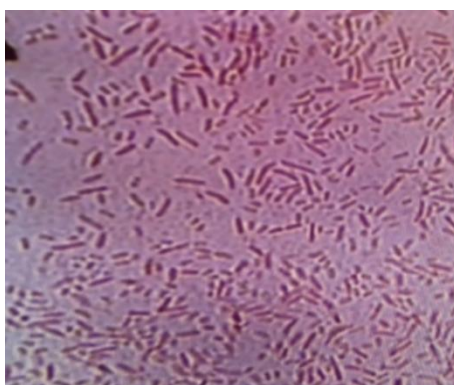
Berdasarkan permasalahan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas ekstrak kulit *C. sinensis* dalam meningkatkan *survival D. melanogaster* yang diinfeksi oleh *P. aeruginosa*. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi langkah awal dalam menemukan alternatif terapi berbasis bahan alam untuk mengatasi infeksi bakteri patogen, serta memberikan solusi dalam pemanfaatan limbah kulit

jeruk yang selama ini kurang dimaksimalkan. Dengan demikian, hasil penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam upaya mitigasi resistensi antibiotik melalui pemanfaatan bahan alam yang berkelanjutan dan ramah lingkungan.

1.2 Teori

1.2.1 *P. aeruginosa*

P. aeruginosa adalah bakteri Gram-negatif, berbentuk batang, asporogen, dan monoflagellata. Bakteri ini memiliki penampilan seperti mutiara dan bau seperti anggur atau tortilla. *P. aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 25°C hingga 37°C, dan kemampuannya untuk tumbuh pada suhu 42°C membantu membedakannya dari banyak spesies *Pseudomonas* lainnya. *P. aeruginosa* adalah mikroorganisme yang ada di mana-mana yang memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dalam berbagai kondisi lingkungan (Wu et al, 2015).



Gambar 1. Bakteri *P. aeruginosa* (Sulviana, 2017)

Secara fenotipik, *P. aeruginosa* menghasilkan pigmen khas seperti pyocyanin (biru-hijau), pyoverdine (kuning-hijau *fluoresen*), pyorubin (merah-coklat), dan pyomelanin (coklat-hitam). Pigmen-pigmen tersebut berperan dalam proses metabolisme, keseimbangan redoks, serta meningkatkan virulensi bakteri. Tingginya kemampuan adaptasi *P. aeruginosa* didukung oleh berbagai faktor virulensi, seperti produksi eksotoksin, enzim proteolitik, pigmen, serta kemampuannya membentuk biofilm yang berperan penting dalam meningkatkan patogenisitas dan persistensi infeksi. Selain itu, *P. aeruginosa* memiliki resistensi intrinsik dan didapat terhadap berbagai golongan antibiotik melalui mekanisme seperti produksi β -laktamase, peningkatan aktivitas pompa efluks, perubahan porin membran luar, serta pembentukan biofilm, sehingga menyulitkan penatalaksanaan terapi dan berkontribusi terhadap meningkatnya morbiditas dan mortalitas (Scania dan Ningsih, 2023).

P. aeruginosa memiliki kapasitas luar biasa dalam penyebaran resistensi antimikroba secara *in vivo* dengan risiko tinggi dan menimbulkan ancaman bagi kesehatan masyarakat. Kurangnya alternatif terapi yang disebabkan oleh bakteri ini

menimbulkan ancaman yang cukup besar terkait dengan morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. World Health Organization (WHO) pada tahun 2017 melaporkan bakteri *P. aeruginosa* yang resisten terhadap karbapenem, bakteri ini terdaftar pada kelompok “kritis” yang mana berperan untuk mendapatkan senyawa antibiotik baru sangat diupayakan (Nasri et al, 2022).

1.2.2 Kulit Jeruk Manis (*C.sinensis*)

Buah Jeruk merupakan buah lokal yang sering ditemukan di Indonesia. Buah jeruk sendiri dapat diolah menjadi berbagai jenis olahan yang sangat bermanfaat. Jeruk manis (*C. sinensis*) salah satu jenis jeruk yang dikonsumsi dengan cara diperas untuk dijadikan minuman. Selama ini kulit jeruk manis (*C. sinensis*) belum sepenuhnya dimanfaatkan dan menjadi limbah yang dibuang begitu saja. Sementara kulit dari buah jeruk memiliki kandungan yang bermanfaat, sehingga kulit buah jeruk dapat diolah menjadi produk yang berguna bagi masyarakat (Lestari et al., 2019).

Produksi buah jeruk di Indonesia menempati peringkat ketiga dari total produksi buah-buahan. Banyaknya permintaan jeruk ini mengakibatkan tingginya jumlah limbah kulit jeruk. Kulit buah jeruk biasanya hanya dibuang dan tidak dimanfaatkan, serta menjadi sampah yang tidak ada manfaatnya. Selama ini pemanfaatan kulit jeruk belum dilakukan secara intensif (Niken et al., 2023).



Gambar 2. *C. sinensis* (Kartikorini et al., 2021)

Kulit jeruk manis menghasilkan minyak atsiri yang sering digunakan sebagai aromatik dengan komposisi senyawanya adalah *limonene*, *sitronelal*, *gera-niol*, *linalol*, α -*pinen*, *mirsen*, β -*pinen*, *sabinen*, *geranil asetat*, *nonanal*, *geranial*, β -*kariofilen*, dan α -*terpineol*. Jeruk merupakan salah satu buah yang diminati oleh masyarakat, karena aromanya menyegarkan, dapat menjadi sumber vitamin C, harga relatif murah, rasanya manis, segar, mudah didapatkan (Niken et al., 2023). Menurut Novitasari (2018), klasifikasi tanaman jeruk manis adalah sebagai berikut :

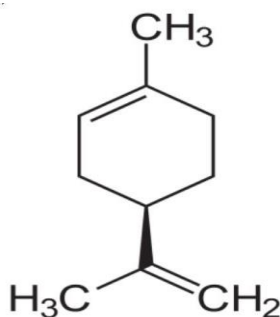
- Kingdom : Plantae (tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
- Super devisi : Spermatophyte (menghasilkan biji)
- Devisi : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
 Sub kelas : Rosidae
 Ordo : Sapindales
 Family : Rutaceae (suku jeruk-jerukan)
 Genus : *Citrus*
 Spesies : *C. sinensis* L

1.2.3 D-Limonene

Limonene merupakan senyawa yang berwujud cairan bening sampai kekuningan pada suhu ruang. Di alam ada dua macam limonene, yaitu *D-limonene* yang berbau seperti jeruk. *Limonene* bias didapatkan dengan cara mengekstrak kulit jeruk, dimana pada umumnya *limonene* dimanfaatkan sebagai perasa dan penambah aroma pada makanan, wewangian pada parfum (Ananda et al., 2022).

D-limonene diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang efektif terhadap berbagai bakteri Gram-negatif, termasuk *P. aeruginosa*. Aktivitas antibakteri *D-limonene* terutama berkaitan dengan sifatnya yang sangat lipofilik, sehingga mampu menembus lapisan lipid pada membran sel bakteri Gram-negatif. Mekanisme kerja *D-limonene* terhadap bakteri ini adalah dengan mengganggu integritas dan permeabilitas membran sel, yang menyebabkan kebocoran isi sel seperti protein, asam nukleat, serta ion penting yang dibutuhkan untuk menjaga keseimbangan osmotik dan metabolisme sel. Gangguan tersebut mengakibatkan disorganisasi membran sitoplasma, kerusakan struktur internal, serta akhirnya



kematian sel bakteri (Sanshita et al., 2025).

Gambar 3. Struktur *Limonene* (Ananda et al., 2022).

Pada bakteri Gram-negatif seperti *P. aeruginosa*, membran luar yang kaya lipid biasanya berfungsi sebagai penghalang terhadap banyak zat antimikroba. Namun, karena sifat lipofiliknya yang tinggi, *D-limonene* dapat melarut ke dalam lapisan lipid ganda membran luar, sehingga meningkatkan permeabilitas dan memudahkan masuknya senyawa lain yang bersifat antibakteri. Proses ini menyebabkan terganggunya fungsi membran, hilangnya gradien proton, dan penurunan produksi ATP, yang pada akhirnya menghentikan aktivitas vital sel. Studi dalam jurnal tersebut juga menjelaskan bahwa paparan *D-limonene* dapat menyebabkan perubahan morfologi sel, seperti pembengkakan, ruptur, serta terbentuknya lubang

pada dinding sel yang menandakan rusaknya sistem pertahanan bakteri (Sanshita et al., 2025).

1.2.4 *D. melanogaster*

D. melanogaster, atau yang lebih dikenal sebagai lalat buah, telah lama digunakan sebagai organisme model dalam penelitian genetika dan biologi perkembangan. Sejak diperkenalkan oleh Thomas Hunt Morgan lebih dari 100 tahun yang lalu, *Drosophila* telah menjadi alat penting dalam memahami berbagai konsep genetika



yang mendasar. Penelitian yang dilakukan pada *Drosophila* dari tahun 1910 hingga 1960-an telah membuka jalan bagi penemuan-penemuan baru dalam sistem biologi. Selain itu, *Drosophila* juga telah digunakan untuk mempelajari penyakit manusia dan strategi terapeutik, serta baru-baru ini dikembangkan sebagai model dalam studi toksikologi (Ong et al, 2015).

Gambar 4. Lalat Buah (*D. melanogaster*) (Mila dan Indahsari, 2023)

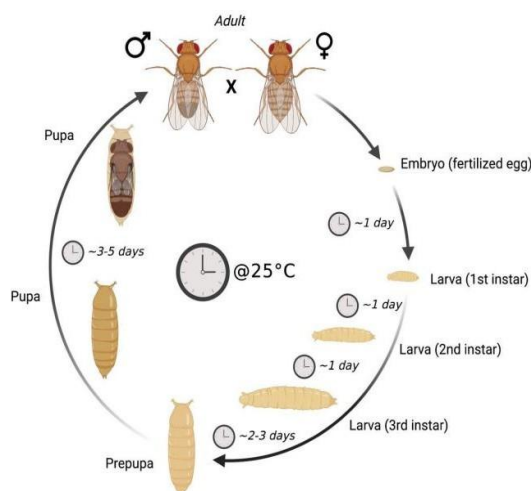
Menurut Sabrina et al. (2025), klasifikasi ilmiah *D.melanogaster* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Diptera
Famili	: Drosophilidae
Genus	: <i>Drosophila</i>
Spesies	: <i>D. melanogaster</i>

Keunggulan *Drosophila* sebagai organisme model terletak pada struktur genetiknya yang sederhana, terdiri dari hanya empat kromosom, dan genomnya yang telah sepenuhnya diurutkan dan dianotasi. Dengan sekitar 13.600 gen, *Drosophila* menawarkan kemudahan dalam manipulasi genetik dan pemahaman terhadap mekanisme molekuler yang mendasari berbagai fenomena biologis. Hal ini menjadikannya ideal untuk studi toksisitas, termasuk toksisitas nanomaterial yang semakin menjadi perhatian karena penggunaannya yang meluas dalam produk konsumen dan biomedis (Ong et al, 2015).

Drosophila juga diakui sebagai model yang efisien untuk studi nanotoksikologi karena siklus hidupnya yang pendek, tahapan perkembangan yang jelas, serta kemiripan fisiologis dengan manusia. Model ini memungkinkan peneliti untuk menguji toksisitas nanomaterial dengan cepat dan mengelucidasi mekanisme molekuler yang mendasari toksisitas tersebut. Selain itu, *Drosophila* dapat digunakan untuk mempelajari efek jangka pendek dan jangka panjang dari nanomaterial pada kesuburan, serta memberikan wawasan tentang mekanisme molekuler dan seluler yang terlibat (Ong et al, 2015).

Dalam konteks nanomaterial, *Drosophila* menawarkan keunggulan dibandingkan model organisme non-mamalia lainnya seperti *zebrafish* dan *C. elegans*. *Drosophila* memungkinkan pemberian nanomaterial melalui berbagai rute, termasuk *ingest* oral, paparan dermal langsung, dan paparan pernapasan, yang tidak dapat dilakukan dengan mudah pada model lain. Meskipun demikian, ada beberapa keterbatasan dalam penggunaan *Drosophila* sebagai model, seperti perbedaan mendasar antara serangga dan mamalia dalam beberapa aspek biologis (Ong et al, 2015).



Gambar 5. Siklus Hidup Lalat Buah (Brischigliaro et al., 2023).

Siklus hidup lalat buah (*Drosophila melanogaster*) berlangsung relatif singkat, terutama pada suhu optimal sekitar 25°C. Setelah kawin, lalat betina meletakkan telur yang telah dibuahi, dan dalam waktu sekitar 24 jam, embrio berkembang menjadi larva instar pertama. Larva kemudian mengalami dua kali pergantian kulit dan melalui tahap instar kedua serta ketiga, masing-masing juga berlangsung sekitar 24 jam. Selama fase larva ini, terjadi aktivitas metabolik yang sangat tinggi, termasuk peningkatan glikolisis, produksi laktat, serta sintesis glikogen dan trigliserida yang penting untuk proses metamorfosis. Setelah tahap instar ketiga (sekitar hari ke-2 hingga ke-3), larva memasuki fase pupa, di mana metamorfosis berlangsung selama 3–5 hari dan terbentuk jaringan-jaringan lalat dewasa. Setelah eklosi atau keluarnya lalat dewasa dari pupa, lalat menjadi fertil dalam waktu sekitar

24 jam dan siap bereproduksi. Umur hidup lalat buah berkisar antara 60–90 hari, tergantung pada kondisi lingkungan seperti suhu dan komposisi pakan (Brischigliaro et al., 2023).

1.3 Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak kulit *C. sinensis* dalam menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* pada model *in vivo* *D. melanogaster* serta menentukan konsentrasi ekstrak yang paling optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Manfaat penelitian ini memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya mengenai potensi bahan alami seperti kulit *C. sinensis* sebagai agen antibakteri. Secara teoritis, hasil penelitian ini dapat menjadi referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya yang berfokus pada pemanfaatan bahan alami dalam mengatasi resistensi antibiotik. Secara praktis, penelitian ini memberikan informasi yang bermanfaat mengenai efektivitas ekstrak kulit *C. sinensis*, sehingga dapat menjadi dasar bagi pengembangan produk antibakteri berbasis bahan alam yang aman, ekonomis, dan ramah lingkungan. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sosial bagi masyarakat dengan menawarkan solusi alternatif berbasis bahan alami yang mudah diakses untuk mengatasi infeksi bakteri, khususnya yang disebabkan *P. aeruginosa*.

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan dengan pendekatan secara eksperimental di Laboratorium Farmakologi-Toksikologi, Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin selama 3 bulan.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam riset ini adalah alat *analysis chamber*, *blender*, *cabinet dryer*, cawan petri, *colony counter*, *deck glass*, ekstraksi destilasi, lemari pendingin, mikropipet, mikroskop, *microtube*, *object glass*, ose steril, *rotary evaporator*, *round bottom plate*, *vial D. melanogaster*, dan wadah ekstrak. Bahan yang digunakan dalam riset ini antara lain *aquadest*, bakteri *P. aeruginosa*, *corn meal*, gas karbon dioksida (CO₂), gula pasir, kulit jeruk manis (*C. sinensis*), lalat buah (*D. melanogaster*), larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS), *medium Cetrimide Agar* (CETA), *medium Mueller Hinton Agar* (MHA), *medium Nutrient Agar* (NA), *Mueller Hinton Broth* (MHB), dan pisang.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group design*. Desain ini digunakan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak kulit *C. sinensis* sebagai agen antibakteri terhadap *P. aeruginosa* menggunakan model *in vivo D. melanogaster*. Penelitian ini membandingkan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak kulit *C. sinensis* dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan. Pengujian dilakukan untuk mengamati efektivitas antibakteri ekstrak melalui parameter pertumbuhan bakteri dan respons imun pada model *D. melanogaster*.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Penyiapan Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*C. sinensis*)

Kulit jeruk manis dikumpulkan kemudian dideterminasi. Selanjutnya kulit jeruk manis dibersihkan dan dilakukan sortasi basah. Proses ekstraksi untuk memperoleh minyak atsiri menggunakan dengan metode destilasi. Pertama-tama, sampel segar yang telah melalui proses sortasi dimasukkan ke dalam labu destilasi dengan perbandingan 1:10 antara berat sampel dan volume *aquadest*. Selanjutnya, alat destilasi, termasuk kondensor, dirakit dengan baik sehingga tersambung dengan labu destilasi dan erlenmeyer penampung. Proses ini dilakukan agar terjadi pemisahan yang sempurna antara air dan minyak atsiri setelah proses penguapan berlangsung (Daryono et al., 2023).

2.4.2 Penyiapan Stok *D. melanogaster*

Organisme model *Drosophila melanogaster* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari koleksi dosen pendamping di Laboratorium Farmakologi-Toksikologi, Universitas Hasanuddin. Seluruh stok lalat buah tersebut dipelihara secara terkontrol pada suhu 25°C dengan tingkat kelembaban 60% di bawah siklus gelap/terang masing-masing selama 12 jam, mengikuti prosedur standarisasi pemeliharaan yang telah dipublikasikan oleh Nainu et al. (2020).

2.4.3 Uji Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC-MS)

Tujuan dilakukannya analisis menggunakan teknik *Gas Chromatography Mass Spectroscopy* (GC-MS) adalah untuk mengetahui komposisi senyawa organik yang terkandung dalam suatu sampel. Dalam kasus ini, analisis GC-MS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang ada di dalam kulit jeruk manis. Menggunakan kondisi operasional suhu kolom 40°C, suhu injeksi 280°C, laju kolom 0,55 ml/menit, laju aliran 1 ml/menit, dan menggunakan kolom non-polar (Mursiti et al., 2019).

2.4.4 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan pada lalat buah galur *w¹¹¹⁸* dengan tujuan untuk menentukan konsentrasi optimum serta maksimum ekstrak kulit jeruk manis (*C. sinensis*) yang aman diberikan kepada *D. melanogaster*. Prosedur ini sangat krusial dalam memetakan ambang batas toleransi organisme model terhadap senyawa uji sebelum dilanjutkan ke tahap pengujian efektivitas, guna memastikan bahwa dosis yang digunakan tidak menimbulkan efek letal yang merugikan (Jelita et al., 2020).

2.4.5 Uji *In vivo*

Uji *in vivo* dilakukan untuk mengetahui efektivitas dari ekstrak kulit jeruk manis yang diberikan pada jenis *D. melanogaster* yaitu *w¹¹¹⁸*. Pada model infeksi *P. aeruginosa* larva diinfeksi dengan suspensi bakteri menggunakan metode *oral infection* yang dimodifikasi. sebanyak 500 µL *crush banana* dan 500 µL suspensi bakteri *P. aeruginosa* dimasukkan dalam *treff tube* dan dihomogenkan. Kemudian tabung diinkubasi selama 2 jam menggunakan suhu 25°C (Touré et al., 2023). Masing-masing tipe *D. melanogaster* dilakukan pengujian dengan memasukkan *D. melanogaster* ke dalam *vial* yang dibagi menjadi 5 kelompok.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan pengujian *in vivo* pada *D. melanogaster*

Kelompok Perlakuan	Komposisi (%)
	Ekstrak <i>C. sinensis</i>
Kontrol Normal	-
Kontrol Infeksi	-
Konsentrasi Ekstrak I	2%
Konsentrasi Ekstrak II	4%
Konsentrasi Ekstrak III	8%

2.4.5.1 Uji *Survival*

Uji *survival* dilakukan pada lalat buah w1118. Pengujian ini bertujuan untuk mengevaluasi *D. melanogaster* yang dapat bertahan hidup (Farrugia et al, 2022). Lalat dipelihara dalam vial yang berisi media pakan sesuai dengan perlakuan yang diberikan, kemudian dilakukan pengamatan secara berkala setiap 12 atau 24 jam selama periode penelitian. Pada setiap waktu pengamatan, jumlah lalat yang mati dicatat secara sistematis sebagai data untuk menilai tingkat kelangsungan hidup lalat buah (Vidal et al, 2024).

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

Prosedur pengamatan difokuskan pada uji *survival* untuk mengevaluasi tingkat kelangsungan hidup *D. melanogaster* setelah terpapar infeksi dan perlakuan. Selama periode penelitian, lalat dipelihara dalam vial dengan media pakan khusus dan dipantau secara berkala setiap 12 atau 24 jam untuk mencatat jumlah kematian secara sistematis. Parameter yang diukur meliputi jumlah koloni bakteri yang bertahan serta persentase *survival rate* pada setiap kelompok perlakuan. Selain itu, dilakukan pengukuran standarisasi ekstrak melalui perhitungan kadar susut pengeringan untuk memastikan kualitas simplisia yang digunakan. Seluruh data yang terkumpul, termasuk nilai standar deviasi, diolah dan dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak *GraphPad Prism*® untuk menentukan perbedaan signifikan antar kelompok uji.

BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

3.1.1 Ekstraksi Kulit Jeruk Manis

Pada proses ekstraksi kulit jeruk manis (*C. sinensis*) dilakukan dengan metode destilasi air-uap untuk menghasilkan minyak atsiri yang mengandung berbagai senyawa bioaktif. Berdasarkan hasil pengujian, minyak atsiri yang diperoleh teridentifikasi memiliki senyawa antibakteri potensial, dengan kandungan utama berupa senyawa *limonene* yang berperan penting dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen.



Gambar 6. Ekstrak Kulit Jeruk Manis

Pada proses standarisasi dilakukan dengan menghitung persentase kadar susut pengeringan pada ekstrak yang telah diolah menjadi simplisia untuk menjamin kualitas bahan baku. Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai susut pengeringan kulit jeruk manis (*C. sinensis*) adalah sebesar 9,0744%, di mana angka ini memenuhi standar mutu karena berada di bawah ambang batas maksimal 10%.

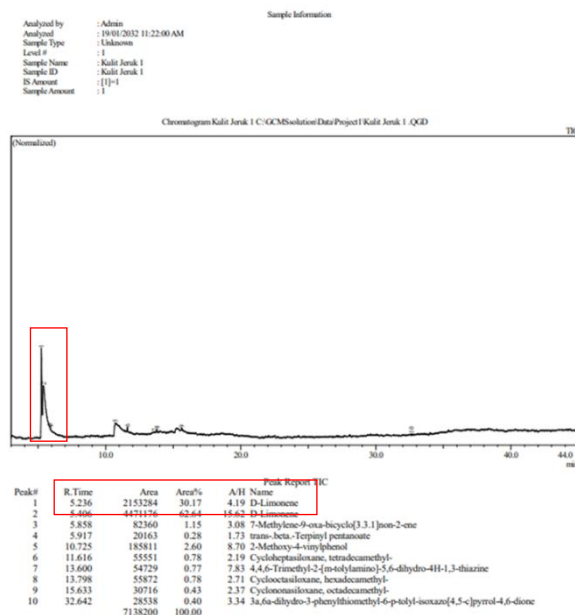
Tabel 2. Data Standarisasi

Metode	Hasil
Susut Pengeringan	9,0744%
Gravimetri	7,4142%

3.1.2 Uji Gas Chromatography – Mass Spectroscopy (GC-MS)

Pada pengujian GC-MS pada sampel ekstrak kulit jeruk manis (*C. sinensis*) menunjukkan hasil yang sangat signifikan. Melalui metode destilasi, ditemukan bahwa senyawa *limonene* merupakan komponen yang paling dominan dengan akumulasi kadar mencapai sekitar 92% (tepatnya 92,81%, hasil penggabungan puncak 1 dan 2).

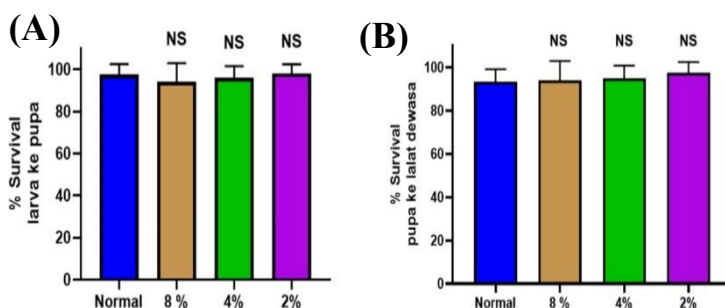
Dominasi senyawa ini menegaskan karakteristik khas dari minyak atsiri kulit jeruk, di mana *limonene* berperan sebagai pemberi aroma utama sekaligus senyawa bioaktif penting. Selain limonene, kromatogram juga menunjukkan adanya senyawa minor lain seperti *2-Methoxy-4-vinylphenol* (2,60%) dan beberapa turunan terpena lainnya dalam jumlah kecil, yang melengkapi profil kimiawi dari ekstrak tersebut.



Gambar 7. Hasil Uji GC-MS

3.1.3 Data Uji Toksisitas pada *D. melanogaster*

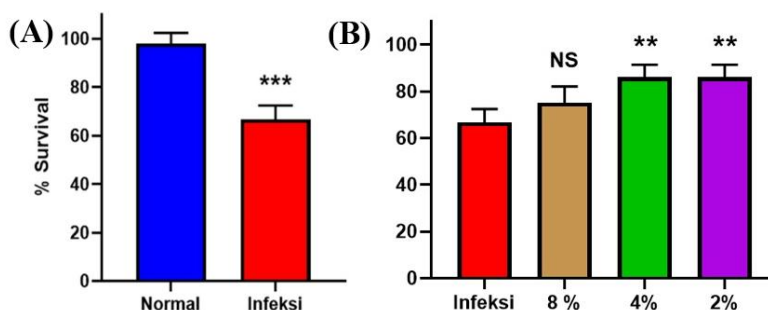
Pengujian toksisitas ini dilakukan dengan tujuan utama untuk mengevaluasi dan menetapkan ambang batas konsentrasi maksimum minyak atsiri kulit jeruk manis (*C. sinensis*) yang aman bagi organisme model *D. melanogaster* tanpa menimbulkan efek toksik atau letal yang merugikan. Dalam prosedur ini, dilakukan pengujian terhadap tiga variasi konsentrasi yang berbeda, yaitu 2%, 4%, dan 8%, untuk melihat respons biologis lalat buah terhadap paparan ekstrak tersebut. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pada ketiga tingkat konsentrasi tersebut, tidak ditemukan adanya tanda-tanda toksisitas maupun kematian yang signifikan pada *D. melanogaster*. Temuan ini mengonfirmasi bahwa seluruh konsentrasi yang diuji berada dalam rentang toleransi fisiologis organisme model, sehingga konsentrasi 2%, 4%, dan 8% dinyatakan layak dan aman untuk dilanjutkan ke tahap pengujian efektivitas antibakteri secara *in vivo* terhadap infeksi *P. aeruginosa*.



Gambar 8. Efek Pemberian Ekstrak Kulit Jeruk Manis terhadap *Survival D. melanogaster*. Perbandingan Sampel dengan Kontrol Normal Pada Masa Larva ke Pupa (A). Perbandingan Sampel dengan Kontrol Normal Pada Masa Pupa ke Lalat Dewasa (B). ns: *nonsignificant*. Setiap sampel dibandingkan dengan kontrol infeksi.

3.1.4 Uji *Survival* pada larva infeksi

Uji *survival* mengacu pada kemampuan *D. melanogaster* untuk bertahan hidup ketika terpapar infeksi *P. aeruginosa*. Adapun perlakuan yang diberikan yaitu ekstrak kulit jeruk manis yaitu 2%, 4%, dan 8%. Untuk kelompok kontrol yaitu normal dan infeksi. Hasil yang diperoleh menunjukkan pada tahap masa perkembangan dari larva menjadi pupa terjadi penurunan pada kelompok infeksi dibandingkan dengan kontrol normal. Pemberian ekstrak kulit jeruk manis pada larva yang telah diinfeksi menunjukkan penurunan pada konsentrasi 8 % dibandingkan dengan konsentrasi 4% dan 2% selama 60 jam setelah pemberian ekstrak. maka dilakukan tahap pengujian secara molekuler.



Gambar 9. Efek Pemberian Ekstrak Kulit Jeruk Manis terhadap *Survival D. melanogaster* Selama 60 Jam. Perbandingan Kontrol Normal dengan Kontrol Infeksi (A). Perbandingan Sampel dengan Kontrol Infeksi (B). ns: *nonsignificant*; ***: $p < 0,001$.

3.1 Pembahasan

3.2.1 Ekstraksi Kulit Jeruk Manis

Penerapan metode destilasi uap dalam proses penyarian sampel kulit jeruk manis pada penelitian ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Mursiti et al. (2019),

yang menyatakan bahwa metode tersebut mampu menghasilkan minyak esensial berbahan dasar kulit jeruk dengan kualitas yang baik. Temuan mengenai dominansi senyawa *limonene* dalam hasil ekstraksi ini memperkuat justifikasi potensi minyak atsiri *C. sinensis* sebagai agen antibakteri alami. Hal ini dikarenakan *limonene* merupakan senyawa golongan terpen yang memiliki mekanisme bioaktivitas dalam menghambat pertumbuhan serta perkembangan berbagai mikroorganisme patogen.

Hasil pengukuran kadar susut pengeringan sebesar 9,0744% menunjukkan bahwa simplisia kulit jeruk manis yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas yang memenuhi persyaratan mutu. Hal ini sejalan dengan literatur dari Maryam et al. (2020) yang menyatakan bahwa kriteria persentase kadar susut pengeringan yang baik untuk bahan alam adalah kurang dari 10%. Pencapaian nilai di bawah ambang batas tersebut mengindikasikan bahwa proses pengeringan telah dilakukan secara optimal untuk meminimalisir kadar air dan zat yang mudah menguap, sehingga risiko pertumbuhan mikroba atau degradasi enzimatik pada simplisia dapat ditekan selama masa penyimpanan.

3.2.2 Uji Gas Chromatography – Mass Spectroscopy (GC-MS)

Tingginya kadar *limonene* dalam ekstrak ini selaras dengan temuan riset Mursiti dkk. (2019), yang juga mendeteksi *D-limonene* sebagai senyawa mayor melalui pengujian GC-MS pada ekstrak kulit jeruk manis hasil destilasi. Fenomena ini diperkuat pula oleh teori Ananda et al. (2022) yang memerinci bahwa komponen utama minyak atsiri kulit jeruk terdiri atas *limonene* sebesar 95%, yang kemudian diikuti oleh senyawa minor lainnya seperti myrcene dan octanal. Dominansi *limonene* yang mencapai 92% dalam penelitian ini membuktikan efektivitas penggunaan metode destilasi dalam mengisolasi senyawa aktif utama yang berperan sebagai agen antibakteri potensial.

3.2.3 Data Uji Toksisitas pada *D. melanogaster*

Temuan mengenai ketiadaan efek toksik ini bersesuaian dengan pandangan Jelita et al. (2020) yang menekankan pentingnya evaluasi toksisitas untuk menjamin keamanan dosis bagi subjek hewan coba. Profil keamanan pada konsentrasi hingga 8% ini terjustifikasi oleh teori Sanshita et al. (2025) yang mengemukakan bahwa *D-limonene*, sebagai konstituen utama dalam ekstrak ini, memiliki tingkat toksisitas sistemik yang sangat rendah. Lebih jauh lagi, bukti empiris dalam studi toksikologi menunjukkan bahwa paparan *D-limonene* pada dosis moderat tidak memicu respons toksik maupun karsinogenik. Hal ini menegaskan kredibilitas penggunaan senyawa tersebut dalam berbagai eksperimen biologis, mengingat efek merugikan umumnya hanya terobservasi pada dosis ekstrem yang melampaui rentang fisiologis normal yang digunakan dalam penelitian ini.

3.2.4 Uji *Survival* pada larva infeksi

Kemampuan ekstrak kulit jeruk manis dalam menekan dampak infeksi *P. aeruginosa* berkorelasi positif dengan keberadaan senyawa antibakteri di

dalamnya, sebagaimana dinyatakan oleh Dewi (2019). Peningkatan kelangsungan hidup larva ini diduga kuat dipicu oleh bioaktivitas senyawa *D-limonene*. Merujuk pada studi Qaralleh et al. (2024), *limonene* bekerja secara spesifik mengganggu pembentukan biofilm dan sistem *quorum sensing* bakteri melalui penekanan ekspresi gen virulensi seperti *lasI/R* dan *rhlI/R*. Hal ini mengakibatkan terhambatnya produksi faktor virulensi berbahaya seperti *pyocyanin* dan *rhamnolipid*.

Mekanisme pertahanan ini diperkuat pula oleh temuan Sanshita et al. (2025) yang menjelaskan bahwa *D-limonene* meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran sitoplasma, serta mengganggu rantai respirasi seluler patogen. Signifikansi dari temuan ini tidak hanya terletak pada efikasi antimikrobanya, tetapi juga pada profil toksisitasnya yang rendah. Sifat biokompatibilitas ini memastikan bahwa peningkatan *survival rate* pada *D. melanogaster* merupakan hasil murni dari penghambatan bakteri dan bukan karena efek samping toksik dari ekstrak, sehingga mengukuhkan potensi ekstrak kulit jeruk manis sebagai agen terapi alami yang aman dan efektif.

BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak kulit *C. sinensis* terbukti efektif dalam meningkatkan tingkat kelangsungan hidup (*survival rate*) *D. melanogaster* yang terinfeksi *P. aeruginosa*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk manis memiliki aktivitas antibakteri secara *in vivo* yang mampu meningkatkan ketahanan organisme uji terhadap infeksi bakteri.
2. Konsentrasi ekstrak kulit *C. sinensis* sebesar 4% dan 2% merupakan konsentrasi optimal dalam meningkatkan *survival rate* *D. melanogaster* yang terinfeksi *P. aeruginosa*. Konsentrasi ini memberikan tingkat kelangsungan hidup tertinggi dibandingkan konsentrasi 8%, tanpa menimbulkan efek toksik pada organisme uji. Oleh karena itu, penelitian ini berpotensi sebagai terapi alternatif dalam menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*.

4.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian mengenai efektivitas ekstrak kulit jeruk manis (*C. sinensis*) dalam meningkatkan *survival* *D. melanogaster* terhadap infeksi *P. aeruginosa*, disarankan agar penelitian lanjutan dilakukan dengan menambahkan variasi konsentrasi yang lebih luas serta uji terhadap bakteri patogen lain untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai spektrum aktivitas antibakteri. Selain itu, uji toksisitas dan keamanan penggunaan pada hewan uji vertebrata perlu dilakukan untuk memastikan ekstrak yang diformulasikan aman digunakan. Penelitian selanjutnya juga dapat mengembangkan bentuk sediaan lain, seperti larutan, gel, atau nanopartikel, agar dapat dibandingkan efektivitas dan kestabilannya. Bagi masyarakat dan praktisi, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pemanfaatan limbah kulit jeruk manis sebagai bahan alami yang berpotensi dikembangkan menjadi produk herbal antibakteri sehingga dapat mengurangi ketergantungan pada antibiotik sintetis serta mendukung pemanfaatan sumber daya lokal secara berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvi, T., Asif, Z., dan Khan, M. K. I. 2022. Clean label Extraction of Bioactive Compounds from Food Waste through Microwave-assisted Extraction Technique-A Review. *Food Bioscience*. 46(3): 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101580>
- Azghar, A., Dalli, M., Azizi, S., Benaissa, E. M., Lahlou, Y. B., Elouennass, M., dan Maleb, A. 2023. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Citrus Peels Essential Oils Against Multidrug-Resistant Bacteria: A Comparative Study. *Journal of Herbal Medicine*. 42(4): 5-7. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2023.100799>
- Brischigliaro, M., Fernandez-Vizarra, E., dan Viscomi, C. 2023. Mitochondrial Neurodegeneration: Lessons from *D. melanogaster* Models. *Biomolecules*. 13(378): 1-22. <https://doi.org/10.3390/biom13020378>
- Daryono, E. D., Anggorowati, D. A., Verdina, F. P., dan Laily V. N. 2023. Ekstraksi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Dengan *Pretreatment Microwave* dan Distilasi Air- Uap. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 12(2): 116-123. <https://doi.org/10.32734/jtk.v12i2.12923>
- Dewi, A. D. R. 2019. Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) Dan Aplikasinya Sebagai Pengawet Pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 30(1): 83-90. <https://doi.org/10.6066/jtip.2019.30.1.83>
- Farrugia, M., Vassallo, N., dan Cauchi, R. J. 2022. Disruption of *Survival* Motor Neuron in Glia Impacts *Survival* but has no Effect on Neuromuscular Functionin *Drosophila*. *Neuroscience*. 491(2): 32-42. [10.1016/j.neuroscience.2022.03.013](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.03.013)
- Harnish, J. M., Link, N., dan Yamamoto, S. 2021. *Drosophila* as a Model for Infectious Diseases. *International journal of molecular sciences*. 22(5): 1-42. <https://doi.org/10.3390/ijms22052724>
- Jelita, S. F., Setyowati, G. W., Ferdinand, M., Zuhrotun, A., dan Megantara, S. 2020. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha Siamensis* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt). *Farmaka*. 18(1): 14-22. <https://doi.org/10.24198/jf.v18i1.25926>
- Kumar, L., Patil, P., Bisen, M., Srivastava, N., & Thakur, D. 2024. *Citrus sinensis* fruit peel phytochemicals inhibit *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and suppress motility phenotypes by potentially targeting quorum sensing pathways. *South African Journal of Botany*. 174:152–166. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.08.052>

- Liu, C., dan Chassagne, F. 2023. Assessment of The Effect of Antidiarrheal Drugs and Plant Extracts on *Drosophila* Melanogaster. *Journal of Visualized Experiments*. 3(201): 1-13. [10.3791/65877](https://doi.org/10.3791/65877)
- Maryam, F., Taebe, B., dan Toding, D. P. 2020. Pengukuran Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* JR & G. Forst). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*. 6(1): 1-12. [10.3791/65877](https://doi.org/10.3791/65877)
- Mursiti, S., Lestari, N. A., Febriana, Z., Rosanti, Y. M dan Ningsih, T. W. 2019. The Activity of *D-limonene* from Sweet Orange Peel (*C. sinensis* L.) Extract as a Natural Insecticide Controller of Bedbugs (*Cimex cimicidae*). *Oriental Journal Of Chemistry*. 35(4): 1420-1425. <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/350424>
- Nainu, F., Djide, M. N., Subehan, S., Sartini, S., Roska, T. P, Salim, E., dan Kuraishi, T. 2020. Tanda Tangan Pelindung Fraksi Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Staphylococcus Aureus* dalam Model Infeksi *Drosophila*. *Jurnal Biosains HAYATI*. 27(4): 306-306. <https://doi.org/10.4308/hjb.27.4.306>.
- Oboh, G., Olatunde, D. M., Ademosun, A. O. & Ogunsuyi, O. B. 2021. Effect of citrus peels-supplemented diet on longevity, memory index, redox status, cholinergic and monoaminergic enzymes in *Drosophila melanogaster* model. *Journal of Food Biochemistry*. 45(2): e13616. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13616>
- Qaralleh, H. 2024. *Limonene* as a Multi-Target Antibiofilm and Quorum Sensing Inhibitor Against *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Basic and Applied Research in Biomedicine*. 10(1): 80–88. <https://doi.org/10.51152/jbarbiomed.v10i1.245>
- Sanshita, N., Devi, N., Bhattacharya, B., Sharma, A., Singh, I., Kumar, P., Huanbutta, K., & Sangnim, T. 2025. From Citrus to Clinic: Limonene's Journey Through Preclinical Research, Clinical Trials, and Formulation Innovations. *International Journal of Nanomedicine*. 20: 4433–4460. <https://doi.org/10.2147/IJN.S514247>
- Scania, A. E., dan Ningsih, I. 2023. *Pseudomonas aeruginosa*: Permasalahan, Resistensi Antibiotik dan Pemeriksaan Mikrobiologi. *Pratista Patologi*. 8(3): 139–147. Available at: <http://www.majalahpratistapatologi.com/p/index.php/journal/article/view/131>.
- Touré, H., Herrmann, J. L., Szuplewski, S., dan Misguich, F. 2023. *Drosophila melanogaster* as an Organism Model for Studying Cystic

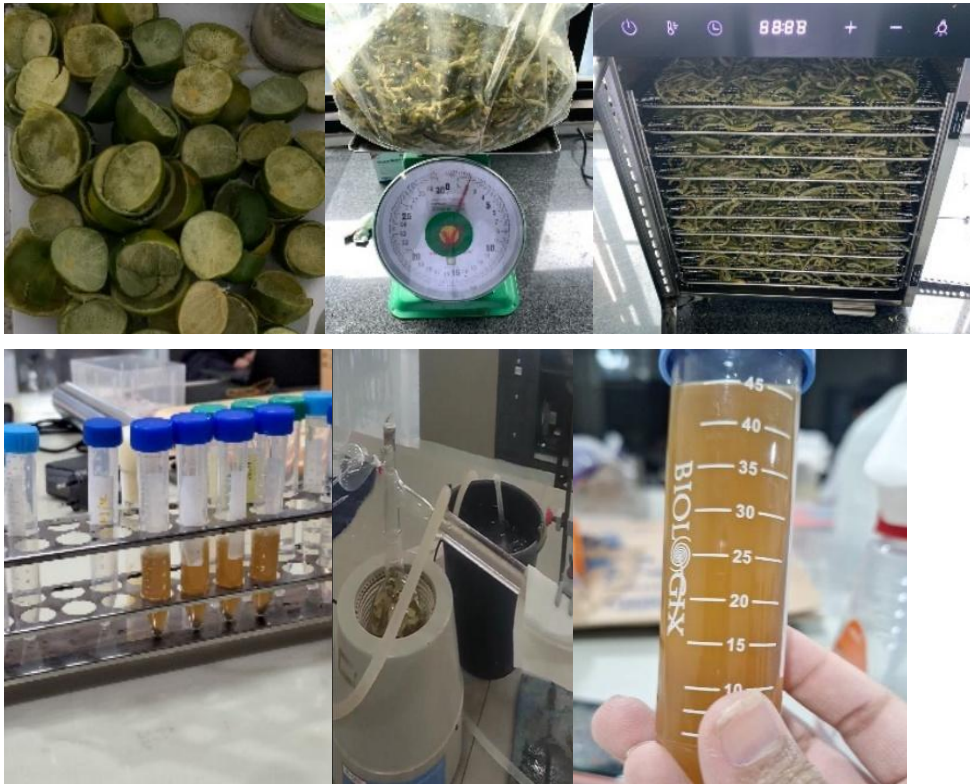
Fibrosis and its Major Associated Microbial Infections. *Infection and Immunity*. 91(11): 240-266. [10.1128/iai.00240-23](https://doi.org/10.1128/iai.00240-23)

Vidal, M., Arch, M., Fuentes, E. dan Cardona, P.-J. 2024. *Drosophila melanogaster* Experimental Model to Test New Antimicrobials: A Methodological Approach. *Frontiers in Microbiology*. 15: 1478263. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1478263>

Villalba, M. I., Rossetti, E., Bonvallat, A., Yvanoff, C., Radonicic, V., Willaert, R. G., dan Kasas, S. 2023. Simple Optical Nanomotion Method for Single-Bacterium Viability and Antibiotic Response Testing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 120(18): 1-3. <https://doi.org/10.1073/pnas.2221284120>

World Health Organization. 2024. *updated Bacterial Priority Pathogens List (BPPL)* 2024. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>. Diakses tanggal 4 Oktober 2025.

Lampiran 2. Penyiapan Ekstraksi *C. sinensis*



Lampiran 3. Penyiapan Sampel



Lampiran 4. Uji Toksisitas**Lampiran 5. Uji Survival**

