

NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***



MUHAMMAD IRFAN

I1011131014

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2016

NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***



MUHAMMAD IRFAN

I1011131014

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2016**

LEMBAR PENGESAHAN

NASKAH PUBLIKASI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO*

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

MUHAMMAD IRFAN

NIM. 11011131014

Disetujui Oleh

Pembimbing Utama



Dra. Siti Khotimah, M.Si

NIP. 19670202 199702 2 001

Pembimbing Kedua



dr. Sari Rahmayanti

NIP. 19870508 201404 2 001

Penguji Pertama



dr. M. In'am Ilmiawan, M.Biomed

NIP. 19791018 200604 1 002

Penguji Kedua



dr. Mistika Zakiah

NIP. 19880603 201504 2 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura



dr. Arif Wicaksono, M.Biomed

NIP. 19831030 200812 1 002

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***

Muhammad Irfan¹, Siti Khotimah², Sari Rahmayanti³

Abstrak

Latar Belakang: Infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganismenya. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu mikroorganismenya berupa bakteri potensial patogen penyebab penyakit infeksi dan sering bersifat *multidrug resistens*. Peningkatan resistensi antibiotik menyebabkan peningkatan penggunaan tanaman herbal. Mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) merupakan tanaman yang mengandung metabolit sekunder bersifat sebagai antibakteri. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. **Metodologi:** Daun *Mangifera foetida* L. diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etil asetat. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode uji kualitatif. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%. Kontrol positif menggunakan levofloksasin 5 µg/disk dan kontrol negatif menggunakan Tween 80 10%. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*. **Hasil:** Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun *Mangifera foetida* L. adalah fenol, flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etil asetat daun *Mangifera foetida* L. maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya. Ekstrak etil asetat daun *Mangifera foetida* L. memiliki zona hambat maksimum pada konsentrasi 100% sebesar 12,98 mm dan zona hambat minimum pada konsentrasi 50% sebesar 6,42 mm terhadap pertumbuhan *S. aureus*. **Kesimpulan:** Ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: Antibakteri, Ekstrak etil asetat daun mangga bacang, *Staphylococcus aureus*.

-
- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
 - 2) Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
 - 3) Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHYL ACETATE EXTRACT OF *Mangifera foetida* L. LEAVES AGAINST *Staphylococcus aureus*

Muhammad Irfan¹, Siti Khotimah², Sari Rahmayanti³

Abstract

Background: Infection is a disease caused by microorganisms. *Staphylococcus aureus* is one of potentially pathogenic microorganisms that cause infectious diseases and multidrugs resistance. Increasing of antibiotic resistance causes the increased use of herbal plants. *Mangifera foetida* L. is a plant that contains secondary metabolites act as an antibacterial. **Objective:** The aim of this study is to investigate the antibacterial activity of ethyl acetate extract of *Mangifera foetida* L. leaves that inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. **Method:** *Mangifera foetida* L. leaves extracted by maceration using ethyl acetate. Qualitative test was used in the phytochemical screening. The concentration of extract that used in this research was 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100%. Levofloxacin 5 µg/disk was used as positive control while Tween 80 10% was used as negative control. Antibacterial activity was measured using the Kirby-bauer disc diffusion method. **Result:** Secondary metabolites which are contained in the ethyl acetate extract of *Mangifera foetida* L. leaves were phenol, flavonoid, saponin, tannin and alkaloid. The higher concentration of ethyl acetate extract of *Mangifera foetida* L. leaves has higher antibacterial activity. The ethyl acetate extract of *Mangifera foetida* L. leaves has a maximum inhibitory zone (12,98 mm) at 100% concentration and minimum inhibitory zone (6,42 mm) at 50% concentration on the growth of *Staphylococcus aureus*. **Conclusion:** The ethyl acetate extract of *Mangifera foetida* L. leaves possesses an antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Keyword: Antibacterial, Ethyl acetate extract of mangga bacang leaves, *Staphylococcus aureus*.

-
- 1) Medical School, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan.
 - 2) Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Tanjungpura University, West Kalimantan.
 - 3) Department of Microbiology, Medical School, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan.

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan mikroorganisme bersel tunggal dengan konfigurasi seluler prokariotik atau disebut juga tidak memiliki selubung inti. Bakteri sebagai salah satu makhluk hidup yang juga memiliki informasi genetik berupa DNA, tetapi DNA tersebut tidak terlokalisasi pada satu tempat khusus dan tidak terdapat membran inti. Bakteri terbagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.¹

Staphylococcus adalah bakteri gram positif yang berbentuk kokus atau bulat yang terkumpul irregular seperti anggur. Kelompok bakteri ini sebenarnya merupakan flora normal yang ada di kulit dan membran mukosa pada manusia. *Staphylococcus* memiliki genus sekitar 45 spesies, tetapi yang paling sering dijumpai adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Staphylococcus saprophyticus*.²

Staphylococcus aureus adalah salah satu bakteri potensial patogen yang ada pada tubuh manusia dan keadaannya berimbang dengan bakteri lain.³ *S. aureus* juga merupakan penyebab 70% penyakit infeksi nosokomial dan menjadi salah satu patogen virulen yang cukup sering (21,7%) pada infeksi pasien rawat inap. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh WHO pada 55 rumah sakit di 14 negara didapatkan hasil 8,7% dari pasien rawat inap di rumah sakit mendapatkan infeksi nosokomial dan lebih dari 1,4 juta orang di dunia menderita komplikasi infeksi yang diperoleh di rumah sakit. Prevalensi tertinggi infeksi nosokomial dilaporkan berasal dari rumah sakit di Timur Tengah dan Asia Tenggara sebesar 11,8 dan 10,0%.⁴ Infeksi nosokomial di Indonesia sebesar 23,5% dan berdasarkan data yang diambil di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soedarso Kota Pontianak selama tahun 2013 didapatkan kasus infeksi nosokomial di ruang bedah, ruang anak dan ruang kebidanan masing-masing 7 kasus serta di ruang ICU 11 kasus.⁵ *S. aureus* juga sering menginfeksi kulit dan jaringan di sekitarnya dengan cara invasif, beberapa contoh penyakit yang disebabkan bakteri *S. aureus* adalah osteomielitis, pneumonia, empiema,

meningitis, endokarditis atau sepsis dengan supurasi di berbagai organ.⁶ *Methicillin-resistant S. aureus (MRSA)* merupakan satu di antara strain *S.aureus* berbahaya yang sering ditemukan pada berbagai penyakit mulai dari yang ringan, *noninvasive, skin and soft tissue infections (SSTIs)* sampai bentuk *invasive* bahkan sampai bakterimia.⁷

Pengobatan penyakit-penyakit infeksi tersebut biasa menggunakan antimikroba atau antibiotik. Antimikroba digunakan untuk mengatasi masalah infeksi dengan menghambat atau membunuh mikroba yang menginfeksi tersebut. Penggunaan antimikroba yang semakin sering membuat mikroba juga semakin resisten. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik terutama golongan β -laktam karena bakteri ini dapat menghasilkan enzim β -laktamase dan di beberapa tempat bakteri ini juga sudah resisten terhadap vankomisin.⁸ Resistensi bakteri terhadap antibiotik menyebabkan banyak kerugian pada pasien, salah satunya peningkatan biaya pengobatan dan menyebabkan pengobatan yang tidak adekuat.⁹

Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik menyebabkan semakin banyaknya penggunaan tanaman herbal sebagai antibiotik.¹⁰ Salah satu tanaman herbal adalah mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) yang merupakan spesies buah mangga dari golongan famili *anacardiachae* yang banyak terdapat di wilayah Indonesia. Mangga bacang pada ekstrak air dan etanol memiliki kandungan metabolit sekunder berupa saponin, steroid, triterpenoid, fenol dan flavonoid.¹¹ Penelitian Purwaningsih *et al*¹² mengatakan bahwa kandungan mangiferin yang merupakan senyawa golongan flavonoid pada ekstrak daun *Mangifera foetida* lebih tinggi 2,56% dibanding jenis mangga lain.^{11,12}

Penelitian antibakteri dengan menggunakan ekstrak etanol daun mangga bacang sudah pernah dilakukan dan didapatkan hasil yang cukup baik terhadap zona hambat bakterinya, sehingga peneliti merasa perlu

dilakukan uji aktivitas antibakteri tetapi dengan pelarut berbeda berupa etil asetat. Pada beberapa penelitian didapatkan hasil zona hambat ekstraksi tanaman dengan etil asetat terhadap bakteri *S. aureus* lebih besar dibanding dengan menggunakan ekstrak etanol yang dikarenakan sifat dari etil asetat yang merupakan semipolar. Selain itu, dikatakan pada suatu penelitian oleh Venkatesh bahwa etil asetat dapat melarutkan fitokimia lebih aktif daripada etanol.^{13,14} Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat daun mangga bacang terhadap bakteri *S. aureus*.

METODOLOGI

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *vacuum rotary evaporator* (Rotavapor II BUCHI), pisau, wadah plastik, *blender* (Phillips®), *Hot plate* (Memmert®), timbangan analitik (Precisa®), sendok *stainless*, oven (Memmert®), inkubator (Memmert®), cawan porselen, desikator, corong kaca (Iwaki Pyrex®), *Biological Safety Cabinet* (BSC) (ESCO class II type B2®), autoklaf (HL36Ac®), labu ukur 25 mL dan 100 mL (Iwaki Pyrex®), gelas ukur 50 mL (Iwaki Pyrex®), vial, tabung erlenmeyer 250 mL (Iwaki Pyrex®), *Beaker glass* 600 mL dan 1000 mL (Iwaki Pyrex®), tabung reaksi 15 mL (Iwaki Pyrex®), batang pengaduk (Iwaki Pyrex®), *object glass* (Iwaki Pyrex®), cawan petri (Iwaki Pyrex®), pipet tetes (Iwaki Pyrex®), jangka sorong, jarum Ose, mikroskop (Olympus®CX 21), panci *stainless*, tip dan mikropipet (Acura®), pembakar Bunsen, kain *Flannel*, pipet ukur 10 mL, rak tabung reaksi, baskom, ember.

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah daun mangga bacang (*Mangifera Foetida* L.) yang diambil di Desa Wajok, Kecamatan Jungkat, Kabupaten Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat. Bakteri uji yang digunakan adalah

kultur murni *S. aureus* yang telah tersertifikasi dan merupakan koleksi dari Unit Laboratorium Kesehatan Pontianak.

Bahan Non-Kimia

Akuades, *aluminium foil*, kertas saring Whatman no. 1, kertas sampul coklat, kasa, kapas, plastik tahan panas (Wayang®).

Bahan Kimia

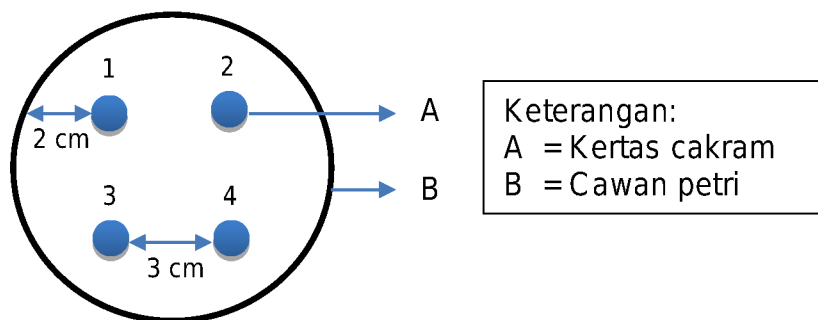
Levofloksasin 5µg/disk (Levofloxacin®), *Dymethyl Sulfoxide* 10%, etil asetat, spiritus, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, kalium iodida, magnesium (Mg), asam klorida (HCL) pekat, besi (III) klorida (FeCl₃) 5%, besi (III) klorida (FeCl₃) 1%, pereaksi Molisch, asam asetat (CH₃COOH) glasial, H₂SO₄ pekat, H₂O₂ 3%, kloroform (CH₃Cl), *Nutrient Agar (NA)* (Oxoid®), *Manitol Salt Agar*, *Nutrient broth*, *Mueller-Hinton Agar* (Oxoid®), *BHI broth*, koagulase plasma, Standar McFarland 0,5, larutan *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB), larutan karbol gentian violet, larutan lugol, larutan alkohol 96%, larutan safranin, imersi, larutan karbol fuchsin, larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%.

Prosedur Penelitian

Pengujian daya hambat ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dilakukan dengan metode difusi cakram berdiameter 6 mm. Tahapan awal yang dilakukan yakni Media *nutrient agar* miring ditanamkan bakteri uji dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C, kemudian koloni bakteri uji yang telah terbentuk di ambil dengan jarum ose dan disuspensikan dengan cara dimasukkan ke dalam tabung berisi 10 ml NaCl 0,9% steril. Suspensi yang terbentuk disetarakan dengan standar Mc. Farland no.0,5 yaitu 10⁸ sel bakteri/ml.^{15,16}

Bakteri yang telah disuspensikan selanjutnya dilakukan *swab* kapas steril yang dicelupkan ke dalam suspensi bakteri *S. aureus*, kemudian *swab* diputar beberapa kali dan ditekan ke dinding tabung di atas cairan untuk

menghilangkan inokulum yang berlebihan dari *swab*. *Swab* yang telah berisi bakteri *S. aureus* diinokulasikan pada permukaan media MHA dengan melakukan *streaking* di seluruh permukaan media. Prosedur diulangi dengan melakukan *streaking* dua kali lebih banyak, diputar sekitar 60° untuk memastikan pemerataan inokulum.¹⁷



Gambar 1. Skema Peletakan Kertas Cakram pada Media Uji.¹⁸

Tahapan berikutnya, membuat kertas cakram dengan ukuran 6 mm dan kemudian direndam dalam larutan sampel berbagai variasi konsentrasi ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.), kontrol positif levofloksasin 5 µg/disk dan kontrol negatif *Tween*80 10% selama 15 menit. Selanjutnya kertas cakram tersebut diambil dan ditempatkan pada permukaan lempeng MHA yang telah diinokulasi bakteri uji menggunakan pinset steril. Kertas cakram diletakkan di atas media MHA sebanyak 4 buah, dengan jarak tiap cakram sebesar 3 cm dan dari tepi lempeng sebesar 2 cm, seperti pada Gambar 1.^{18,19}

Media yang telah berisi bakteri uji kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Biakan bakteri dalam media MHA tersebut diamati ada atau tidak zona hambat yang terbentuk kemudian diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui aktivitas dan sifat antibakteri ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Mangga Bacang

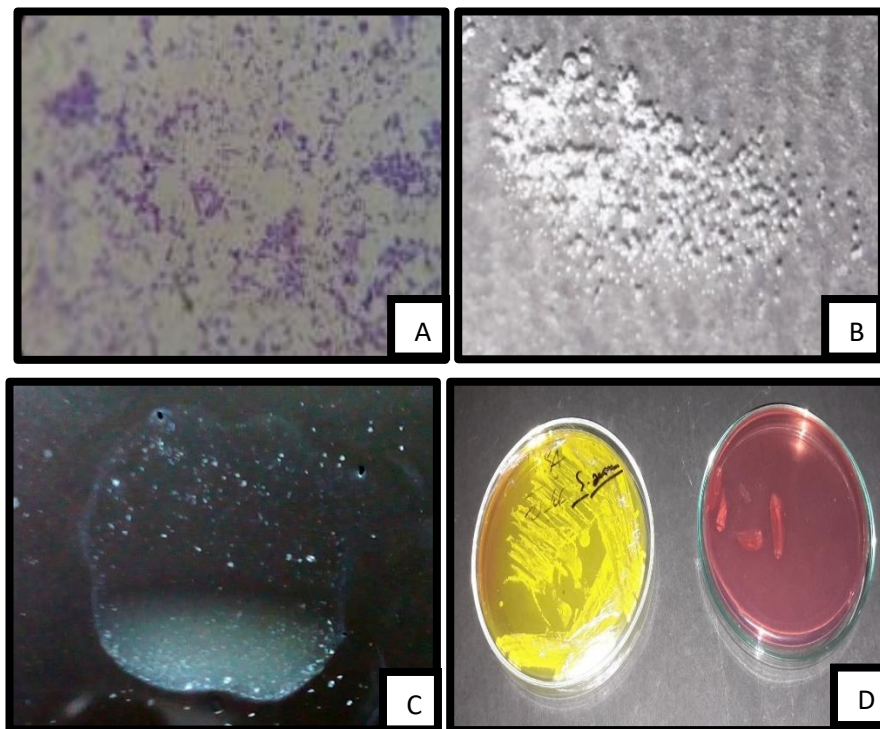
No.	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Fenol	FeCl ₃ 1%	+	Terbentuk warna hijau, biru atau ungu.
2.	Flavonoid	Mg + HCl pekat	+	Terbentuk warna kuning
3.	Tanin	FeCl ₃ 5%	+	Terbentuk warna coklat kehijauan
4.	Saponin	<i>Aquades</i>	+	Terbentuk busa/buih
5.	Alkaloid	HCl 2N ditambahkan: Pereaksi <i>Meyer</i> Pereaksi <i>Dragendorf</i> Pereaksi <i>Wagner</i>	+	Terbentuk endapan putih Terbentuk endapan jingga Terbentuk endapan coklat
6.	Steroid Triterpenoid	CH ₃ COOH glasial + H ₂ SO ₄ pekat	-	Tidak terbentuk warna biru atau ungu menandakan steroid Tidak terbentuk warna merah menandakan triterpenoid

Sumber : Data Primer, 2016

Keterangan : (+) = Hasil positif (terdeteksi senyawa metabolit sekunder)
(-) = Hasil negatif (tidak terdeteksi senyawa metabolit sekunder)

Karakterisasi Bakteri Uji

Karakterisasi bakteri uji menggunakan beberapa metode. Hasil pewarnaan gram pada bakteri uji menunjukkan bahwa bakteri uji merupakan bakteri gram positif berwarna ungu dengan bentuk kokus dan berkelompok seperti anggur.² Uji katalase menunjuk hasil positif yaitu dengan terbentuknya buih setelah ditetesi dengan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%.² Hasil uji koagulasi juga menunjukkan hasil positif yaitu dengan terbentuknya presipitat granuler setelah di tambah plasma sitrat.² Berdasar hasil uji biokimia menggunakan media *mannitol salt agar* (MSA), menunjukan hasil positif ditandai dengan perubahan warna agar dari merah menjadi kuning.² Hasil karakterisasi bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Karakterisasi Bakteri *S. aureus* (A) Pewarnaan Gram, (B) Uji Katalase, (C) Uji Koagulase, (D) Uji *Manitol Salt Agar* (MSA) (Sumber: Data Primer, 2016).

Uji Sensitivitas Antibakteri

Uji sensitivitas dilakukan dengan tujuan memastikan kontrol positif yang digunakan masih sensitif terhadap bakteri *S. aureus*. Penelitian ini menggunakan kontrol positif berupa levofloksasin, pemilihan kontrol positif tersebut berdasarkan tinjauan pustaka yang telah dilakukan. Uji sensitivitas dilakukan menggunakan empat macam antibiotik berupa levofloksasin, eritromisin, amoksisilin dan siprofloksasin. Hasil diameter zona hambat tersebut dapat dibaca pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Sensitivitas Kontrol Positif.

No.	Antibiotik	Dosis	Diameter Zona Hambat	
			Rerata	Indikator Sensitif
1.	Levofloksasin	5µg/mL	25,56 mm	≥ 19 mm
2.	Siprofloksasin	5µg/mL	17,82 mm	≥ 21 mm
3.	Eritromisin	15µg/mL	18,78 mm	≥ 23 mm
4.	Amoksisilin	10µg/mL	13,96 mm	≥ 29 mm

Sumber : Data Primer

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun mangga bacang menunjukkan adanya aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan terbentuknya zona bening. Senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat daun mangga bacang akan berdifusi ke media agar yang berada di sekeliling kertas cakram sehingga menimbulkan efek penekanan pertumbuhan bahkan mematikan bakteri *S. aureus*. Penghambatan ini ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram uji. Hasil diameter zona hambat yang terbentuk dari ekstrak etil asetat daun mangga bacang dapat dilihat pada Tabel 3 dan diameter zona hambat yang terbentuk dari kelompok kontrol dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun mangga bacang dengan beberapa konsentrasi

No.	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)
		Pengulangan Ke-				
		I	II	III	IV	
1.	50%	7,56	6,42	7,22	6,88	7,02
2.	60%	7,45	7,86	7,66	7,42	7,59
3.	70%	7,97	7,87	8,15	7,88	7,97
4.	80%	8,88	8,53	8,62	8,58	8,65
5.	90%	10,52	10,28	10,68	10,65	10,48
6.	100%	12,80	12,11	12,98	12,95	12,71

Sumber: Data Primer

Tabel 4. Hasil Aktivitas Antibakteri Kontrol Positif dan Kontrol Negatif.

No	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)
		Pengulangan Ke-				
		I	II	III	IV	
1.	Kontrol (+)	26,03	33,66	25,05	25,56	27,57
2.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0

Sumber: Data Primer

Keterangan: Kontrol (+) = Levofloksasin

Kontrol (-) = Tween80 10%

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *S. aureus* pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*. Penelitian ini

menggunakan enam variasi konsentrasi ekstrak etil asetat daun mangga bacang yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% serta kontrol positif levofloksasin dan kontrol negatif *Tween80* 10%. Penentuan variasi konsentrasi tersebut berdasarkan hasil uji pendahuluan ekstrak etil asetat daun mangga bacang terhadap *S. aureus* dengan variasi konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 90%. Hasil uji efektivitas tersebut didapat zona hambat yang paling baik yaitu pada konsentrasi 75% dengan diameter 10,58 mm. Zona hambat tersebut masih tergolong kecil sehingga pada penelitian ini penggunaan variasi konsentrasinya berada di sekitar konsentrasi 75%. Penentuan kontrol positif menggunakan levofloksasin juga berdasarkan hasil uji sensitivitas empat antibiotik yang mana didapat hasil paling sensitif adalah levofloksasin serta berdasar tinjauan pustaka. Penentuan kontrol negatif menggunakan *Tween80* 10% dikarenakan pengenceran ekstrak menggunakan larutan tersebut, sehingga diharapkan *Tween80* 10% tersebut bukan sebagai faktor yang menyebabkan terbentuknya zona hambat pada larutan ekstrak.

Ekstrak etil asetat daun mangga bacang memiliki aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona hambat pada pengujiannya. Hasil zona hambat terbesar pada penelitian ini dengan rata-rata 12,71 mm pada konsentrasi 100%. Hasil tersebut tidak sebanding dengan ekstrak etanol daun mangga bacang yang diuji oleh Rijayanti *et al*²⁰ dengan zona hambat terbesarnya 18,27±0,21 mm pada konsentrasi 250 mg/ml.

Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan perbedaan hasil diameter zona hambat antara penelitian terdahulu dengan penelitian ekstrak etil asetat daun mangga bacang yaitu: Pertama, perbedaan penggunaan pelarut untuk menarik metabolit sekunder, pada penelitian oleh Rijayanti *et al*²⁰ teknik ekstraksi menggunakan pelarut etanol sedangkan pada penelitian ini menggunakan pelarut etil asetat. Namun pada umumnya berdasarkan penelitian terdahulu yang secara langsung membandingkan efektivitas kedua pelarut tersebut terhadap *S. aureus* didapatkan hasil

yang lebih baik dengan menggunakan etil asetat.²¹⁻²³ Perbedaan hasil tersebut dapat disebabkan tempat atau waktu pengambilan sampel yang berbeda yang menyebabkan kandungan unsur hara berbeda, sehingga kadar metabolit sekunder pada daun mangga bacang tersebut diduga tidak lebih baik daripada daun mangga bacang yang digunakan oleh Rijayanti *et al.*²⁰ Hasil ekstraksi dengan etil asetat pada penelitian ini didapatkan kandungan metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid, sedangkan steroid atau triterpenoid menunjukkan hasil negatif. Penelitian oleh Rijayanti *et al.*²⁰ dengan menggunakan pelarut etanol menunjukkan hasil positif pada fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan steroid. Data tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan terhadap kandungan steroid, sehingga diduga hal tersebut menjadi salah satu penyebab zona hambat pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat pada penelitian Rijayanti *et al.*²⁰ Resistensi bakteri juga dapat memengaruhi hasil zona hambat. Hasil uji sensitivitas bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini dengan empat antibiotik yang salah satunya siprofloksasin menunjukkan hasil 17,82 mm. Hasil tersebut tergolong *intermediate* menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2014*,²⁴ sedangkan pada penelitian Rijayanti²⁰ dengan menggunakan antibiotik siprofloksasin yang sama menunjukkan hasil zona hambat sebesar $37,43 \pm 0,48$ mm.

Hasil analisis data berdasarkan nilai zona hambat yang didapat menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara setiap kelompok uji dengan kelompok kontrol (+) dan kontrol (-). Data tersebut mengindikasikan tidak terdapat konsentrasi yang setara kekuatan antibakterinya terhadap *S. aureus* seperti kontrol (+) pada penelitian ini. Hasil analisis *Spearman* menunjukkan nilai $r = 0,986$ menginterpretasikan hubungan antar variabel sangat kuat, serta nilai positif yang menunjukkan arah korelasi positif yaitu semakin besar konsentrasi ekstrak etil asetat daun mangga bacang maka semakin besar zona hambat yang terbentuk.

Mekanisme Kerja Bahan Aktif Ekstrak Etil Asetat Daun Mangga Bacang Sebagai Antibakteri

Bahan aktif atau metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun mangga bacang dapat menghambat atau membunuh bakteri karena sifat toksiknya. Ekstrak etil asetat daun mangga bacang pada penelitian ini mengandung metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Tiap metabolit sekunder tersebut memiliki mekanisme kerja yang spesifik dan secara sinergis membunuh bakteri. Penjelasan terkait mekanisme kerja bahan aktif ini adalah sebagai berikut:

1. Fenol

Fenol merupakan senyawa yang tersebar luas sebagai zat warna alam yang menyebabkan warna pada bunga, kayu maupun buah. Fenol dapat larut dalam pelarut polar daripada pelarut non-polar. Senyawa fenol mempunyai cincin aromatik yang mengandung berbagai jenis gugus pengganti seperti, gugus hidroksil, karboksil, metoksil dan sering juga struktur cincin bukan aromatik.²⁵

Senyawa fenol memiliki mekanisme kerja antibakteri dengan cara merusak membran sel, menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan karena terjadinya penurunan permeabilitas membran.²⁶

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman.^{27,28} Perubahan warna pada pemeriksaan flavonoid disebabkan karena terbentuknya garam flavilium.

Flavonoid yang terkandung dalam mangga bacang memiliki mekanisme kerja antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi sitoplasma dan mengganggu metabolisme

energi.²⁹ Terdapat tiga turunan flavonoid yang aktivitasnya menghambat sintesis asam nukleat yaitu, *robinetin*, *myricetin* dan *epigallocatechin*. Cincin β pada flavonoid berperan penting dalam interkalasi atau ikatan hidrogen pada basa asam nukleat sehingga mengganggu sintesis DNA ataupun RNA. Penelitian yang dilakukan oleh Ohemeng *et al*,³⁰ menyatakan bahwa terdapat 14 flavonoid dengan berbagai struktur yang menunjukkan aktivitas penghambatan DNA gyrase pada bakteri *Escherichia coli* dan bakteri lainnya seperti *Staphylococcus aureus*.

Flavonoid juga dapat menyebabkan kerusakan permeabilitas membran sel bakteri dikarenakan senyawa flavonoid merupakan salah satu golongan fenol terbesar dan bersifat polar yang dapat lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan. Interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri dapat menyebabkan kerusakan mikrosom dan lisosom.³¹

3. Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang sifatnya polar, dapat larut dalam gliserol, alkohol dan hidroalkoholik, air dan aseton, tetapi tidak larut dalam kloroform, petroleum eter dan benzene.³² Senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak komponen membran sel, dinding sel, enzim, materi genetik, maupun komponen berprotein lainnya. Tanin dapat menghambat enzim DNA topoisomerase yang akan menyebabkan sel bakteri tidak akan terbentuk.³³

4. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida triterpena dan sterol. Glikosida dapat membentuk koloidal dalam air, bila dikocok membentuk busa. Kemampuan menurunkan tegangan permukaan ini disebabkan molekul saponin terdiri dari hidrofobik dan hidrofilik. Bagian hidrofobik adalah aglikon dan bagian hidrofilik adalah glikon.³⁴

Senyawa saponin yang diidentifikasi pada ekstrak etil asetat daun mangga bacang menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa setelah dilakukan pengocokan dan bertahan selama 10 menit. Saponin memiliki glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus terpenoid atau steroid sebagai gugus non-polar. Senyawa yang memiliki gugus polar dan non-polar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus non-polarnya menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa.³⁵

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel. Kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri merupakan mekanisme kerja dari saponin. Struktur dari saponin yang berperan sebagai antibakteri adalah aglikon yang masuk ke dalam lapisan lipid bilayer bakteri. Saponin juga dapat mengubah fungsi protein atau glikoprotein di membran sel dan membentuk ikatan dengan kolesterol untuk merusak struktur fosfolipid membran sel. Rusaknya membran sel bakteri akan menyebabkan sitoplasma sel bakteri mengalami kebocoran hingga mengakibatkan kematian sel akibat lisis.^{36,37}

5. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa nitrogen dan umumnya bersifat basa sehingga untuk identifikasinya ditambahkan HCl pekat yang kemudian ditambah pereaksi *Mayer*, *Wagner* maupun *Dragendorff*. Jika terdapat senyawa alkaloid maka akan terbentuk endapan yang merupakan parameter dari adanya senyawa golongan alkaloid. Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan berbagai cara, seperti menghambat sintesis asam nukleat dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase maupun topoisomerase I dan II. Alkaloid juga dapat mengganggu homeostasis bakteri dengan menghambat enzim BCG 3185c yang

diduga merupakan dioksigenase. Alkaloid dapat merusak integritas membran sitoplasma dengan cara penetrasi ke dalam lapisan monolayer lipopolisakarida dan menyebabkan depolarisasi membran sitoplasma sehingga akan terjadi kebocoran isi sitoplasma dan menyebabkan sel lisis.³⁸

KESIMPULAN

Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) adalah fenol, flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) maka semakin tinggi aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, serta ekstrak daun mangga bacang memiliki zona hambat maksimum pada konsentrasi 100% sebesar 12,71 mm dan zona hambat minimum pada konsentrasi 50% sebesar 7,02 mm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mims. Medical microbiology. 2nd ed. London: Mosby; 1998. London: Mosby; 1998. 25-7 p.
2. Brooks GF, Morse SA, Mietzner TA, Butel JS, Carroll KC. Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology. 25th ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014. 194-200 p.
3. Syahrurachman A, Chatim A, Soebandrio AWK, Karuniawati A, Santoso AUS, Suharto. Buku ajar mikrobiologi kedokteran. revisi. Tangerang: Binarupa Aksara Publisher; 2010. 125-34 p.
4. World Health Organization. Prevention of hospital-acquired infections a practical guide 2nd edition [Internet]. 2002 [cited 2016 Januari 12]. Available from: <http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/drugresist/en/whocdscsreph200212.pdf?ua=1>
5. Laporan Tahunan 2013 Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soedarso (dalam John E.J.G. 2015). Data Kasus Infeksi Nosokomial.

6. Bartlett Allison, Hulten, Kristina G. *Staphylococcus* pathogenesis secretion systems, adhesins, and invasins. *Pediatr Infect Dis*. 2010; 29(9): 860–1.
7. LaRee A, Jon P. Furuno, Anthony D. Harris, Mary Singer, Patricia Langenberg, Mary-Claire Roghmann. *Staphylococcus aureus* infections in US Veterans, Maryland,USA,1999-2008. *Emerg Infect Dis*. 2011;17.
8. J.A.Servin, Lestari.S.E. Antimicrobial resistance in Indonesia prevalence, determinan and genetic basis. University Medical Center Rotterdam: Erasmus MC; 2009.
9. K.Valarmathy, M.Gokulakrishnan, M.Salma Kausar, Dr.Kusum Paul. A study of antimicrobial activity of ethanolic extracts of various plant leaves againt selected microbial species. *Int J Pharma Sci Res*. 2010; 1(8): 293–5.
10. Md. Mahamud Sharif, Gouri Rani Banik. Status and utilization of medicinal plants in Rangamati of Bangladesh. *Res J Agric Biol Sci*. 2006; 2(6): 268–73.
11. Obst JR. Special (secondary) metabolites from wood. Dalam: Bruce A, Palfreyman JW (eds) forest products biotechnology. London: Taylor & Francis; 1998.
12. Ernie H. Purwaningsih, Endang Hanani, Pustika Amalia, Desak Gede Budi Krisnamurti. The chelating effect of mangifera foetida water extract on serum thalassemic-patient. *J Indones Med Assoc*. 2011; 61(8): 321–5.
13. Ratna Agung Samsumaharto, Yustina Erlina Nur Indah Sari. Uji aktivitas antibakteri ekstrak n-Heksan, etil asetat dan etanol 70 % daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *J Ilm Biol Dan Kesehat*. 2011; 4(1): 36–42.
14. Rifda Naufalin, Betty Sri Laksmi Jenle, Feri Kusnandar, Mirnawati Sudarwanto, Hastuti Rukmini. Aktivitas antibakteri ekstrak bunga kecombrang terhadap bakteri patogen dan perusak pangan. *J Teknol Dan Ind Pangn*. 2005; XVI(2).
15. Silaban, L. W. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri dari kulit buah sentul (*Sandoricum Koetjape* (*Burm f.*) Merr). Medan: Univ Sumatra Utara; 2009.

16. ICMR. Detection of antimicrobial resistance in common gram negative and gram positive bacteria encountered in infectious disease- an update. ICMR Bull. 2009; 39(1-3).
17. Madigan MT. Brock biology of microorganisms. 14th edition. Boston: Pearson; 2015. 1006 p.
18. Waluyo, L. Mikrobiologi umum. revisi. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang; 2007.
19. Cockerill F. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. 9th ed. Wayne, Pa.: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. 12-9 p.
20. Rijayanti RP. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Pontianak: Universitas Tanjungpura; 2014. 30-45 p.
21. Niranjan K, Sathiyaseelan V, Jeyaseelan E. Screening for antimicrobial and phyto chemical properties of different solvents extracts of leafs of *Pongamia Pinnata*. Int J Sci Res Publ. 2013;3(1):1–3.
22. Mambang D, Rosidah, Suryanto D. Aktivitas antibakteri ekstrak tempe terhadap bakteri *Bacillus* dan *Staphylococcus aureus*. J Teknol Dan Ind Pangan. 2014; 25(1): 115–8.
23. Naufalin R, Jenie BS, Kusnandar F, Sudarwanito M, Rukimini H. Aktivitas antibakteri ekstrak bunga kecombrang terhadap bakteri patogen dan perusak pangan. J Teknol Dan Ind Pangan. 2005; XVI(2): 119–25.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. (m100-s24). USA: Clinical And Laboratory; 2014. 68-75 p.
25. Salisbury FB, Ross CW. Fisiologi tumbuhan Jilid 2. Bandung: Penerbit ITB; 1995.
26. Purwantiningsih TI, Suranindyah YY, Widodo. Activity of phenol of morinda citrifolia as natural antibacteria to inhibit the growth of mastitis-associated bacteria. Bul Peternak. 2014; 38(1): 59–64.
27. Narasimhan R, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S. Chemical studies on novel rice hull antioxidants isolation, fractination, and partial characterization. J Agric Food Chem. 1988; 37: 732–7.
28. Rajalakshmi D, Narasimhan S. Food antioxidants: sources and methods of evaluation dalam D.L. Madhavi: Food antioxidant,

technological, toxilogical and health perspectives. Hongkong: Marcel Dekker Inc; 1985.

29. Cushnie T, Lamb A. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agent.* 2005; 26(5): 343–56.
30. Ohemeng K, Hilliard J, Krause H, Bernstein J, Fernandez J, Nguyen V. A Comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. *Adv Exp Med Biol.* 1995; 390: 56–69.
31. Sabir A. Aktivitas antibakteri flavonoid *Propolis trigon sp* terhadap bakteri *Streptococcus mutans (In Vitro)*. *Maj Kedokt Gigi.* 2005; 38(3): 132–41.
32. Artati E, Fadilah. Pengaruh kecepatan putar pengadukan dan suhu operasi pada ekstraksi tanin dari jambu mete dengan pelarut aseton. *Ekuilibrium.* 2007; 6(1): 33–8.
33. T. Robinson. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Bandung: Penerbit ITB; 1995.
34. Sirait M. Penuntun fitokimia dalam farmasi. Bandung: Penerbit ITB; 2007.
35. Sangi, S.M., Lidya I.M., dan Maureen K. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*Arenga pinnata*). *J Ilm Sains.* 2012; 12(2): 130–3.
36. Hassan, Sherif M. Antimicrobial activities of saponin rich guar mal extract. Texas: Canal University; 2008. 19-24 p.
37. Cavalieri SJ. American Society for Microbiology. Manual of antimicrobial susceptibility testing. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2009. 39-52 p.
38. Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int J Antimicrob Agents.* 2014 Nov; 44(5): 377-86.

Lampiran: Surat Lolos Kaji Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS TANJUNGPURA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak 78124

Telp (0561) 765342, 583865, 732500 Fax (0561) 765342, 583865, 732500 Kotak Pos 1049

E-mail : kedokteran@untan.ac.id website : <http://www.kedokteran.untan.ac.id>

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK (*ETHICAL – CLEARANCE*)

No : 18629/UN22.9/DT/2016

Divisi Kaji Etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul:

Ethical Clearance Division of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled:

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro

Peneliti utama (*Principal Researcher*) : **Muhammad Irfan**

Nama institusi (*Institution*) : **Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Untan**

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the mentioned proposal.

Pontianak, 16 Maret 2016
Ketua (*Chairman*),

Agus Fitriangga, SKM, MKM
NIP. 1979 0826 2008 12 1003

*Keterangan Lolos Etik (*Ethical-clearance*) berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan