

Pengujian Efektivitas Ekstrak Kulit Jeruk Bali (*Citrus Maxima*) Berdasarkan Perbedaan Tingkat Kematangan Terhadap Daya Hambat Jamur Pada Roti

I Nyoman Sukarta¹), Nathasya Imanuella², I Gusti Ayu Agung Dyah Armayanti³, Desak Putu Eka Candrawati Arsini⁴ & Ni Made Sitiari⁵

^{1,2,3,4}Jurusan Kimia Universitas Pendidikan Ganesha Singaraja-Bali, Indonesia

⁵ Jurusan Biologi Universitas Pendidikan Ganesha Singaraja-Bali, Indonesia

e-mail¹: nyoman.sukarta@undiksha.ac.id

Abstrak

Roti merupakan sebuah produk makanan yang mudah rusak. Kerusakan roti disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk kerusakan akibat jamur, yang merupakan penyebab umum. Oleh karena itu, diperlukan penelitian mengenai bahan-bahan yang bisa digunakan untuk menghambat jamur pada roti. Bahan yang bisa digunakan yaitu limbah kulit jeruk bali (*Citrus maxima*). Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk menguji efektivitas penggunaan ekstrak kulit jeruk bali (*Citrus maxima*) berdasarkan perbedaan tingkat kematangan terhadap daya hambat jamur pada roti. Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan desain penelitian *Posttest Only Control Group Design* dengan tahapan yang terdiri dari pendeteksian tingkat kematangan jeruk (belum matang, matang dan lewat matang), maserasi ekstrak kulit jeruk bali, isolasi strain jamur pada roti, identifikasi jamur roti, uji *Agar Disk Diffusion/Kirby Bauer assay*, dan analisis data. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk bali matang memiliki rendemen tertinggi yaitu 57,70%. Berdasarkan hasil uji *Agar Disk Diffusion*, ekstrak kulit jeruk bali lewat matang dengan konsentrasi 40% memiliki aktivitas antijamur terhadap *Rhizopus stolonifer*, dengan diameter inhibisi rata-rata sebesar $12 \pm 2,8$ mm dengan kategori sedang, sedangkan ekstrak kulit jeruk bali kurang matang dan matang dengan konsentrasi 80% tidak menunjukkan aktivitas antijamur terhadap *Rhizopus stolonifer*. Hasil uji Kruskall Wallis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap aktivitas antijamur pada tingkat kematangan yang berbeda.

Kata kunci: *daya hambat, jamur roti, jeruk bali, tingkat kematangan*

Abstract

Bread is a perishable food product. Bread spoilage is caused by several factors, including mold damage, which is a common cause. Therefore, a research is needed to find a material that can be used to inhibit mold on bread. The material that can be used is waste pomelo peel (*Citrus maxima*). The specific purposes of this study was to test the effectiveness of using pomelo peel extract (*Citrus maxima*) based on different levels of maturity to inhibit mold growth on bread. The design of this study was a Completely Randomized Design (CRD) with a Posttest Only Control Group Design consisting some procedures consisting of the detection of citrus maturity levels, maceration of pomelo peel extract, isolation of fungal strains on bread, identification of bread molds, Agar Disk Diffusion /Kirby Bauer assay test, and data analysis. The result showed that ripe pomelo peel extract had the highest yield of 57.70%- based on the result of the Agar Disk Diffusion test, overripe pomelo peel extract with a concentration of 40% had antifungal activity against *Rhizopus stolonifera*, with an average inhibition diameter of 12 ± 2.8 mm in the medium category, while the pomelo peel extract was underripe and ripe with a concentration of 80% did not show antifungal activity against *Rhizopus stolonifera*. The result of the Kruskall Wallis test showed that there was no significant difference in antifungal activity at different maturity levels.

Keywords : *inhibition, bread molds, pomelo, maturity stages*

Pendahuluan

Roti merupakan produk makanan yang mudah rusak. Kerusakan pada roti diakibatkan oleh jamur sehingga dapat menyebabkan kerugian ekonomi. Vagelas menyebutkan bahwa sekitar 1 – 5% produksi roti berjalan tidak tepat akibat adanya aktivitas jamur (Vagelas *et al.*, 2011). Tercatat pada tahun 2019, terdapat kerugian ekonomi di Eropa yang diperkirakan lebih dari £200 juta per tahun akibat pembusukkan roti (Garcia *et al.*, 2019). Kerusakan karena jamur dapat menyebabkan kerugian pada industri roti karena roti yang ditumbuhi jamur tidak layak dikonsumsi karena jamur pada roti memproduksi zat berbahaya, seperti mitotoksin serta menimbulkan bau yang tidak sedap (Garcia & Copetti, 2019). Selain di negara-negara Eropa, negara dengan iklim tropis seperti Brazil juga mengalami permasalahan yang sama. Kerugian yang dialami oleh negara beriklim tropis akibat aktivitas jamur pada roti sekitar 11% (Garcia *et al.*, 2019). Di Indonesia sendiri industri roti mengalami peningkatan dengan rata-rata konsumsi roti per kapita pada tahun 2020 adalah 46,61 kg sedangkan pendapatan pada segmen penjualan roti dapat mencapai US\$15.345.500 (Statista, 2021). IndexBox memperkirakan bahwa pada tahun 2025 mendatang terjadi peningkatan konsumsi roti global sebesar 1,6% dan sebagian besar terjadi di negara seperti Indonesia yang mengembangkan olahan panggangan bergaya barat karena naiknya jumlah konsumen (Elliott *et al.*, 2019).

Permasalahan jamur pada roti dapat diatasi dengan menambahkan zat antifungi ke dalam produk roti. Terdapat penelitian terdahulu yang telah melakukan kajian mengenai aktivitas antifungi dari berbagai jenis kulit jeruk. Adapun penelitian oleh Rezende yang mengkaji tentang minyak atsiri kulit jeruk *Citrus sinensis* dengan kandungan limonen sebesar 95,2% dapat menghambat pertumbuhan jamur hitam (Rezende *et al.*, 2020). Selanjutnya, menurut penelitian yang dilakukan oleh Pasaribu menyatakan bahwa minyak atsiri kulit jeruk *Citrus nobilis* dapat menghambat pertumbuhan jamur hingga 78,39% (Pasaribu *et al.*, 2015). Disamping itu, telah dilakukan penelitian tentang efek inhibisi senyawa D-limonen pada beberapa ragi, ditemukan bahwa D-limonen dapat menghambat jamur pada konsentrasi rendah lebih baik daripada antibiotik standar. Namun pada penelitian ini terdapat beberapa mikroorganisme yang kebal terhadap efek inhibisi ini seperti *K. thermotolerans* dan *C. pulcherima*. Masih belum ditemukan keterkaitan yang jelas antara nilai *Minimum Inhibitory Concentration* atau konsentrasi hambat minimum senyawa D-limonen dengan diameter inhibisi (Ünal *et al.*, 2012). Untuk menghambat aktivitas jamur dengan penambahan minyak atsiri dapat dilakukan secara langsung (adisi langsung) atau melalui paparan uap untuk hasil yang lebih efektif (Velázquez-Nuñez *et al.*, 2013).

Di Bali, khususnya di Kabupaten Buleleng, terdapat persediaan limbah kulit jeruk dalam jumlah yang tidak sedikit. Pada tahun 2018 tercatat limbah kulit jeruk besar/bali (*Citrus maxima*) dihasilkan

seberat 47.671 kuintal, dan 54 kuintal jenis jeruk siam/keprok (*Citrus reticulata*) (Wibowo, 2018). Limbah kulit jeruk yang melimpah belum dimanfaatkan secara maksimal. Selain itu, belum ada penelitian yang relevan tentang hubungan tingkat kematangan jeruk dengan daya hambat jamur pada roti, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak kulit jeruk berdasarkan perbedaan tingkat kematangan terhadap daya hambat jamur pada roti.

Potensi manfaat yang diperoleh dari penelitian antara lain: (1) penelitian ini dapat menyumbangkan ide untuk mengurangi polusi akibat limbah dengan cara pemanfaatan limbah dalam mengatasi persoalan dalam kehidupan sehari-hari; (2) penelitian ini dapat bermanfaat untuk mengurangi kerugian yang dialami industri roti akibat pembusukan pada roti oleh aktivitas jamur; dan (3) penelitian ini dapat membantu pemerintah dalam mengurangi polusi akibat pembuangan limbah kulit jeruk dengan cara memanfaatkannya sebagai antifungi untuk menghambat pertumbuhan jamur pada roti.

Metode

Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan desain penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Penelitian dilakukan selama 2 bulan dan bertempat di Laboratorium Organik Jurusan Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Perikanan dan Kelautan, Universitas Pendidikan Ganesha.

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan terdiri dari blender, Erlenmeyer, kertas saring, corong kaca, aluminium foil, gelas ukur, gelas beaker, neraca analitik, mortar dan alu, pipet tetes, *rotary evaporator* (Hanhvapor), inkubator, autoklaf, heater, cawan petri, spatula, pengaduk kaca, pinset, lampu spiritus, kertas pH universal, vortex dan spektrofotometer UV-Vis. Bahan yang digunakan yaitu kulit jeruk bali yang kurang matang, matang, dan lewat matang, roti yang berjamur, etanol 95% teknis (*Medika*), alkohol 70% teknis, *parafilm tape*, *potato dextrose agar* (*Merck*), akuades steril, *cotton swab* steril, ketoconazole, metilen blue, NaCl 0,9% (*B Braun*), kertas cakram kosong diameter 6 mm (*Oxoid*), larutan standar McFarland 0,5 (*Remel*), dan asam tartrat (*Merck*).

2. Pendeteksian Tingkat Kematangan Jeruk

Proses pendeteksian tingkat kematangan jeruk dilakukan dengan dua pendekatan, yaitu kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif, tingkat kematangan jeruk merujuk pada hasil penelitian terdahulu milik Hongwiangan (2015) dan Susanto (2018) seperti berikut.

Tabel 1. Kriteria Tingkat Kematangan Jeruk (Hongwianjan *et al.*, 2015; Susanto *et al.*, 2018)

Kurang Matang	Matang	Lewat Matang
Ukuran buah lebih kecil, albeldo lebih tebal, warna kulit hijau tua, bintik pada kulit lebih kecil dan rapat, buah tidak berair dan rasanya asam.	Ukuran buah lebih besar, umumnya albeldo lebih tipis daripada jeruk yang kurang matang, warna kulit sedikit kekuningan, bitnik pada kulit lebih besar, buah lebih berair dan rasa lebih manis	Ukuran buah umumnya sama dengan jeruk matang, albeldo lebih tipis daripada jeruk matang, warna kulit hampir semuanya kekuningan, buah berair dan rasanya manis.

Pendeteksian tingkat kematangan dengan pendekatan kuantitatif dilakukan dengan cara mengukur diameter melintang buah jeruk, mengukur ketebalan kulit, serta mengukur massa jeruk. Hasil pengukuran kemudian dibandingkan dengan kriteria yang diperoleh dari hasil penelitian terdahulu milik Susanto dan kawan-kawan (2018) seperti berikut.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kuantitatif Tingkat Kematangan Buah Jeruk (Susanto *et al.*, 2018)

	A1	A2	A3
Diameter (cm)	17 MSA = 15 18 MSA = 15 19 MSA = 15	17 MSA = 13 18 MSA = 13 19 MSA = 13	17 MSA = 12 18 MSA = 12 19 MSA = 12
Kemulusan	58,5%	48,84%	41,83%
Volume (mL)	1717,33	1027,28	1096,87
Bobot buah (g)	1128,73	816,40	810,27
Tebal kulit (cm)	1,73	1,67	1,29
Rasio PTT/ATT	21,10	10,40	10,30

Semakin tinggi nilai rasio PTT/ATT maka semakin matang pula buah yang dihasilkan dan sering dijadikan kriteria waktu panen. Purwati *et al.* (1991) menyatakan bahwa rasio PTT/TAT menunjukkan peningkatan kematangan dengan semakin bertambahnya umur buah.

3. Ekstraksi Kulit Jeruk Bali

Sebelum melakukan proses maserasi, dilakukan proses pembuatan simplisia kering kulit jeruk bali. Pada tahapan pembuatan simplisia, kulit jeruk bali diiris tipis-tipis kemudian dikeringkan. Kulit jeruk bali yang sudah kering ditimbang untuk memperoleh bobot simplisia. Simplisia yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan direndam menggunakan etanol 95% teknis serta ditutup menggunakan aluminium foil. Maserasi dilakukan selama 2 x 24 jam dengan adanya penggojogan selama 10 menit. Proses ini dilakukan dengan cara dua kali pengulangan, dimana 24 jam pertama dilakukan maserasi dengan 500 mL pelarut etanol untuk tiap erlenmeyer. Setelah melewati 24 jam pertama, ekstrak cair ditampung dalam wadah lain kemudian residu dilarutkan kembali menggunakan 500 mL pelarut etanol baru. Ekstrak yang diperoleh merupakan ekstrak cair yang selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah diperoleh ekstrak kental,

selanjutnya ekstrak dibuat dengan konsentrasi yang berbeda-beda untuk setiap tingkat kematangan. Adapun masing-masing ekstrak akan dibuat dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%.



Gambar 1. Kulit jeruk yang dirajang Gambar 2. Maserasi kulit jeruk

4. Pembuatan media PDA

PDA dihomogenkan, dan dipanaskan diatas *hotplate* hingga mendidih. PDA tersebut diatur agar memiliki pH 5,6 dan ditambahkan akuades, serta asam tartrat 10%. PDA selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian, PDA dituangkan ke cawan petri, dibungkus dengan kertas atau disegel dengan parafilm dan didiamkan sampai padat.

5. Isolasi *Strain* dan Identifikasi Jamur

Jamur yang akan diuji terlebih dahulu dibiakkan di media PDA dengan cara memperoleh jamur pada roti yang membusuk. Bagian roti yang membusuk diambil sedikit dengan pinset untuk kemudian dikembangkan pada media tumbuh PDA dan diinkubasi dengan suhu 27°C. Koloni jamur yang sudah tumbuh selanjutnya diidentifikasi melalui pengamatan dengan mikroskop, dengan cara menempelkan 1 ose jamur pada preparat kaca yang sudah dibasahi NaCl 0,9%, kemudian ditetesi metilen biru dan ditutupi *cover glass*. Setelah dilakukan identifikasi spesies jamur akan dilakukan uji *Agar Disk Diffusion*.

6. Pembuatan suspensi jamur

Jamur yang sudah diidentifikasi kemudian diambil sebanyak 3 ose dan dilarutkan dalam 2 mL NaCl 0,9% dan dihomogenkan dengan vortex sampai warna larutan menjadi keruh. Kekeruhan larutan dibandingkan dengan larutan standar McFarland 0,5 yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Perbandingan dilakukan secara turbidimetri dan spektrofotometri

7. Uji *Agar Disk Diffusion*

Media PDA diinokulasi dengan suspensi jamur, kemudian kertas cakram yang sudah dibasahi dengan ekstrak ditempelkan ke dalam media PDA. Untuk kontrol negatif digunakan etanol 95% dan akuades steril serta kontrol positif digunakan ketoconazole 2%. Diameter inhibisi dihitung dengan cara jari-jari zona bening dikurangi jari-jari kertas cakram dikali dua. Pada uji *Agar Disk Diffusion*,

dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk mengurangi tingkat kesalahan. Respon hambatan pertumbuhan diklasifikasikan berdasarkan panjang diameter zona beningnya. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang efektif untuk menghambat pertumbuhan jamur dapat dilihat dari area atau zona inhibisi yang ditimbulkan. Zona inhibisi yang semakin besar menandakan senyawa tersebut semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur (Chusniah & Muhtadi, 2017).

Tabel 3. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan jamur (Puthera et al., 2007)

Diameter zona bening	Respon hambatan pertumbuhan
> 20 cm	Sangat kuat
1,6 – 2 cm	Kuat
1 – 1,5 cm	Sedang
< 1 cm	Lemah

8. Analisis Data

Analisis data dilakukan setelah memperoleh hasil berupa diameter inhibisi pada uji *Agar Disk Diffusion*. Data yang diperoleh akan diolah untuk memperoleh persentase inhibisi untuk selanjutnya disajikan dalam bentuk grafik atau tabel untuk memudahkan dalam penarikan kesimpulan. Selain itu, data juga dianalisis menggunakan uji statistik Kruskal-Wallis untuk menyimpulkan apakah terdapat perbedaan yang signifikan pada tingkat kematangan jeruk terhadap efektivitas ekstrak kulit jeruk bali pada pertumbuhan jamur.

Hasil Dan Pembahasan

1. Pendeteksian Tingkat Kematangan Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Tingkat kematangan jeruk bali dideteksi dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif, tingkat kematangan dilihat dari warna kulit, bintik kulit, dan ukuran. Kematangan jeruk bali yang dibeli dibandingkan ciri-cirinya dengan kriteria pada Tabel 1 di atas. Pendeteksian secara kuantitatif dilakukan dengan mengukur diameter melintang buah jeruk, mengukur massa, serta mengukur ketebalan kulit. Data pengukuran kemudian dibandingkan dengan kriteria seperti yang tertera pada Tabel 2. Adapun data yang diperoleh sebagai berikut.

Tabel 4. Data Pendeteksian Kematangan Buah Jeruk Bali

	A1	A2	A3
Diameter (cm)	13,3	14,8	14,7
Tebal albedo (cm)	1,7	1,7	1,1
Bobot buah (g)	807	821	1110
Kematangan	Belum matang	Matang	Lewat matang

Data di atas merupakan data pendeteksian jeruk yang sudah dibandingkan dengan kriteria kualitatif dan kriteria kuantitatif. Jeruk A1 memiliki tingkat kematangan yang kurang karena memiliki bobot yang cukup ringan, diameter melintang yang kecil, serta ketebalan albedo yang lebih tebal dibandingkan dengan jeruk A3. Jeruk A2 disimpulkan memiliki kematangan yang tepat karena diameter dan bobotnya lebih besar dibandingkan dengan A1, namun untuk tebal albedo tidak memiliki perbedaan, sehingga untuk membedakan jeruk A1 dengan A2, dapat dilihat dari aspek kualitatifnya yaitu A2 memiliki warna kulit lebih kuning dibandingkan dengan jeruk A1. Jeruk A3 memiliki tingkat kematangan yang lewat matang karena bobotnya jauh lebih besar dan ketebalan kulitnya lebih rendah dibandingkan dengan dua jeruk lainnya.

2. Rendemen Simplisia dan Rendemen Ekstrak Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Berdasarkan tahapan prosedur yang telah dilakukan, diperoleh data berupa rendemen simplisia dan rendemen ekstrak kulit jeruk bali (*Citrus maxima*) seperti disajikan pada Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 5. Data rendemen simplisia

Jenis jeruk	Bobot basah	Bobot kering	Rendemen simplisia
Jeruk bali kurang matang	308 g	103 g	33,44%
Jeruk bali matang	299 g	93 g	31,10%
Jeruk bali lewat matang	249 g	61 g	24,49%

Tabel 6. Data rendemen ekstrak

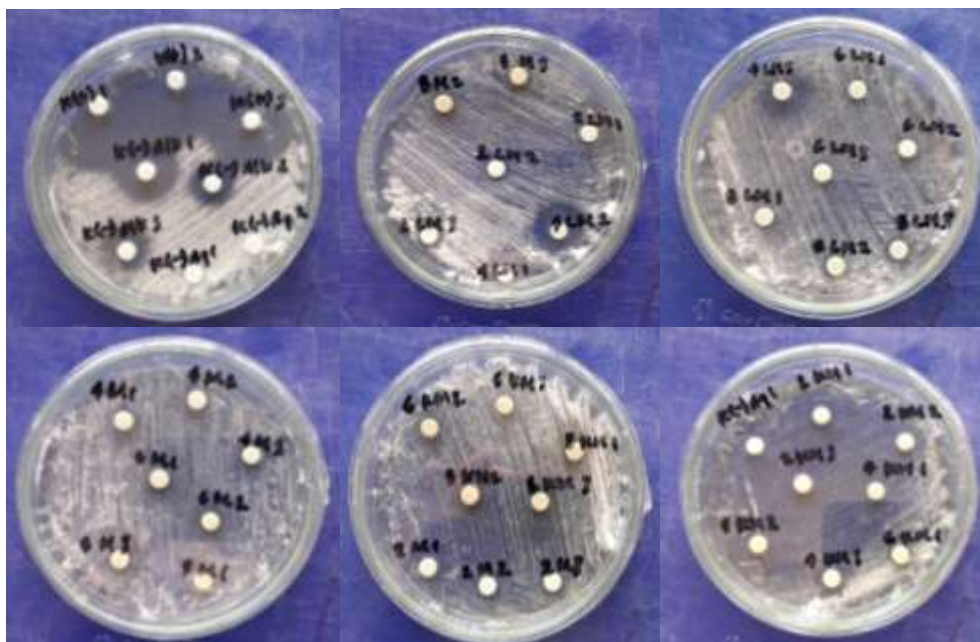
Jenis ekstrak kental	Rendemen ekstrak
Jeruk bali kurang matang	46,15%
Jeruk bali matang	57,70%
Jeruk bali lewat matang	44,54%

Berdasarkan data di atas, kulit jeruk bali kurang matang memiliki bobot terbesar sehingga rendemen simplisianya juga memiliki angka terbesar yaitu 33,44%. Hal ini dikarenakan jeruk bali yang kurang matang memiliki kulit yang lebih tebal dibandingkan dengan jeruk bali yang matang dan lewat matang. Pernyataan ini sejalan dengan kriteria yang disampaikan oleh Hongwiangjan dan kawan-kawan (2015) serta Susanto dan kawan-kawan (2018). Hasil pada tabel 5 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak kulit jeruk bali matang memiliki rendemen tertinggi yaitu 57,70%. Hasil ini senada dengan penelitian oleh Suryaningsih dan kawan-kawan (2019) yang menemukan bahwa rendemen ekstrak kulit jeruk bali memiliki rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan jeruk yang belum matang. Perbedaan rendemen yang diperoleh disebabkan karena perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak memiliki jenis yang sama namun kadarnya yang berbeda disebabkan oleh adanya proses pertumbuhan dan pematangan buah (Nainggolan *et al.*, 2018).

3. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak dengan *Agar Disk Diffusion*

Berikut data yang diperoleh dari hasil pengujian secara *in vitro* ekstrak kulit jeruk bali dengan perbedaan tingkat kematangan serta perbedaan konsentrasi terhadap *Rhizopus stolonifera*.

Gambar uji Agar Disk Diffusion disajikan pada Gambar 3. Sementara itu, hasil pengukuran diameter inhibisi disajikan pada Tabel 7; dan diagram pengaruh konsentrasi dan tingkat kematangan Jeruk Bali terhadap diameter inhibisi diisajikan pada Gambar 4.



Gambar 3. Uji Agar Disk Diffusion

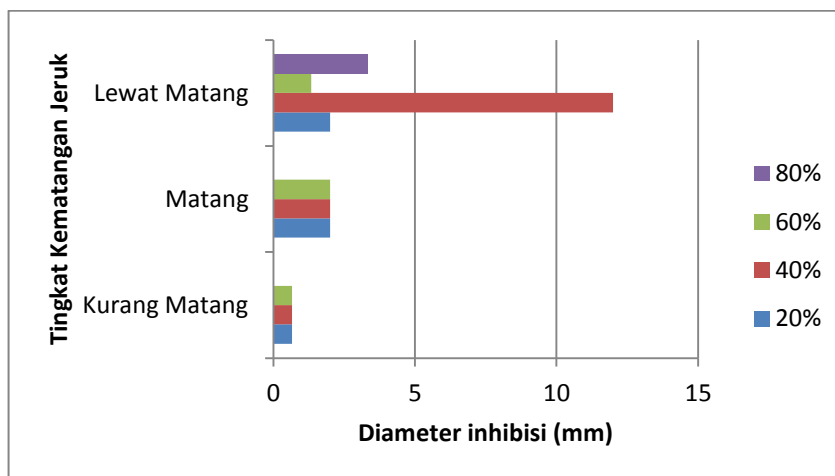
Tabel 7. Hasil Pengukuran Diameter Inhibisi

Perlakuan	Diameter inhibisi (mm)			Rata-rata (mm)	Respon hambatan pertumbuhan
	P1	P2	P3		
K (-) 1	0	0	0	0 ± 0	Lemah
K (-) 2	16	10	10	12 ± 2,8	Sedang
K (+)	42	38	28	36 ± 5,8	Sangat Kuat
20% KM	0	2	0	0,66 ± 0,9	Lemah
40% KM	2	0	0	0,66 ± 0,9	Lemah
60% KM	0	2	0	0,66 ± 0,9	Lemah
80% KM	0	0	0	0 ± 0	Lemah
20% M	0	2	4	2 ± 1,6	Lemah
40% M	2	2	2	2 ± 0	Lemah
60% M	2	2	2	2 ± 0	Lemah
80% M	0	0	0	0 ± 0	Lemah
20% LM	2	2	2	2 ± 0	Lemah
40% LM	8	14	14	12 ± 2,8	Sedang
60% LM	0	0	4	1,33 ± 1,8	Lemah
80% LM	2	4	4	3,33 ± 0,9	Lemah

Keterangan:

K (-) 1 = kontrol negatif akuades steril

K (-) 2	= kontrol negatif etanol 95%
K (+)	= kontrol positif larutan ketoconazole 2%
20%, 40%, 60%, 80%	= konsentrasi ekstrak
KM	= ekstrak jeruk bali kurang matang
M	= ekstrak jeruk bali matang
LM	= ekstrak jeruk bali lewat matang



Gambar 4. Diagram Pengaruh Konsentrasi dan Tingkat Kematangan Jeruk Bali terhadap Diameter Inhibisi

Berdasarkan data yang disajikan, dapat dilihat bahwa ekstrak kulit jeruk bali dengan kategori lewat matang memiliki aktivitas antijamur sedang terhadap *Rhizopus stolonifera* pada konsentrasi 40%. Hal ini ditunjukkan dengan timbulnya zona bening (zona inhibisi) dengan diameter $12 \pm 2,8$ mm. Ukuran diameter ini menunjukkan kategori sedang seperti yang ditunjukkan oleh kriteria pada [Tabel 3](#). Besar kecilnya zona hambat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak yang digunakan. Zona hambat akan semakin besar apabila konsentrasi ekstraknya lebih pekat karena konsentrasi yang semakin tinggi (pekat) memiliki komponen fitokimia terlarut dalam ekstrak lebih banyak. Pernyataan ini didukung oleh penelitian oleh Khan dan kawan-kawan (2018) yang menyatakan bahwa absorbansi ekstrak semakin tinggi seiring bertambahnya konsentrasi karena kandungan dalam ekstrak semakin banyak sehingga dapat menghambat mikroba lebih baik (Khan *et al.*, 2018). Namun pada penelitian ini tidak sesuai dengan pernyataan Khan (2018) karena hanya pada konsentrasi 40% pada ekstrak kulit jeruk bali lewat matang menunjukkan daya hambat sedang. Hasil ini diperoleh karena adanya pengaruh sifat kelarutan zat aktif pada ekstrak dan perbedaan kecepatan difusi pada media agar (Dewi, 2010). Selain itu, ekstrak kulit jeruk bali lewat matang dengan konsentrasi 40% memiliki daya hambat terhadap *Rhizopus stolonifera* paling tinggi dikarenakan jeruk bali lewat matang memiliki kandungan kimia yang lebih banyak. Hal ini didukung oleh penelitian Nainggolan (2018) yang menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam buah kadarnya meningkat seiring dengan kematangan buah karena adanya

pembentukan senyawa kimia selama proses pertumbuhan dan pematangan buah (Nainggolan *et al.*, 2018).

Adanya daerah bening menandakan ekstrak etanol kulit jeruk bali memiliki aktivitas antijamur karena mengandung senyawa metabolit sekunder di antaranya alkaloid, flavonoid, saponin, dan fenolik (Ani & Happiness, 2018). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Suryanita dan kawan-kawan (2019), diperoleh bahwa ekstrak kulit jeruk bali positif mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, triterpenoid/steroid, dan tanin (Suryanita *et al.*, 2019). Masing-masing senyawa metabolit sekunder ini

memiliki mekanisme yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan jamur. Mekanisme kerja alkaloid dalam menghambat pertumbuhan jamur adalah dengan cara menyerang mitokondria fungi sehingga terjadi disfungsi mitokondria yang mengakibatkan respirasi sel tidak normal (Dhamgaye *et al.*, 2014). Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak jeruk bali dapat menghambat jamur dengan cara menghambat sistem peredaran dalam sel jamur, menghambat pembelahan sel, menghambat proses sintesis protein, menghancurkan membran sel, menyebabkan disfungsi mitokondria, dan menghambat pembentukan dinding sel (Aboody & Suresh, 2020). Saponin yang terkandung dalam ekstrak jeruk bali menghambat pertumbuhan jamur *Rhizopus stolonifer* dengan cara merusak metabolisme sel jamur sehingga pertumbuhan hifa menjadi tidak normal (Jiang *et al.*, 2015). Terpenoid, steroid, dan tanin dalam ekstrak memiliki mekanisme penghambatan jamur dengan cara menghambat pembentukan perkecambahan spora, merusak dinding sel, dan dapat mengganggu metabolisme jamur oleh karena sifatnya yang lipofilik sehingga dapat melarutkan lipid yang terdapat dalam sel jamur sehingga mengganggu transmisi nutrisi (Alfiah *et al.*, 2015).

Kruskal-Wallis Test

		Ranks	
	Tingkat_Kematangan	N	Mean Rank
Diameter_Inhibisi	Kurang Matang	4	3.38
	Matang	4	6.75
	Lewat Matang	4	9.38
	Total	12	

Test Statistics^{a,b}

	Diameter_Inhibisi
Chi-Square	5.875
df	2
Asymp. Sig.	.053

- a. Kruskal Wallis Test
 b. Grouping Variable:
 Tingkat_Kematangan

Gambar 2. Hasil Uji Perbedaan Perlakuan dengan Kruskal-Wallis Test

Gambar di atas merupakan *output* atau hasil dari uji Kruskal-Wallis. Digunakan uji tersebut karena data yang diperoleh tidak berdistribusi normal, sehingga tidak dapat digunakan uji ANOVA. Berdasarkan luasan di atas, nilai signifikansi yang diperoleh sebesar 0,053 yang lebih besar dari 0,05; sehingga tidak ada perbedaan yang signifikan pada daya hambat jamur antara jeruk bali yang kurang matang, tepat matang, maupun lewat matang.

Simpulan

Berdasarkan pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak jeruk bali tepat matang memiliki rendemen terbesar yaitu 57,70%. Aktivitas antijamur yang paling tinggi dengan kategori daya hambat sedang ditunjukkan oleh ekstrak jeruk bali lewat matang dengan konsentrasi 40%, yaitu memiliki zona inhibisi dengan diameter $12 \pm 2,8$ mm. Hal ini dikarenakan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang mampu bekerja mengganggu metabolisme dan pertumbuhan sel jamur sehingga dapat menghambat pertumbuhan jamur. Besar kecilnya zona inhibisi dipengaruhi oleh konsentrasi, kecepatan difusi, serta kelarutan. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara jeruk bali kurang matang, tepat matang, dan lewat matang terhadap daya hambat jamur *Rhizopus stolonifera*.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi karena telah mendanai penelitian ini. Ucapan terima kasih kami ucapkan kepada pimpinan Fakultas MIPA universitas Pendidikan Ganesha yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Jurusan Kimia serta Jurusan Biologi Perikanan dan Kelautan.

Daftar Pustaka

- Aboody, M. S. A. & Suresh M. 2020. Anti-Fungal Efficacy and Mechanism of Flavonoids. *Antibiotics Journal*, 9(2).
- Alfiah, R. R., Siti K., & Masnur T. 2015. Uji Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Protobiot*, 4(1): 52-57
- Ani, P. N. & Happiness C. A. 2018. Nutrient, Phytochemical, dan Antinutrient Composition of *Citrus maxima* Fruit Juice and Peel Extract. *Food Science Nutrition*: 1-6.
- Chusniah, I., & Muhtadi, A. 2017. Review artikel: Aktivitas jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai antibakteri, antivirus, antifungal, larvasida dan athelmintik. *Farmaka*, 15(2): 9–22.
- Dewi, F. H. 2010. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu terhadap bakteri pembusuk daging. Skripsi, Universitas Sebelas Maret Jakarta
- Dhamgaye, S., F. Devaux, P. Vandeputte, N. K. Khandelwal, D. Sanglard, G. Mukhopadhyay & R. Prasad. 2014. Molecular Mechanism of Action of Herbal Antifungal Alkaloid Berberine, in *Candida albicans*. *PLOS*, 9(8): 1–9.
- Elliott, P., Kingwell, R., & Carter, C. 2019. *The growing consumption of bread and baked goods in Indonesia An Opportunity for Australian Wheat*. Edisi ke-1. Australian Export Grains Innovation Centre: Australia
- Garcia, M.V, & Copetti, M. 2019. Alternative methods for mould spoilage control in bread and bakery products. *International Food Research Journal*, 26(3): 737–749.
- Garcia, M.V, Bernardi, A. O., & Copetti, M. V. 2019. The fungal problem in bread production: insights of causes, consequences, and control methods. *Current Opinion in Food Science*, 29(1): 1–6.
- Hongwiangjan, J., Terdwongworakul A., & Nakawajana N. 2015. Assesment of Pomelo Maturity using Optical Properties and Characteristics of Its Peel. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*, 2(2): 88–91.
- Jiang, X., K. Feng. & X. Yang. 2015. In Vitro Antifungal Activity and Mechanism of Action of Tea Polyphenols and Tea Saponin against *Rhizopus stolonifera*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 25(4): 269–276.
- Khan, N. H., Chin J. Q., & Nabila P. 2018. Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activity Determination of *Citrusmaxima* Peel. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, 6(4): 279–285.
- Nainggolan, I., Indriyani & Yernisa. 2018. Pengaruh Tingkat Kematangan Buah terhadap Kandungan Fitokimia dan Aktivitas ANtioksidan Ekstrak n-heksan Kernel Biji The. *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian Universitas Jambi*: 354–367.

- Pasaribu, S., Wardenaar, E., & Wahdina. 2015. Uji Aktivitas Anti Jamur Ekstrak Minyak Atsiri Kulit Jeruk Citrus Nobilis Var. Microcarpa Terhadap Pertumbuhan Jamur *Schizophillum commune* Fries. *Jurnal Hutan Lestari*, 3(2): 259 - 264.
- Purwati, S.D., T. Sabrani, H.S. Haryadi, Soemarno. 1991. Stadia pemanenan buah mangga arumanis (Yogyakarta) untuk konsumsi segar. *J. Hort*, 1(1):15-18.
- Puthera, A, G.N Agung & A.S Duniaji. 2007 Mempelajari Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 2(1): 131-136.
- Rezende, J. L., Fernandes, C. C., Costa, A. O. M., Santos, L. S., Vicente Neto, F., Sperandio, E. M., Souchie, E. L., Colli, A. C., Crotti, A. E. M., & Miranda, M. L. D. 2020. Antifungal potential of essential oils from two varieties of citrus sinensis (Lima orange and bahia navel orange) in postharvest control of *Rhizopus stolonifer* (ehrenb.: Fr.) vuill. *Food Science and Technology*, 40(2): 405–409.
- Statista. 2021. *Bread & Cereal Products - Indonesia Statista Market Forecast*. URL:<https://www.statista.com/outlook/cmo/food/bread-cereal>
- Suryaningsih, S., M. Djali., B. Muslim & R. Adisaputra. 2019. Bioactive Content and Antioxidant Activity of Albedo Pomelo (*Citrus grandis*, *C. maxima*) Extract using A Method of 2,2-Dhipenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) in Various Types of Extraction Solvent. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology, Environment Science*, 21(4): 846–850.
- Suryanita, Aliyah, Yulia Y. D., Elly W., Latifah R., & Risfah Y. 2019. Identifikasi Senyawa Kimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 23(1): 16–29.
- Susanto, S., D. Hermansyah, & F. Amanda. 2018. The Growth and Quality of Fruit of Three Pummelo (*Cirus maxima* (Burn.) Merr.) Accessions. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*.
- Ünal, M. Ü., Uçan, F., Şener, A., & Dinçer, S. 2012. Research on antifungal and inhibitory effects of DL-limonene on some yeasts. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36(5): 576–582.
- Vagelas, I., Gougoulas, N., Nedesca, E. D., & Liviu, G. 2011. Bread contamination with fungus. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 3(2): 1–6.
- Velázquez-Nuñez, M. J., Avila-Sosa, R., Palou, E., & López-Malo, A. 2013. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, 31(1): 1–4.
- Wibowo, A. 2018. *Statistik Hortikultura Kabupaten Buleleng 2018*. Edisi ke-1. BPS Kabupaten Buleleng: Buleleng.