

NASKAH PUBLIKASI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUSA DAUN MANGGA
BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Shigella flexneri***



MUHAMMAD RHEZA

I1111 11 056

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2015**

**HALAMAN PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUSA DAUN MANGGA
BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Shigella flexneri***

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

Muhammad Rheza

I11111056

DISETUJUI OLEH

PEMBIMBING UTAMA



Dra. Siti Khotimah, M. Si
NIP. 19670202 199702 2001

PEMBIMBING KEDUA



dr. Delima Fajar Liana
NIP. 19861205 201212 2001

PENGUJI PERTAMA



dr. Muhammad In'am Ilmiawan, M. Biomed
NIP. 19791018 200604 1002

PENGUJI KEDUA



dr. Muhammad Ibnu Kahtan, M. Biomed
NIP. 19830903 200812 1002

MENGETAHUI,
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA



dr. Arif Wicaksono, M. Biomed
NIP. 19831030 200812 1 002

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUSA DAUN MANGGA
BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Shigella flexneri***

Muhammad Rheza¹; Siti Khotimah²; Delima Fajar Liana³

Intisari

Latar Belakang: Shigellosis merupakan penyakit endemik di banyak negara berkembang termasuk Indonesia dan menyebabkan morbiditas serta mortalitas. *Shigella flexneri* merupakan bakteri dengan isolat terbanyak yang ditemukan pada kasus-kasus shigellosis. Studi literatur menunjukkan bahwa infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) mengandung senyawa-senyawa metabolit yang memiliki efek sebagai antibakteri. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*, mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.), dan menentukan konsentrasi hambat minimum infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*. **Metodologi:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni. Daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) diekstraksi dengan metode infundasi menggunakan pelarut akuades, kemudian dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antibakteri dengan metode tuang dan sumuran pada konsentrasi 100%, 80%, 40%, 20%, dan 10%. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 5 µg/sumuran dan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades. **Hasil:** Hasil uji fitokimia infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin. Infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) pada konsentrasi 100%, 80%, 40%, 20%, dan 10% tidak menunjukkan adanya zona hambat. **Kesimpulan:** Infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*.

Kata Kunci: Antibakteri, infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.), *Shigella flexneri*.

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 2) Departemen 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 BACANG MANGO
(Mangifera foetida L.) LEAF WATER EXTRACT
AGAINST *Shigella flexneri***

Muhammad Rheza¹; Siti Khotimah²; Delima Fajar Liana³

Abstract

Background: *Shigellosis* is endemic diseases in many developing countries including Indonesia which causes morbidity and mortality. *Shigella flexneri* is the most isolates that found in cases of shigellosis. Study of literature showed that water extract of bacang mango (*Mangifera foetida* L.) leaf contains metabolite compound which has antibacterial effect.

Objective: The aim of this study was to investigate the antibacterial activity of bacang mango (*Mangifera foetida* L.) leaf water extract against *Shigella flexneri*, determined the secondary metabolite compounds, and determined the minimum inhibitory concentration (MIC) of bacang mango (*Mangifera foetida* L.) leaf water extract against *Shigella flexneri*. **Methods:** The research used true experimental design. The leaves of bacang mango (*Mangifera foetida* L.) was extracted by infusion method using aquades, chemical compounds of this extract were determined by phytochemical screening and antibacterial activity was determined by pour plate and well method in 100%, 80%, 40%, 20%, and 10% concentrations. Ciprofloxacin 5 µg/well was used as positive control while negative control used aquadest.

Result: Based on phytochemical screening, water extract of bacang mango (*Mangifera foetida* L.) leaf contained alkaloids, phenols, flavonoids, terpenoids, saponins, and tanins. Water extract of bacang mango (*Mangifera foetida* L.) leaf in 100%, 80%, 40%, 20%, and 10% concentrations didn't show any inhibition zones. **Conclusion:** Water extract of bacang mango (*Mangifera foetida* L.) leaf has no antibacterial activity against *Shigella flexneri*.

Keywords: Antibacterial, Water extract of bacang mango (*Mangifera foetida* L.) leaf, *Shigella flexneri*.

- 1) Medical Education Program, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura, West Borneo.
- 2) Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Tanjungpura University, West Borneo.
- 3) Departement of Microbiology, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, West Borneo.

LATAR BELAKANG

Shigellosis atau sering disebut sebagai disentri basiler merupakan suatu infeksi akut pada usus besar yang disebabkan oleh kuman dari genus *Shigella*. Di dunia sekurangnya terdapat 200 juta kasus dan 650.000 kematian terjadi akibat disentri basiler pada anak-anak dibawah umur 5 tahun.¹ Di Kalimantan Barat prevalensi disentri basiler sebesar 4% dengan 7089 kasus dan merupakan penyakit ke 6 dari 10 penyakit yang paling sering terjadi di puskesmas diseluruh kabupaten di Kalimantan Barat pada tahun 2011.²

Penyebab shigellosis adalah kuman genus *Shigella* yang terdiri dari 4 spesies yaitu *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*), *Shigella flexneri* (*S. flexneri*), *Shigella boydii* (*S. boydii*) dan *Shigella sonnei* (*S. sonnei*).¹ Sebanyak 612 anak-anak yang mengalami diare di pusat-pusat kesehatan di Jakarta Selatan selama Februari 2005 hingga September 2007 diidentifikasi bahwa 57 orang disebabkan oleh *Shigella* dan didapatkan bahwa terbanyak disebabkan oleh *Shigella flexneri* sebesar 63,2%.³

Mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) merupakan salah satu spesies buah mangga dari golongan famili *anacardiaceae* yang dapat ditemukan tumbuh secara liar serta dibudidayakan di wilayah Indonesia.⁴ Mangga merupakan sumber tinggi senyawa aktif alami mangiferin.⁵ Mangiferin memiliki beberapa efek farmakologi yaitu sebagai antiinflamasi, analgesik, antitumor, antivirus, antihelminik, immunomodulator, antifungi dan antibakteri.⁶ Selain mangiferin, hasil pemeriksaan fitokimia terhadap ekstrak air dan etanol daun mangga bacang menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder berupa steroid dan triterpenoid, alkaloid, fenol, flavonoid, tanin dan saponin.^{7,8} Ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.⁸

Infundasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut air yang mudah diaplikasikan. Berdasarkan pemaparan di atas, dilakukanlah

penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

simplisia daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.). Siprofloksasin 5 µg/sumuran (sebagai kontrol positif), Standar Mc. Farland 0,5, akuades, alumunium foil, plastik tahan panas, kapas, kasa, spiritus, kertas sampul coklat, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi dragendorff, kalium iodida (KI), magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, besi (III) klorida 1%, besi (III) klorida 5%, asam setat (CH₃COOH) glasial, H₂SO₄ pekat, kloroform (CH₃Cl), karbol kristal ungu, lugol, safranin, alkohol 95%, larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%, Media *Salmonella Shigella* agar (SS), *Mueller-Hinton* agar, *Nutrient Agar*, *Triple Sugar Iron Agar*, *Simmons Citrate Agar*, *Motility Indole Ornithin Agar*.

Alat

Pisau, ayakan, krusibel, baskom, desikator, inkubator, termometer, timbangan analitik, rak tabung, bunsen, cawan porselen, penjepit, jarum ose, inkubator, autoklaf, oven, lemari pendingin, mikroskop, sarung tangan, seperangkat alat kaca, label, masker, cawan petri, perforator, jangka sorong/penggaris, pipet tetes, tabung reaksi, *laminary air flow cabinet*, *hot plate*, *cabinet*, *object glass*, *cover glass*.

Bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur murni *Shigella flexneri* yang didapat dari koleksi Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

METODE

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) diambil dari Desa Akcaya, Kecamatan Pontianak Selatan, Kota Pontianak pada pagi hari. Daun disortasi dari bagian yang rusak dan kemudian dicuci dengan air PDAM hingga bersih. Daun kemudian dikeringkan untuk dibuat simplisia. Simplisia kemudian disortasi kering dengan memisahkannya dari simplisia yang gosong atau terkena kotoran. Simplisia yang telah disortasi kemudian dihaluskan menggunakan blender.^{9,10}

Pemeriksaan Kadar Air

Simplisia diperiksa kadar airnya untuk mengetahui apakah simplisia memiliki kriteria yang cukup baik untuk disimpan.¹¹

Pembuatan Infusa

Infusa dibuat dengan cara 100 gram serbuk simplisia daun mangga bacang (*M. foetida* L.) dimasukkan ke dalam 100 ml akuades dalam erlenmeyer sehingga diperoleh konsentrasi 100%. Erlenmeyer diletakkan dalam gelas beker berisi air dan dipanaskan di atas *hot plate* selama 15 menit dihitung mulai suhu 90°C sambil sesekali diaduk. Setelah 15 menit, air rebusan yang telah dingin disaring dengan menggunakan kain flanel steril ke dalam erlenmeyer steril. Untuk mencukupi kekurangan air, ditambahkan akuades steril yang mendidih melalui ampasnya hingga volume mencapai 100 ml.^{12,13}

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloid

Infusa sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 1 ml HCL 2 N. Masing-masing 1 ml filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1, 2, dan 3. Kemudian ditambahkan dua tetes pereaksi Mayer pada tabung 1, dua tetes pereaksi Wagner pada tabung reaksi 2, dan dua tetes pereaksi Dragendorff pada tabung reaksi 3. Hasil positif ditandai dengan terbentuk endapan putih pada tabung reaksi 1, endapan coklat pada tabung reaksi 2, dan endapan *orange* pada tabung reaksi 3. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{14,15,16}

Pemeriksaan Senyawa Fenol

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 3 tetes air panas dan 3 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Perubahan warna larutan menjadi warna hijau, biru atau ungu menunjukkan adanya senyawa fenol. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{14,15,16}

Pemeriksaan Flavonoid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan serbuk magnesium sebanyak 1 gram dan 1 ml larutan asam klorida pekat. Perubahan warna larutan menjadi warna kuning menandakan adanya flavonoid. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{14,15,16}

Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 1 ml asam asetat (CH_3COOH) glasial dan 1 ml larutan asam sulfat (H_2SO_4) pekat. Jika warna larutan berubah menjadi biru atau ungu, menandakan adanya kelompok senyawa steroid, jika warna larutan berubah menjadi merah menunjukkan adanya kelompok senyawa terpenoid. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{14,15,16}

Pemeriksaan Saponin

Sampel sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air, setelah itu dikocok dengan kuat selama 10 menit lalu dibiarkan selama 10 menit. Buih/busa yang terbentuk dan bertahan lebih dari 10 menit menunjukkan adanya saponin. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{14,15,16}

Pemeriksaan Tanin

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 tetes besi (III) klorida 5%. Bila terbentuk warna biru tua menunjukkan adanya tanin. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{14,15,16}

Karakterisasi Bakteri Uji

Karakterisasi bakteri uji yang dilakukan yaitu pewarnaan gram, penanaman pada media *Salmonella-Shigella Agar*, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Simmons Citrate* (SC), dan *Motility Indole Ornithin* (MIO) Agar.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni bakteri uji pada media peremajaan yang telah berumur 24 jam diambil menggunakan jarum ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl steril 0,9%. Kekeruhan yang didapatkan kemudian disetarakan dengan standar McFarland 0,5 yang setara dengan jumlah pertumbuhan 1×10^8 sel bakteri/mL dan setelah setara maka suspensi ini yang akan digunakan sebagai bakteri uji.¹⁷

Uji Aktivitas Antibakteri

Suspensi bakteri yang telah sesuai dengan standar 0,5 McFarland sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dituangkan media *Mueller Hinton Agar* sampai mencapai kedalaman 4 mm. Cawan petri digoyang-goyang hingga suspensi bakteri dan media menjadi homogen dan media dibiarkan memadat. Setelah itu ditanamkan sumur dengan diameter 5-6 mm dengan bantuan alat pencadang atau dibuat cetakan sumur dari potongan ujung mikropipet (yang telah disterilisasi) dengan bantuan pinset pada setiap agar, kemudian ke dalamnya dimasukkan infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) sebanyak 50 μ L dengan masing-masing konsentrasi serta kontrol positif dan negatif. Untuk kontrol positif, digunakan siprofloksasin dengan dosis 5 μ g/sumuran. Media diinkubasi pada suhu 37° C selama 1x24 jam. Selanjutnya diamati zona hambat yang terbentuk dengan melihat zona bening di sekitar sumuran yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.¹⁸

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengolahan Sampel

Banyaknya daun mangga bacang yang terkumpul yaitu sejumlah 1900 gram. Daun kemudian dikeringkan untuk dibuat simplisia, simplisia yang telah disortasi kemudian dihaluskan menggunakan blender dan didapatkan 900 gram simplisia halus. Simplisia kemudian diperiksa kadar airnya untuk mengetahui apakah simplisia memiliki kriteria yang cukup baik untuk disimpan. Hasil pemeriksaan kadar air menunjukkan kadar air sebesar 7,8%. Kadar air < 10% menunjukkan proses pengeringan yang cukup baik dan simplisia memiliki kriteria yang baik untuk disimpan.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap hasil infundasi daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) menunjukkan hasil positif terhadap adanya kandungan senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin, sedangkan steroid menunjukkan hasil negatif. Hasil skrining fitokimia terhadap infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.)

No.	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	Mayer	-	Tidak terbentuk endapan putih
		Wagner	+	Terbentuk endapan coklat
		Dragendorff	-	Tidak terbentuk endapan <i>orange</i>
2.	Senyawa fenol	Air panas, FeCl ₃ 1%	+	Terbentuk warna hijau
3.	Flavonoid	Mg, HCl	+	Terbentuk warna kuning
4.	Terpenoid	CH ₃ COOH, H ₂ SO ₄	+	Terbentuk warna merah
5.	Steroid	CH ₃ COOH, H ₂ SO ₄	-	Tidak terbentuk warna biru atau ungu
6.	Saponin	Aquadest panas	+	Terbentuk buih/busa yang bertahan lebih dari 10 menit
7.	Tanin	FeCl ₃ 5%	+	Terbentuk warna biru tua

Sumber: Data Primer, 2015

Keterangan:

(+) : Hasil positif, terdapat kandungan senyawa

(-) : Hasil negatif, tidak terdapat kandungan senyawa

Karakterisasi Bakteri Uji

Karakterisasi bakteri uji yang dilakukan yaitu pewarnaan gram, penanaman pada media *Salmonella-Shigella Agar*, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Simmons Citrate* (SC), dan *Motility Indole Ornithin* (MIO) *Agar*. Hasil karakterisasi bakteri dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Uji Karakterisasi Bakteri *Shigella flexneri*

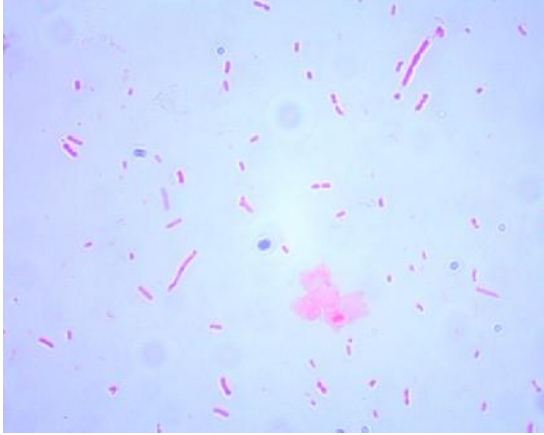
Uji Karakterisasi	Hasil	Keterangan
Pewarnaan Gram	+	Gram negatif
<i>Salmonella-Shigella Agar</i>	+	Koloni jernih
TSIA	+	Basa/Asam
<i>Simmons Citrate</i>	+	Hijau
Indol	+	Tidak membentuk cincin
Ornitin	+	Tidak mendekarboksilasi ornitin
Motilitas	+	Non-motil

Sumber: Data Primer, 2015

Keterangan: (+) = Sesuai dengan karakteristik *Shigella flexneri*

Pewarnaan gram terhadap bakteri yang dilakukan menunjukkan hasil yang sesuai dengan sifat dan morfologi *Shigella flexneri* yaitu bakteri gram negatif yang ditandai dengan warna merah dan berbentuk kokobasil. Hasil karakterisasi yang dilakukan pada media *Salmonella-Shigella Agar*, didapatkan hasil koloni yang terbentuk tidak berwarna serta tidak terbentuk bulatan hitam di tengah koloni yang menandakan tidak terbentuknya (H₂S), hasil tersebut sesuai dengan karakteristik yang dimiliki oleh bakteri *Shigella flexneri*. Karakterisasi yang dilakukan pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), didapatkan hasil terbentuknya warna kuning pada dasar tabung dan lereng tetap berwarna merah serta tidak menghasilkan H₂S yang sesuai dengan karakter *Shigella flexneri*. *Shigella* merupakan bakteri yang tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya sehingga tidak terjadinya perubahan warna dari hijau menjadi biru pada *Simmons Citrate Agar*. Karakterisasi bakteri *Shigella flexneri* yang dilakukan menggunakan media *Motility Indole Ornithine* (MIO) *Agar*, didapatkan hasil bahwa *Shigella flexneri* bersifat nonmotil, dekarboksilasi ornitin negatif dan tidak menghasilkan indol, hasil tersebut sesuai dengan karakter yang dimiliki oleh

bakteri *Shigella flexneri*. Gambaran hasil karakterisasi *Shigella flexneri* dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 1. Hasil Pewarnaan *Shigella flexneri* pada perbearan 10x100



Gambar 2. Pertumbuhan *Shigella flexneri* pada *Salmonella-Shigella Agar*



Gambar 3. *Shigella flexneri* pada *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*



Gambar 4. *Shigella flexneri* pada *Simmons Citrate (SC) Agar*

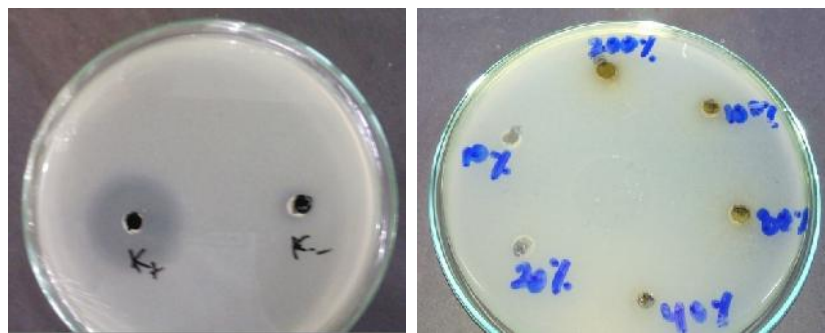


Gambar 5. *Shigella flexneri* pada *Motility Indole Ornithine (MIO) Agar*

Uji Aktivitas Antibakteri

Penelitian ini menggunakan dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin 5 µg/sumuran dan kontrol negatif menggunakan akuades steril serta lima kelompok perlakuan dengan konsentrasi infusa daun mangga bacang 100%, 80%, 40%, 20%, dan 10%.

Antibiotik siprofloksasin sebagai kontrol positif menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan diameter zona hambat rata-rata 21,5 mm setelah diukur menggunakan penggaris. Diameter rata-rata 21,5 mm pada kontrol positif pada empat kali pengulangan menunjukkan bahwa siprofloksasin masih sensitif terhadap bakteri *Shigella flexneri*. Kepekaan antibakteri menggunakan siprofloksasin 5 µg/sumuran dilihat berdasarkan ukuran zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi yaitu, 21 mm diinterpretasikan sebagai sensitif, 16-20 mm *intermediate*, 15 mm resisten.¹⁹ Akuades steril sebagai kontrol negatif juga tidak memiliki aktivitas antibakteri yang ditandai dengan tidak adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran, hal ini menunjukkan bahwa akuades yang digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi tidak memiliki aktivitas antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) dengan variasi konsentrasi 100%, 80%, 40%, 20%, 10% dan dengan empat kali pengulangan setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada gambar dan tabel berikut.



a.

b.

Gambar 6. Hasil pengujian aktivitas antibakteri infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.) a) Kontrol positif dan kontrol negatif; b) Konsentrasi infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) 100%, 80%, 40%, 20%, 10%

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Mangga Bacang (*M. foetida* L.) terhadap Pertumbuhan *Shigella flexneri*

No.	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)
		Pengulangan ke-				
		I	II	III	IV	
1.	100%	0	0	0	0	0
2.	80%	0	0	0	0	0
3.	40%	0	0	0	0	0
4.	20%	0	0	0	0	0
5.	10%	0	0	0	0	0
6.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0
7.	Kontrol (+)	21	21	21,5	22,5	21,5

Sumber: Data Primer, 2015

Keterangan:

(0) : Tidak terdapat zona hambat

Tidak adanya aktivitas antibakteri infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.) diduga dipengaruhi oleh pemilihan metode ekstraksi dan faktor virulensi bakteri uji. Pemilihan metode ekstraksi diduga mempengaruhi kadar senyawa metabolit sekunder yang dapat tersari. Metode ekstraksi dibagi menjadi cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin yaitu maserasi dan perlokasi, sedangkan ekstraksi cara panas yaitu refluks, soxhlet, digesti, dan infus.²⁰ Pelarut merupakan faktor yang penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia.²¹

Pada dasarnya pelarut polar akan melarutkan solut yang bersifat polar dan pelarut non-polar akan melarutkan solut yang bersifat nonpolar.²² Pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi infus atau infundasi dengan pelarut air. Air merupakan pelarut yang bersifat polar dengan sifat kepolaran yang sangat tinggi.²³ Pertimbangan air dipakai sebagai penyari karena air mudah diperoleh dan murah, stabil, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Namun penggunaan air sebagai pelarut memiliki beberapa kerugian yaitu, tidak selektif, sari dapat ditumbuhi kapang dan kuman dan cepat rusak, serta untuk pengeringan diperlukan waktu lama.²⁴

Aseton, metanol dan etanol merupakan pelarut yang bersifat semipolar. Aseton merupakan pelarut yang paling baik dalam mengekstraksi gugus fenol, namun ekstraksi tersebut akan menimbulkan residu aseton yang banyak.²⁵ Metanol bersifat lebih polar dibandingkan etanol namun bersifat sitotoksik.²⁶ Ekstrak etanol lebih efektif pada tumbuhan yang mengandung polifenol, karena ekstrak etanol memiliki polaritas yang hampir sama dengan polifenol. Pelarut air memiliki tingkat kelarutan yang rendah dibandingkan dengan pelarut metanol dan etanol, dimana tingkat kelarutan air adalah 29,775%, metanol 39,858%, dan etanol 42,375%. Rendahnya tingkat kelarutan tersebut menyebabkan kemampuan air dalam menyari senyawa metabolit menjadi kurang.²⁷

Penelitian yang dilakukan oleh Kurniawati *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan dengan ekstrak air dari daun kelor (*Moringa oleifera*), hal ini diduga karena pelarut etanol memiliki tingkat kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan pelarut air sehingga senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri dapat tersari lebih banyak.²⁸ Menurut Arifianti *et al.* (2014), pelarut etanol merupakan pelarut pengekstraksi yang paling dipilih untuk pembuatan ekstrak.²⁹ Dugaan tersebut diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Nuryanto (2014) dan Rijayanti (2014) membuktikan bahwa ekstrak etanol

daun mangga bacang (*M. foetida* L.) dengan metode maserasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri gram negatif dan gram positif yaitu, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.^{8,30} Penelitian lain yang dilakukan oleh Imani (2014) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun mangga bacang (*M. foetida* L.) dengan metode maserasi juga memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*.³¹

Air merupakan pelarut universal, memiliki polaritas yang paling besar.²⁶ Penggunaan pelarut air diharapkan dapat menyari senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar. Alkaloid, tanin, flavonoid, fenol dan saponin merupakan senyawa yang bersifat polar, sedangkan triterpenoid merupakan senyawa yang bersifat non polar.^{14,32} Pada skrining fitokimia yang dilakukan terhadap infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.), diketahui bahwa terdapat kandungan senyawa metabolit berupa fenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan tanin. Fenol, flavonoid, saponin dan tanin merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga dapat tersari oleh air yang bersifat polar, sedangkan hasil positif pada terpenoid diduga karena terpenoid merupakan kelompok triterpenoid, dimana beberapa senyawa triterpenoid yang memiliki struktur siklik berupa alkohol, aldehid atau asam karboksilat dengan gugus -OH mengakibatkan senyawa ini bersifat semipolar sehingga dapat disari oleh pelarut yang bersifat polar seperti air.¹⁴

Senyawa-senyawa metabolit yang terkandung dalam infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.) memiliki mekanisme sebagai antibakteri yang berbeda-beda. Fenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena dapat mengoksidasi bakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri, menghilangkan substrat, menonaktifkan enzim, berikatan dengan adhesin yang merupakan protein pada bakteri.³³ Flavonoid yang merupakan turunan senyawa fenol bekerja sebagai antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Pada konsentrasi yang rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan lemah dan segera mengalami peruraian sehingga aktivitas antibakterinya menjadi lemah.³⁴

Penelitian yang dilakukan oleh Manimozhi *et al.* (2012) membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi flavonoid dalam suatu ekstrak maka akan semakin baik kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri.³⁵ Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel. Struktur yang berperan sebagai antibakteri adalah aglikon yang masuk ke dalam lapisan lipid bilayer bakteri. Saponin dengan konsentrasi tinggi mampu melisiskan membran sel, sementara saponin dengan konsentrasi rendah hanya mampu berinteraksi dengan membran sel tetapi tidak sampai melisiskan sel.³⁶ Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak komponen membran sel, dinding sel, enzim, materi genetik, maupun komponen berprotein lainnya.³⁷ Sifat antibakteri tanin tergantung pada berat molekul dan konsentrasi tanin yang digunakan. Tanin dengan berat molekul rendah memiliki aktivitas yang lebih baik daripada tanin dengan berat molekul yang lebih besar.³⁸ Penelitian yang dilakukan oleh Al-Ani *et al.* (2008) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi tanin yang digunakan maka semakin besar diameter zona hambat bakteri yang terbentuk.³⁹ Terpenoid yang bersifat lipofilik memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri, senyawa ini akan bereaksi dengan sisi aktif membran, melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya.⁴⁰ Adanya senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.) yang hanya dideteksi secara kualitatif lewat skrining fitokimia diduga berjumlah sedikit sehingga tidak cukup adekuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. flexneri*.

Faktor virulensi bakteri uji diduga turut mempengaruhi hasil uji antibakteri infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.). *S. flexneri* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel berlapis banyak yang sangat kompleks. Dinding sel gram negatif mengandung tiga komponen yang terletak di luar lapisan peptidoglikan, yaitu lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida. Pada lapisan membran luar terdapat molekul protein khusus yang disebut porin yang memungkinkan terjadinya difusi pasif komponen hidrofilik dengan berat molekul rendah sehingga molekul

antibakteri yang besar relatif lambat saat menembus membran luar yang menyebabkan bakteri gram negatif relatif lebih resisten terhadap antibiotik.⁴¹ *S. flexneri* yang merupakan kelompok *Enterobacteriaceae* juga diketahui memiliki struktur antigen kompleks pada bagian terluar lipopolisakarida dinding selnya yaitu antigen O. Antigen O terdiri dari unit polisakarida yang berulang dan merupakan antigen somatik yang resisten terhadap panas dan alkohol sehingga menyebabkan *S. flexneri* tahan terhadap senyawa-senyawa yang terkandung dalam infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.).

Penelitian yang dilakukan oleh Samah dan Abidin (2009) menunjukkan ekstrak etanol *M. indica* L. yang merupakan tanaman satu genus dengan mangga bacang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif namun tidak terhadap *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan bakteri gram negatif.⁴² Adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol *M. indica* L. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif diduga karena struktur dinding selnya yang lebih sederhana dibandingkan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan bakteri gram negatif dengan struktur dinding sel yang sangat kompleks sehingga menyebabkan zat antibakteri lebih resisten. Pertahanan serupa diduga terjadi pada *S. flexneri* yang merupakan bakteri gram negatif sehingga tidak dapat dihambat pertumbuhannya oleh senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.). Dugaan tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Widyasari (2010) mengenai aktivitas antibakteri infusa daun mangga gadung (*M. indica* L.) yang menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang juga merupakan bakteri gram positif.⁴³

Selain pemilihan pelarut dalam ekstraksi dan faktor virulensi bakteri uji, faktor lain yang diduga turut mempengaruhi uji aktivitas antibakteri yaitu faktor teknis dan faktor biologis.⁴⁴ Faktor teknis yang dapat mempengaruhi

aktivitas antibakteri secara *in vitro* adalah jumlah inokulum, suhu, dan lama inkubasi.⁴¹ Faktor-faktor teknis tersebut dapat dikendalikan oleh peneliti selama penelitian. Jumlah inokulum telah disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland atau setara dengan 1×10^8 bakteri/mL, jumlah inokulum tersebut juga telah diukur dengan menggunakan spektrofotometri. Proses inkubasi juga telah diatur dalam keadaan yang optimal dengan suhu inkubasi 37° C dan lamanya inkubasi selama 24 jam.

Faktor biologis terdiri dari *persisters* dan resistensi.⁴⁴ *Persisters* berasal dari sel-sel yang dorman atau bereplikasi dengan lambat sehingga tidak dapat dibunuh oleh zat antibakteri. Tingkat membunuh suatu antibakteri berbanding lurus dengan laju pertumbuhan bakteri. Dengan demikian, semakin lambat laju pertumbuhan bakteri, semakin lambat efek bakterisida suatu agen antibakteri. Faktor *persisters* sudah dikendalikan dengan penggunaan inokulum yang tidak lebih dari 24 jam atau inokulum fase logaritmik dimana pada fase ini bakteri sedang aktif membelah sehingga diharapkan efek antibakteri dapat optimal.⁴⁵

Faktor biologis berikutnya adalah resistensi. Beberapa mekanisme yang menyebabkan bakteri bersifat resisten terhadap agen antibakteri antara lain, produksi enzim yang menghancurkan zat aktif, mengubah permeabilitasnya, mengubah target struktural untuk antibakteri, melakukan perubahan jalur metabolik dan perubahan enzim yang masih dapat melakukan fungsi metaboliknya tetapi kurang dipengaruhi oleh obat.⁴¹ Penelitian yang dilakukan oleh Agtini *et al.* (2005) dan Herwana *et al.* (2010) menunjukkan bahwa terjadi resistensi bakteri *S. flexneri* secara *in vitro* terhadap beberapa antibiotik yaitu ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol, kloramfenikol dan tetrasiklin.^{46,47} Penelitian lain yang dilakukan oleh Sepdahlia (2013) menunjukkan bahwa bakteri *S. flexneri* mengalami resistensi terhadap antibiotik ampisilin, kloramfenikol dan seftriakson.⁴⁸ Ampisilin dan seftriakson merupakan antibiotik golongan penisilin dan sefalosporin yang sama-sama merupakan kelompok golongan betalaktam yang memiliki mekanisme kerja dengan menghambat sintesis peptidoglikan

pada dinding sel bakteri.⁴⁹ Sedangkan tertrasiklin dan kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri.⁵⁰ Antibiotik tersebut memiliki mekanisme kerja yang hampir serupa dengan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.) yang sebagian besar bekerja pada dinding sel bakteri, sehingga diduga tidak adanya efek antibakteri infusa daun mangga bacang (*M. foetida* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *S. flexneri* diakibatkan adanya resistensi bakteri uji terhadap beberapa antibiotik tersebut. Resistensi merupakan faktor yang tidak bisa dikendalikan oleh peneliti.

KESIMPULAN DAN SARAN

Infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antimikroba infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap bakteri gram negatif lainnya, bakteri gram positif, dan jamur. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder secara kuantitatif yang terkandung dalam infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) untuk mengetahui senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan *Shigella flexneri*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) menggunakan pelarut lain seperti, aseton, metanol, dan etanol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sudoyo A.W, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi IV Jilid III, Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 2009.
2. Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat, Surveilans Terpadu Penyakit Berbasis Puskesmas, Dinkes Kalbar, Pontianak, 2011.
3. Herwana E, Surjawidjaja JE, Salim OC, Indriani N, Bukitwetan P, Lesmana M. Shigella-Associated Diarrhea in Children in South Jakarta, Indonesia, 2010; Vol 41 No.2.

4. Parmar C., Bachang (*Mangifera foetida* L.). 2013 http://www.fruitipedia.com/Bachang_mangifera_foetida.htm. (10 Juni 2014)
5. Bhuvanewari K. Isolation of Mangiferin From Leaves of *Mangifera Indica* L., Var Alphonso, Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 2013; Vol 6, Suppl 2 2013.
6. Singh SK, Sharma VK, Kumar Y, kumar SS, Sinha SK. Phytochemical and Pharmacological Investigations on Mangiferin, Herba Polonica, 2009; Vol. 55 No 1.
7. Purwaningsih EH, Hanani E, Amalia P, Krisnamuti DGB. The Chelating Effect of *Mangifera foetida* Water Extract on Serum Thalassemic Patient, J Indon Med Assoc, 2011; 61(8):321-5.
8. Nuryanto A. Uji Aktivitas Antibakter Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*M. foetida* L.) terhadap *Escherichia coli* Secara *in vitro*. Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran, Pontianak, 2014. (Skripsi).
9. Gunawan D dan Mulyani S. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jilid I. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta, 2004.
10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cara Pembuatan Simplisia. Depkes RI, Jakarta, 1985.
11. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Materia Medika Indonesia. Jilid III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1979.
12. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Efek Stimulan Susunan Syaraf Pusat Infus Akar Som Jawa (*Talinum Paniculatum* Gaertn.) Pada Mencit Putih, Badan Litbangkes Depkes RI, Jakarta, 1999.
13. Syamsuni HA. Ilmu Resep, Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta, 2006.
14. Harborne JB dan Baxter H. Phytochemical dictionary. Taylor and Francis. London, 1995.
15. Atmoko T dan Ma'ruf A. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orangutan terhadap Larva *Artemia salina* L. (Toxicity Testing and Phytochemical Screening of Orangutan Food

- Extracts to Larvae of *Artemia salina* L.), Jurnal Penelitian dan Konservasi alam, 2009.
16. Lailatul L, Kadarohman A, Eko R. Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex* sp, dan *Anopheles sundaicus*. Jurnal Sains dan Teknologi Kimia: Jurusan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung, 2010; 1(1) : 59-65.
 17. Indian Council of Medical Research (ICMR). Detection of Antimicrobial Resistance in Common Gram Negative and Gram Positive Bacteria Encountered in Infectious Diseases An Update, ICMR Bulletin, 2009; 39:1-3.
 18. Rahmawati R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rhizoma Alang-Alang terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, Universitas Tanjungpura, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Pontianak, 2010. (Skripsi).
 19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement, CLSI, Wayne, PA, 2013.
 20. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Informatorium Obat Nasional Indonesia, Depkes RI, Jakarta, 2000.
 21. Depkes RI. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008; Hal. 8-9, 11-12.
 22. McMurry J. Organic Chemistry 6th Edition. Pacific Grove, CA: Brooks/Cole, 2003.
 23. Sadek P. Solvent Miscibility and Viscosity Chart. The HPLC Solvent Guide. Wiley-Interscience, 2002.
 24. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Sediaan Galenik. Depkes RI, Jakarta, 1986.
 25. Dent M, Dragovis V, Penic M, Brncic M. The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols of Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.). Food technology and biotechnology, 2012; 50(4).

26. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 2011; 1(1):98-106.
27. Septiana AT dan Asnani A. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi, *Jurnal Agointek*, 2012; Volume 6, No. 1.
28. Kurniawati S, Murwani S, Winarso, D. Perbandingan Potensi Antibakteri Ekstrak Air dengan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* NN-1-PKH secara In Vitro, Universitas Brawijaya, Program Studi Kedokteran Hewan, 2013.
29. Arifianti L, Oktariana RD, kusumawati I. Pengaruh Jenis Pelarut Pengakstraksi terhadap Kadar Sinensetin dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus*, Benth, *E-Journal Planta Husada*, 2014; Vol.2,No.1 April 2014.
30. Rijayanti RP. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*M. foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *in vitro*. Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran, Pontianak, 2014. (Skripsi).
31. Imani AZ. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*M. foetida* L.) terhadap *Candida albicans* Secara *in vitro*. Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran, Pontianak, 2014. (Skripsi)
32. Markham KR. Cara Mengidentifikasi Flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung, 1988.
33. Cowan M. Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 1999; 12(4): 564-82.
34. Siswandono dan Soekardjo B. *Kimia Medisinal*, Airlangga University Press, Surabaya, 1995.
35. Manimozhi DM, Dr. Sankaranarayanan S, Dr. Sampathkumar G. Evaluating The Antibacterial Activity Of Flavonoids Extracted From *Ficus Benghalensis* *International Journal of Pharmaceutical and Biological Research (IJPBR)*, 2012; Vol 3 Issue 1.

36. Hassan S M. Antimicrobial Activities Of Saponin Rich Guar Meal Extract, Poultry Science, A&M University, Texas, 2008. (Disertasi).
37. Sabir A. Aktivitas Antibakteri Flavonoid *Propolis trigona* sp terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). Majalah Kedokteran Gigi, 2005; 38(3): 135-41.
38. Costabile A, Sanghi S, Pelaez SM, Harvey IM, Gibson GR, Rastal RA et al. Inhibition of *Salmonella Typhimurium* by tannins *in vitro*, Journal of Food, Agriculture & Environment, 2011; 9(1): 119-24.
39. Al-Ani RT, Mohammed N, Alhameed A, Mohammed S. Antibacterial Activity of Tannins Extracted from Some Medicinal Plants *in vitro*, Department of Biochemistry, Al-Anbar University, Iraq, 2008.
40. Mayanti T, Julaeha E; Putri Y. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang *Lansium domesticum* Corr. Cv Kokossan, Universitas Padjajaran, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bandung, 2011. (Naskah Publikasi).
41. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Mikrobiologi kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Edisi ke-23, EGC. Jakarta, 2007.
42. Samah OA dan Abodon NZ. Antibacterial activity of ten medicinal plants obtained from some selected villages in the states of Kedah and Penang, Malaysia, Majalah Farmasi Indonesia, 2009; 20(2), 99 – 103.
43. Widyasari MA. Uji Antimikroba Infusum Daun Mangga Gadung (*M. indica* Linn) Terhadap Pertumbuhan *Sterptococcus mutans*, Universitas Airlangga, Fakultas Kdokteran Gigi, Surabaya, 2007. (Skripsi).
44. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Eleventh Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012; 32 (1).
45. National Commitee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS). Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved guideline, 1999.
46. Agtini MD, Soeharno R, Lesmana M, Punjabi NH, Simanjuntak C, Wangsasaputra F et al. The burden of diarrhoea, shigellosis, and

- cholera in North Jakarta, Indonesia: findings from 24 months surveillance, *BMC Infect Dis*, 2005; 5(89): 1-11.
47. Herwana E, Surjawidjaja JE, Salim OC, Indriani N, Bukitwetan P, Lesmana M. Shigella-Associated Diarrhea in Children in South Jakarta, Indonesia, 2010; Vol 41 No.2.
 48. Sepdahlia F. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Langsung (*Lansium domesticum* Cor.) terhadap *Shigella flexneri* Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran, Pontianak, 2013. (Skripsi).
 49. Goodman dan Gilman. Dasar Farmakologi Terapi, Ed ke-12, Vol 2, Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB (alih bahasa), Hanif A *et al*, EGC, Jakarta, 2007.
 50. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Rang and Dale's Pharmacology, Ed ke-7, Churchill Livingstone, London, 2012.