

NASKAH PUBLIKASI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI INFUSA UMBI BAWANG
DAYAK (*Eleutherine americana* (Aubl.) DAN DAUN MANGGA
BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus
SECARA *IN VITRO***



**ANGGA DOMINIUS
I11112063**

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

LEMBAR PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI INFUSA UMBI BAWANG
DAYAK (*Eleutherine americana* (Aubl.) DAN DAUN MANGGA
BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP

Staphylococcus aureus

SECARA IN VITRO

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA
ANGGA DOMINIUS
NIM. I11112063

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

PEMBIMBING KEDUA

dr. Muhammad In'am Ilmiawan, M.Biomed
NIP. 19791018 200604 1 002

dr. Effiana
NIP. 19860906 201404 2 001

MENGETAHUI,
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA



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

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI INFUSA UMBI BAWANG
DAYAK (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K.Heyne)
DAN DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* SECARA
*IN VITRO***

Angga Dominius¹, Siti Khotimah², Sari Rahmayanti³

Intisari

Latar belakang: *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang sering menyebabkan infeksi oportunistik. Beberapa strain bakteri ini telah diketahui resistensi terhadap banyak antibiotik seperti antibiotik *penicillin* dan β -lactam yang dikenal sebagai *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA). Penelitian saat kini telah berusaha mencari agen antibakteri alternatif lain untuk melawan *S. aureus* dari berbagai tanaman obat tradisional. Penggunaan tanaman tradisional dalam pengobatan seperti umbi bawang dayak dan daun mangga bacang telah menjadi kebiasaan pada masyarakat Kalimantan Barat. Pola penggunaan tanaman obat sering dilakukan dengan teknik perebusan dan dikombinasikan, sehingga hal ini menjadi dasar pemilihan teknik kombinasi infusa tanaman dalam penelitian ini. **Tujuan:** penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri kombinasi infusa umbi bawang dayak dan daun mangga bacang dengan menilai diameter zona hambat yang terbentuk. **Metodologi:** penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro* dengan rancangan acak lengkap *posttest only control group design*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *cup plate* dengan konsentrasi kombinasi infusa 100%, 85%, 70%, 55%, 40% dan 25%. Kontrol positif menggunakan doksisisiklin 30 µg/sumuran, kontrol negatif menggunakan *aquades* steril. Medium untuk pengujian antibakteri menggunakan *Mueller hinton agar* (MHA). **Hasil:** Kandungan metabolik sekunder kombinasi infusa adalah flavonoid, tanin, saponin dan kuinon. Pada semua variasi konsentrasi terbentuk diameter zona hambat namun tidak signifikan dengan diameter minimum dan maksimum masing – masing sebesar $5,56 \text{ mm} \pm 3,74$ pada konsentrasi 25% dan $11,55 \text{ mm} \pm 0,34$ pada konsentrasi 100%. **Kesimpulan:** terdapat aktivitas antibakteri kombinasi infusa umbi bawang dayak dan daun mangga bacang terhadap *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: antibakteri, *Staphylococcus aureus*, bawang dayak, mangga bacang, infusa.

-
- 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 TEST OF INFUSE COMBINATION OF
BULBUS *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K.Heyne AND
Mangifera foetida L. LEAF AGAINST
Staphylococcus aureus IN VITRO**

Angga Dominius¹, Siti Khotimah², Sari Rahmayanti³

Abstract

Background: *Staphylococcus aureus* is bacteria causes opportunistic infection. Some of these bacteria are called as Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) have been known to be resistant to many antibiotics such as penicillin and β -lactam. Current studies have tried to find other alternative antibacterial agents against *S. aureus* from a variety of traditional plants. The use of traditional plants in this treatment like bulbus *Eleutherine americana* and *Mangifera foetida* leaf has been becoming a culture of West Borneo's population. The pattern of using the traditional plants is often done with boiling and combining technique, thus it becomes the basis of selecting an infuse combination techniques in this study.

Objective: The aim of this study is to investigate secondary metabolites and antibacterial activity of infuse combination of bulbus *Eleutherine americana* (Aubl.) and *Mangifera foetida* L. leaf through measurement of diameter of inhibition zone. **Method:** This study is an *in vitro* laboratory experimental study with complete randomized design and post-test only control group design. Phytochemical screening is performed by test tube method. Antibacterial activity test is determined by cup plate method in 100%, 85%, 70%, 55%, 40% and 25% concentration. Positive control is doxycycline 30 μ g/well, negative control is sterile aquadest. The medium for antibacterial test is Mueller hinton agar (MHA). **Result:** Secondary metabolites contained in infuse combinations were flavonoid, tannin, saponin and quinone. All variances of concentrations formed diameter of inhibition zone but no significant with maximum and minimum diameter respectively are 5,56 mm \pm 3,74 in 25% concentration and 11,55 mm \pm 0,34 in 100% concentration. **Conclusion:** infuse combination of bulbus *Eleutherine americana* (Aubl.) and *Mangifera foetida* L. leaf has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Eleutherine americana* (Aubl.), *Mangifera foetida* L., infuse.

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

LATAR BELAKANG

Staphylococcus aureus adalah bakteri penyebab infeksi oportunistik, umumnya tersebar di rumah sakit dan meningkat pula pada beberapa komunitas. Infeksi kulit dan jaringan ikat, infeksi endovaskular, pneumonia, artritis septik, endokarditis, osteomielitis, infeksi benda asing dan sepsis merupakan beberapa penyakit yang sering disebabkan oleh *S. aureus*.¹

Bakteri *S. aureus* yang resisten terhadap semua antibiotik *penicillin* dan obat lain golongan β -lactam dikenal sebagai *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA). Bakteri – bakteri ini banyak terdapat di rumah sakit, lingkungan layanan kesehatan lain dan pasien – pasien yang menggunakan fasilitas – fasilitas kesehatan. Di Asia, prevalensi infeksi MRSA kini mencapai 70%, sementara di Indonesia pada tahun 2006 prevalensinya berada pada angka 23,5%.^{1,2}

Terapi infeksi *S. aureus* masa kini berdasarkan Panduan Praktik Klinis pada Pasien Dewasa dengan Pneumonia Nosokomial dan Panduan Praktik Klinis serta Diagnosis yang diterbitkan oleh Perhimpunan Penyakit Infeksi Amerika, masih menggunakan berbagai agen antibiotik klasik, dimana telah dilaporkan oleh berbagai penelitian bahwa beberapa agen antibiotik tersebut telah mengalami resistensi terkecuali untuk klindamisin dan doksisisiklin. Penggunaan antibiotik sintetik seperti doksisisiklin dapat memberikan berbagai efek merugikan yang tidak dinginkan seperti: perubahan warna gigi pada anak, depresi sum sum tulang, toksik gastrointestinal dan sebagainya.³⁻⁵

Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan pengembangan agen antibakteri alternatif yang dapat menghambat dan mengeredikasi *S. aureus* dan diharapakan dengan efek samping minimal namun, penggunaan agen antibakteri baru mungkin akan memiliki bioavailabilitas yang rendah.⁶ Oleh sebab itu, penelitian saat ini sedang mengembangkan antibakteri yang berbasis dari tanaman tradisional, menurut WHO lebih dari 90% populasi dunia mengandalkan tanaman tradisional sebagai

sumber perawatan kesehatan mereka.⁷ Dengan demikian, perlu diketahui konsekuensi pemanfaatan tanaman tradisional yang cukup luas apakah berdampak positif atau negatif dan sekaligus potensi efikasinya pada kesembuhan penyakit melalui suatu uji ilmiah.

Terdapat berbagai tanaman tradisional yang sering digunakan masyarakat Kalimantan Barat dan telah diketahui memiliki efek sebagai antibakteri diantaranya bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. ex K.Heyne) dan mangga bacang (*Mangifera foetida* L). Menurut penelitian Chansukh *et al*, diketahui bawang dayak mengandung salah satu metabolit sekunder yaitu neftokuinon, yang memiliki efek antibakteri terhadap *S. aureus*.⁸ Kemudian berdasarkan penelitian Purwaningsih *et al* dan Soetarno *et al* menyatakan di dalam mangga bacang terkandung metabolit sekunder seperti steroid, triterpenoid, fenol, flavonoid, saponin dan kandungan tinggi mangiferin, yang masing - masing memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi* dan *Shigella flexneri*.⁹⁻¹¹

Berdasarkan efek antibakteri masing – masing senyawa metabolit sekunder, apabila dilakukan kombinasi dari bawang dayak dan mangga bacang diduga akan menimbulkan efek sinergistik antibakteri terhadap *S. aureus*. Dengan demikian, peneliti tertarik untuk mengetahui metabolit sekunder yang dihasilkan dari kombinasi infusa tersebut dan menguji efek antibakteri kombinasi umbi bawang dayak dan daun mangga bacang, dengan teknik infusa dan diharapkan memiliki efek yang lebih signifikan terhadap *S.aureus*

BAHAN DAN METODE

Bahan

Umbi bawang dayak berusia 12 Minggu Setelah Tanam (mst) dan daun mangga bacang, *aquades*, alumunium foil, doksisisiklin 30 µg, kertas saring, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, HCl pekat, asam asetat anhidrat, plasma sitrat, FeCl_3 1%, FeCl_3 5%, pita Mg, Media *nutrient agar*, *Mueller Hinton Agar*, *Manitol Salt Agar*, karbol fuchsin, lugol, gentien violet.

Alat

Gunting, nampan, oven, inkubator, blender, toples kaca, batang pengaduk, corong kaca, gelas ukur 1 L, gelas beker 1 L, labu ukur 10 mL, labu ukur 25 mL, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, object glass, spatula, pipet tetes, hot plate, *Biological Safety Cabinet* (BSC), mikropipet, tip, jarum ose, desikator, cawan porslen, *autoclave*, pipet tetes termodifikasi, plastik tahan panas, kertas sampul coklat, kain *flannel*, vial.

Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur murni *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari koleksi Unit Laboratorium Kesehatan Pontianak.

METODE

Pengolahan Sampel dan Pengambilan Sampel

Umbi bawang dayak diperoleh dari perkebunannya di RT1/RW9 Jalan Objek Patok 35 di desa Limbung Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat dan daun mangga bacang diperoleh dari pohon mangga rumahan di Jalan Karna Sosial No. 10, Kecamatan Pontianak Selatan, Kota Pontianak, Kalimantan Barat. Kedua bahan tanaman tersebut dicuci menggunakan air PDAM sampai bersih dan sambil dirajang kasar. Selanjutnya daun dikeringkan dengan oven

pada suhu 50°C dan dipantau setiap 6 – 8 jam. Daun mangga bacang yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender baru kemudian disimpan dalam tempat penyimpanan sedangkan umbi bawang dayak yang telah kering tidak melalui proses penghalusan dan langsung dikemas dalam tempat penyimpanannya.

Penentuan Susut Pengeringan

Kedua jenis simplisia tersebut masing – masing dilakukan pemeriksaan susut pengeringan untuk menentukan kualitas simplisia yang telah dibuat.

Pembuatan Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak dan Daun Mangga Bacang

Kombinasi infusa 100% dibuat dengan mencampurkan terlebih dahulu 50 g simplisia umbi bawang dayak dan 50 g simplisia daun mangga bacang di dalam tabung erlenmeyer kemudian dihomogenkan, selanjutnya campuran tersebut dimasukkan *aquades* sebanyak 100 mL, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Kemudian hasil penyarian disaring dengan kain *flannel* steril selagi panas ke dalam tabung erlenmeyer lainnya. *Aquades* bersuhu 90°C ditambahkan hingga 100 mL jika hasil penyarian kurang dari 100 mL. Tabung erlenmeyer berisi kombinasi infusa tadi selanjutnya ditutup dengan alumunium foil steril. Pembuatan kombinasi infusa umbi bawang dayak untuk konsentrasi berikutnya dibuat dengan cara pengenceran.

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan fitokimia dilakukan pada kombinasi infusa larutan uji 50%. Metabolit sekunder yang diperiksa adalah alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid-steroid dan kuinon.

Pembuatan Media Uji

Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dibuat dengan mencampurkan *enzymatic digest of casein*, *enzymatic digest of animal tissue*, ekstrak daging sapi, D-mannitol, sodium klorida, merah fenol dan agar yang membentuk berat total 111 g kemudian dilarutkan dengan aquades 1 liter, selanjutnya dipanaskan dengan diaduk dan didihkan selama 1 menit agar larut merata setelah itu media disterilkan menggunakan *autoclave* 121°C 15 menit. Media kemudian dimasukkan ke cawan petri masing – masing sebanyak 20 mL kemudian didinginkan hingga memadat pada suhu kamar.¹²

Media *Muller Hinton Agar* (MHA) dibuat dengan mencampurkan *beef extract*, *casein hirolisate*, *starch* dan agar yang membentuk berat total 11,4 g kemudian dilarutkan dengan *aquades* 300 mL, selanjutnya dipanaskan dan diaduk sampai larut. Media kemudian disterilkan di *autoclave* 121°C 15 menit. Media agar dimasukkan ke dalam cawan petri masing – masing sebanyak 12 mL kemudian didinginkan hingga memadat pada suhu kamar.¹³

Karakterisasi Bakteri Uji

Karakterisasi yang dilakukan adalah pewarnaan gram, uji katalase dan uji koagulase dan pemeriksaan bakteri dengan menggunakan MSA. Proses ini bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang diperoleh dari Unit Laboratorium Kesehatan Pontianak adalah benar *Staphylococcus aureus*

Pembuatan Kombinasi Infusa Larutan Uji Berbagai Konsentrasi

Larutan stok konsentrasi 100% dibuat dengan cara mengambil 4 mL larutan uji dan dimasukkan ke dalam botol vial dan diberi label 100%. Larutan stok tersebut kemudian diencerkan dengan manambahkan *aquades* hingga membentuk konsentrasi masing – masing 85%, 70%, 55%, 40% dan 25%.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Media *nutrient agar* miring ditanamankan bakteri uji dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^oC, 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 pada latar hitam yang kontras pada ruangan dengan pencahayaan adekuat. Jika kekeruhan inokulum tersebut telah sama dengan kekeruhan McFarland, berarti suspensi inokulum mengandung $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, kemudian diencerkan dengan NaCl 0,9% steril sampai diperoleh konsentrasi $1,5 \times 10^6$ sel bakteri/mL dan setelah setara maka suspensi ini yang digunakan sebagai bakteri uji.¹⁴⁻¹⁶

Pemilihan Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol positif yang digunakan adalah doksisiklin 30 μ g/sumur, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah *aquades* steril.

Uji Aktivitas Antibakteri

Suspensi bakteri uji 1 mL dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dituangkan media *Muller Hinton* sebanyak 12 mL kemudian dihomogenkan selanjutnya media dibiarkan memadat. Setelah itu ambil pipet pasteur steril yang telah dimodifikasi dengan dibuat diameternya menjadi 5 mm, pipet ini digunakan untuk membuat sumur pada media agar. Pada sumur ini akan diisi kombinasi infusa dari tiap konsentrasi yang akan diuji, kontrol positif serta kontrol negatif *aquades* dengan menggunakan mikropipet.

Setelah seluruh proses selesai, semua cawan – cawan petri tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37^oC. Pengamatan zona hambat yang terbentuk akan diamati pada jam ke-24. Zona hambat yang tampak pada setiap agar, kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong.¹⁷ Zona hambat yang telah diukur kemudian

diinterpretasikan kekuatannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji menurut Davis dan Stout (Tabel 1.1).¹⁸

Tabel 1.1. Penggolongan Kekuatan Infusa. ⁽¹⁸⁾

Rerata Diameter Zona Hamabat (mm)	Interpretasi
≤5	Lemah
5-10	Sedang
10-20	Kuat
≥20	Sangat Kuat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Sampel dan Pengolahan Sampel

Waktu pemetikan daun mangga bacang dilakukan pada waktu puncak fotosintesis yaitu antara pukul 10.00 – 11.00. Fotosintesis diketahui memengaruhi kadar flavonoid dalam daun, menurut Markham, sekitar 2% produk hasil fotosintesis seperti karbon akan diubah menjadi senyawa flavonoid atau senyawa turunannya. Umbi bawang dayak dipanen pada usia 12 minggu setelah tanam (mst) sebab menurut Kuntorini, pada usia tersebut kadar antioksidan umbi bawang dayak sedang mencapai kadar puncak.^{19,20}

Tanaman tersebut kemudian dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura Pontianak. Kedua tanaman tersebut kemudian dilakukan sortasi basah, pencucian, pengeringan dan penghalusan hingga didapatkan serbuk simplisia terkecuali pada umbi bawang dayak yang tidak dihaluskan menjadi serbuk.

Penentuan Susut Pengeringan

Berdasarkan hasil pengujian susut pengeringan pada simplisia umbi bawang dayak dan simplisia daun mangga bacang rata – rata bobot simplisia yang diperoleh masing – masingnya adalah 1,0059 g dan 1,0013 g. Kedua simplisia tersebut masing – masing memiliki hasil pemeriksaan susut pengeringan yaitu simplisia umbi bawang dayak adalah 5,29% dan simplisia daun mangga bacang adalah 6,22%. Dengan demikian hasil

susut pengeringan kedua simplisia tersebut masih berada di bawah nilai 10% yang artinya memenuhi syarat simplisia standard.²¹

Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak dan Daun Mangga Bacang

Pada proses ini diperoleh kombinasi infusa umbi bawang dayak dan daun mangga bacang dengan konsentrasi 100% dengan volume 100 mL di dalam tabung erlenmeyer 250 mL. Di dalam infusa ini mengandung senyawa metabolit sekunder dari kedua tanaman uji dan diperoleh dari penyarian dua jenis simplisia tanaman uji yang dihomogenkan sebelum simplisia dicampurkan dengan *aquades*. Berdasarkan konsentrasi 100% selanjutnya akan dibuat konsentrasi kombinasi infusa lainnya.

Skrining Fitokimia

Berdasarkan skrining fitokimia kombinasi infusa larutan uji diperoleh hasil positif pada flavonoid, tanin, saponin dan kuinon (Tabel 1.2).

Tabel 1.2 Hasil Skrining Fitokimia Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak dan Daun Mangga Bacang.

No.	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Fenol	FeCl ₃ 1%	-	Tidak 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	Aquades	+	Terbentuk busa/buih
5.	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
6.	Alkaloid	HCl 2N ditambahkan: Pereaksi Meyer	-	Tidak terbentuk endapan putih
		Pereaksi Dragendorff	-	Tidak terdapat endapan jingga
		Pereaksi Wagner	-	Tidak terdapat endapan coklat
7.	Kuinon	NaOH 15%	+	Terbentuk warna kuning hingga merah.

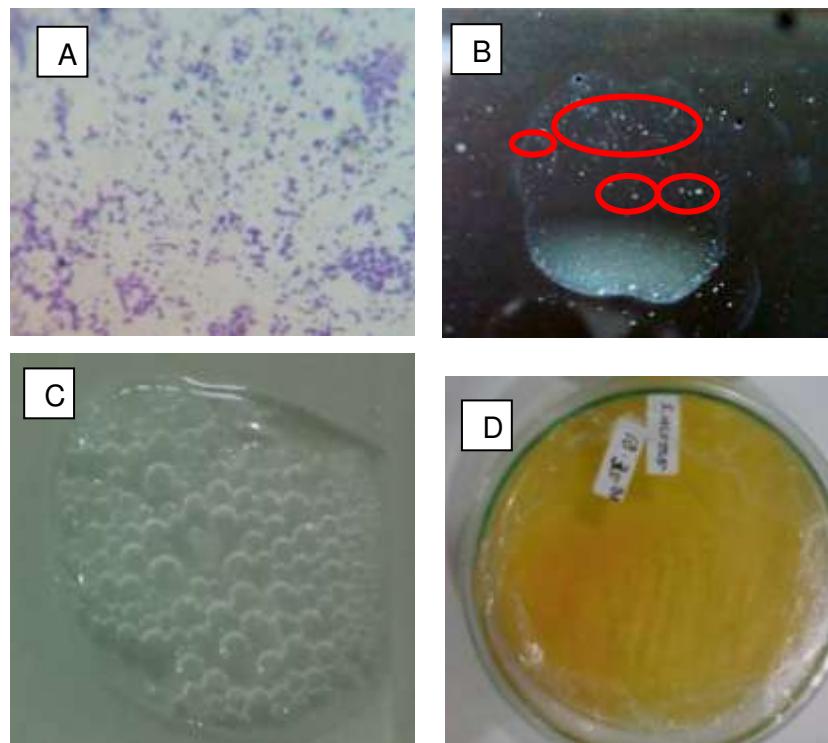
Keterangan : (+) = Hasil positif (terdeteksi senyawa metabolit sekunder)

(-) = Hasil negatif (tidak terdeteksi senyawa metabolit sekunder)

Karakterisasi Bakteri Uji

Bakteri uji diperiksa dengan empat cara, yaitu pewarnaan gram, uji katalase, uji koagulase dan pemeriksaan dengan MSA. Hasil pemeriksaan menunjukkan bakteri uji adalah benar *Staphylococcus aureus*. Pada pewarnaan gram bakteri uji terlihat berwarna ungu dan berbentuk kokus yang berkelompok seperti anggur (Gambar 1.1A). Pada uji koagulase diperoleh hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya presipitat granuler (Gambar 1.1B). Pada uji katalase diperoleh reaksi positif terbentuknya gelembung – gelembung oksigen pada campuran pereaksi H_2O dengan suspensi bakteri uji (Gambar 1.1C). Terakhir, pada hasil pemeriksaan dengan MSA diperoleh hasil perubahan warna MSA yang semula berwarna merah menjadi kuning dengan adanya koloni berwarna putih kekuningan (Gambar 1.1D).

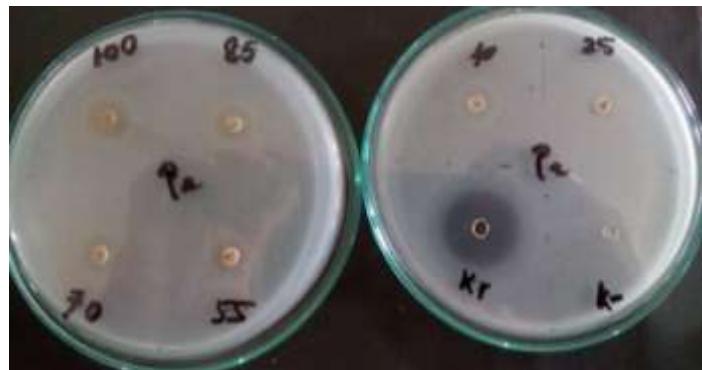
Pada pewarnaan gram *S. aureus* memperthankan warna pertama yaitu gentian violet, selanjutnya pada uji koagulase *S. aureus* diketahui menghasilkan enzim koagulase, enzim ini dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Reaksi koagulase positif sangat penting untuk membedakan *S. aureus* dengan jenis *Staphylococcus* yang lain.²²⁻²⁴ Pada uji katalase *S. aureus* diketahui menghasilkan enzim katalase, enzim ini mampu mengkatalis pemecahan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 sehingga tampak adanya gelembung – gelembung berisi oksigen. Fungsi uji katalase pada bakteri berbentuk kokus adalah untuk membedakan antara *Staphylococcus* sp. dan *Streptococcus* sp. Pada pemeriksaan dengan MSA *S.aureus* pada media MSA menunjukkan kemampuannya untuk memfermentasi *mannitol*. Bakteri yang tidak mampu memfermentasi *mannitol* tampak zona berwarna merah atau merah muda. Zona kuning menunjukkan adanya fermentasi *mannitol*, yaitu asam yang dihasilkan, menyebabkan perubahan fenol red pada agar yang berubah dari merah menjadi berwarna kuning.²⁵⁻²⁷



Gambar 1.1 Karakterisasi Bakteri Uji; A) Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri Uji Pada Perbesaran 100x; B) Hasil Uji Koagulase Bakteri Uji. Lingkaran merah menandakan letak presipitat granuler; C). Hasil Uji Katalase Bakteri Uji; D) . MSA yang telah diinokulasi *S.aureus* dan telah diinkubasi selama 24 jam 37°C.

Uji Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi infusa umbi bawang dayak dan daun mangga bacang terhadap *Staphylococcus aureus*, diperoleh nilai diameter zona hambat berkisar antara 6,71-11,69 mm (Tabel 1.3). Doksisiklin sebagai kontrol positif menunjukkan efek antibakteri yang signifikan dengan zona hambat rata – rata sebesar $20,62 \pm 1,06$ mm sedangkan kontrol negatif tidak menghasilkan diameter zona hambat (Gambar 1.2).



Gambar 1.2 Hasil Uji Antibakteri; K- = Kontrol negatif; K+ = Kontrol Positif; 100, 85, 70, 55, 40 dan 25 = Variasi Konsentrasi Kombinasi Infusa Larutan Uji.

Tabel 1.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak dan Daun Mangga Bacang terhadap *S. aureus*.

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-Rata
	P I	P II	P III	P IV	
100%	11,25	11,69	11,97	11,31	11,55 ± 0,34
85%	10,86	10,26	11,17	10,55	10,71 ± 0,39
70%	11,37	9,83	10,14	10,05	10,35 ± 0,69
55%	9,39	8,25	11,00	9,82	9,61 ± 1,14
40%	-	7,54	9,15	9,35	6,51 ± 4,41
25%	-	6,71	7,84	7,68	5,56 ± 3,74
Kontrol +	21,40	20,27	19,27	21,54	20,62 ± 1,06
Kontrol -	-	-	-	-	-

Keterangan: P I-IV = Pengulangan ke-1 sampai ke-4

Penampakan hasil diameter zona hambat memperlihatkan zona hambat yang tidak terlalu jernih. Ini diduga zona hambat yang jernih telah terbentuk di bawah 24 jam waktu inkubasi, kemudian penilaian aktivitas antibakteri kombinasi infusa larutan uji tidak dievaluasi pada jam ke-18 waktu inkubasi, namun hanya diamati pada jam ke-24. Faktor waktu inkubasi yang lama ini diduga menyebabkan zona hambat jernih yang telah terbentuk sebelumnya kembali ditumbuh S.aureus pada waktu pengamatan tersebut.

Analisis data dengan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *pos hoc Mann-Whitney* menunjukkan hasil sebagai berikut: 1) terdapat perbedaan bermakna antara nilai diameter zona hambat kelompok konsentrasi 100% dengan kelompok konsentrasi 85%, 55%, 40% dan 25%. Kelompok konsentrasi 100% menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan keempat kelompok sebelumnya. 2) terdapat perbedaan

bermakna antara nilai diameter zona hambat kelompok konsentrasi 85% dan 70% dengan kelompok konsentrasi 40% dan 25%, konsentrasi 85% dan 70% menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan kedua kelompok konsentrasi sebelumnya. 3) terdapat perbedaan bermakna antara nilai diameter zona hambat kelompok konsentrasi 55% dengan kelompok konsentrasi 25%, kelompok konsentrasi 55% menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan kelompok konsentrasi sebelumnya. 4) terdapat perbedaan bermakna antara nilai diameter zona hambat kontrol positif dengan seluruh kelompok konsentrasi kombinasi infusa larutan uji, kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan seluruh konsentrasi kombinasi infusa larutan uji.

Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi infusa umbi bawang dayak dan daun mangga bacang terhadap *S. aureus* kemudian diinterpretasikan kekuatan aktivitas antibakterinya sehingga diperoleh hasil seperti yang tercantum pada Tabel 1.4.

Tabel 1.4 Interpretasi Diameter Zona Hambat Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak dan Daun Mangga Bacang.¹⁸

Konsentrasi	Rata – Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Respons Antibakteri (mm)
100%	11,55 ± 0,34	Kuat
85%	10,71 ± 0,39	Kuat
70%	10,35 ± 0,69	Kuat
55%	9,61 ± 1,14	Sedang
40%	6,51 ± 4,41	Sedang
25%	5,56 ± 3,74	Sedang

Kekuatan kombinasi infusa larutan uji pada dasarnya ditentukan oleh jumlah dan jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam kedua jenis tanaman tersebut. Pada hasil skrining fitokimia diketahui bahwa kombinasi infusa larutan uji mengandung flavonoid, tanin, saponin dan kuinon. Jika dibandingkan dengan penelitian Rijayanti *et al*, diketahui ekstrak etanol daun mangga bacang mengandung flavonoid, tanin, fenol, saponin, alkaloid, steroid dan triterpenoid, kemudian pada

penelitian Merza *et al*, diketahui ekstrak etanol umbi bawang dayak mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, antrakuinon glikosida, tanin, steroid dan triterpenoid. Terdapat beberapa faktor yang memengaruhi perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder pada penelitian terdahulu yang mana telah dijelaskan sebelumnya.^{28,29}

Kekuatan kombinasi infusa larutan uji diduga berhubungan dengan adanya metabolit sekunder yang sama dari kedua tanaman. Kedua metabolit sekunder tersebut terkandung dalam tanaman yang berbeda dan memberikan efek antibakteri yang lebih efektif akibat akumulasi kuantitas senyawa. Adapun senyawa metabolit yang dimiliki oleh kedua jenis tanaman adalah flavonoid, tanin dan saponin. Ketiga senyawa ini yang telah dideteksi pada skrining fitokimia kombinasi infusa larutan uji. Akibat jumlah kumulatif senyawa tersebut dan juga mekanisme kerja yang saling memperkuat akhirnya menimbulkan efek antibakteri.

Selain itu, kekuatan kombinasi infusa tersebut juga diduga karena adanya efek saling melengkapi dari senyawa metabolit sekunder. Pada tanaman daun mangga bacang diketahui tidak memiliki senyawa golongan kuinon namun, pada umbi bawang dayak diketahui memiliki senyawa golongan kuinon. Senyawa ini pada akhirnya ikut andil dalam efek antibakteri khususnya bersifat antistafilocokus, sebab senyawa golongan kuinon terdiri dari banyak senyawa lain seperti naftokuinon, naftalene dan turunannya seperti *hongconin*, *elecanacin*, eleuthoside B, Isoeleutherine, eleutherin, eleutherol, eleutherinoside A.³⁰⁻³³ Naftokuinon adalah senyawa turunan kuinon yang memiliki efek antibakteri. Senyawa golongan kuinon ini ikut dalam mekanisme antibakteri bersama dengan senyawa metabolit lain pada kombinasi infusa larutan uji, hal ini yang diduga dapat menghasilkan zona hambat pada rentang kuat hingga sedang seperti yang terlihat pada Tabel 4.7.

Senyawa kuinon akan mengalami satu proses perubahan yaitu reduksi elektron sehingga merubah kuinon menjadi setengah hidrokuinon (semikuinon) dan menghasilkan radikal bebas seperti ROS dan gugus

hidroksil. Produk radikal bebas ini nantinya akan mengganggu perkembangan sel bakteri melalui jalur genetik dan protein yang dihasilkan. Gugus hidroksil dapat berikatan kovalen dengan DNA untuk membentuk aduksi DNA atau merusak DNA sehingga menyebabkan penghambatan proses mitotik sel mikroba, dan ROS yang dihasilkan terutama radikal hidroksil akan berikatan secara irreversibel dengan lipid dan protein dalam sel mikroba. Reaksi ini dapat mengganggu *surface-exposed adhesin*, polipeptida dinding sel dan enzim terikat membran pada mikroorganisme.⁸

Mekanisme kerja senyawa metabolit sekunder lainnya seperti flavonoid digolongkan menjadi tiga mekanisme yaitu: menghambat sintesis asam nukleus, menganggu fungsi sitoplasma dan metabolisme energi.³⁴ Pada peranan flavonoid sebagai penghambat sintesis asam nukleat, terdapat tiga turunan flavonoid yang menunjukkan aktivitas ini yaitu *robinetin*, *myricetin*, dan *epigallocatechin*. Cincin B pada flavonoid berperan penting dalam interkalasi atau ikatan hidrogen pada basa asam nukleat dan hal ini dapat menjelaskan mekanisme kerjanya pada sintesis DNA dan RNA.³⁵ Pada penelitian Ohmeng *et al*, telah diketahui 14 flavonoid dengan berbagai struktur yang menunjukkan aktivitas penghambatan DNA gyrase pada bakteri *Escherichia coli* dan bakteri lainnya seperti *Staphylococcus aureus*. DNA gyrase dihambat pada tingkatan yang berbeda oleh ketujuh senyawa, mencakup *quercetin*, *apigenin* dan 3,6,7,3',4'-pentahidroksiflavanon, enzim penghambat dibatasi pada senyawa dengan cincin B hidroksilasi.^{36,37} *quercetin* mengikat subunit GyrB pada DNA gyrase dan menghambat aktivitas enzim ATPase.³⁸

Beberapa penelitian terdahulu telah menemukan turunan flavonoid lainnya yang berperan dalam penghambat fungsi membran sitoplasma yaitu *sophoraflavonone G*. Senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri dengan mengurangi fluditas membran sel bakteri.^{39,34}

Haraguchi *et al* baru – baru ini menemukan turunan flavonoid baru yaitu *licochalcone* A dan C. Flavonoid ini menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dan *Micrococcus luteus*. *Licochalcone* A menghambat inkorporasi prekursor radioaktif ke dalam makromolekul (DNA, RNA dan protein). *Licochalcone* diduga mengganggu metabolisme energi dengan jalur yang sama pada antibiotik yang menghambat respirasi sel. Menariknya, *licochalcone* ditemukan menghambat secara kuat konsumsi oksigen *S.aureus* dan *M.luteus*. *Licochalcone* A dan C secara efektif menghambat NADH-sitokrom c reduktase, namun tidak sitokrom c oksidase atau NADH-CoQ reduktase. Oleh sebab itu telah diketahui bahwa situs penghambatan *licochalcone* tersebut antara CoQ dan sitokrom c pada rantai transport elektron respirasi bakteri.⁴⁰

Mekanisme kerja senyawa metabolit sekunder lain yang terkandung di dalam kombinasi infusa tersebut seperti tanin adalah dengan mepresipitasi protein. Penghambatan pada enzim DNA topoisomerase adalah mekanisme kerja dari tanin, proses ini menyebabkan sel bakteri tidak dapat terbentuk.⁴¹ Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.⁽⁴²⁾ Kompleksitas dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme dalam kondisi anaerob perlu zat besi untuk berbagai fungsi seperti reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Enzim DNA topoisomerase sel bakteri tidak dapat terbentuk oleh kapasitas pengikatan besi yang kuat oleh tanin.⁴³

Senyawa metabolit sekunder terakhir yang dimiliki oleh kombinasi infusa umbi bawang dayak dan daun mangga bacang adalah saponin. Kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri merupakan mekanisme kerja dari saponin.⁽⁴⁴⁾ Saponin bersifat mirip detergen, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran sel. Rusaknya membran sel ini sangat

menganggu kelangsungan hidup bakteri.⁴⁵ Saponin masuk ke membran sel luar dan dinding sel bakteri rentan dengan cara difusi, kemudian saponin mengikat membran sitoplasam yang akan menganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma sel bakteri mengalami kebocoran hingga mengakibatkan kematian sel.⁴⁶

Pada kombinasi infusa umbi bawang dayak dan daun mangga bacang terdapat beberapa metabolit sekunder dan metabolit sekunder ini berasal dari kedua jenis tanaman uji. Berbagai metabolit sekunder yang terdapat di dalam kedua tanaman uji memiliki aktivitas antibakteri dengan berbagai mekanisme kerja yang bekerja secara sinergis untuk menghambat pertumbuhan bakteri.⁴⁷ Sinergisitas merupakan aksi individual dari komponen yang berbeda yang terdapat dalam kombinasi infusa tersebut. Efikasi dari kombinasi infusa herbal yang digunakan dalam pengobatan disebabkan adanya sinergisitas antara senyawa aktif yang terdapat dalam kombinasi infusa tersebut. Sinergisitas memberikan aktivitas lebih baik serta mencegah terjadinya resistensi obat.⁴⁸

KESIMPULAN

Kandungan metabolit sekunder kombinasi infusa umbi bawang dayak dan daun mangga bacang adalah flavonoid, tanin, saponin dan kuin. Kombinasi infusa larutan uji dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* namun tidak signifikan. Konsentrasi 100% kombinasi infusa larutan uji dapat menghasilkan rata – rata diameter zona hambat maksimal sebesar $11,55 \text{ mm} \pm 0,34$ dan konsentrasi 25% kombinasi infusa larutan uji dapat menghasilkan rata – rata diameter zona hambat minimum sebesar $5,56 \text{ mm} \pm 3,74$. Apabila konsentrasi 100% kombinasi larutan uji dibandingkan dengan doksisiklin 30 μg maka doksisiklin jauh lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 100%. Perlu dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan teknik ekstraksi lainnya dan dengan pelarut yang lebih bersifat non-polar.

DAFTAR PUSTAKA

1. David MZ and Daum RS. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* : Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010; 23(3): 616. doi: 10.1128/CMR.00081-09.
2. Sulistyaningsih. Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA). (Tesis). Bandung: Universitas Padjajaran; 2010. P.2.
3. Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. Senyawa Antimikroba. Dalam: Chamber HF editor, Senyawa Antimikroba (Lanjutan): Inhibitor Sintesis Protein dan Berbagai Senyawa Antibakteri. Dalam: Chambers HF editor. Goodman and Gilman Dasar Farmakologi Terapi vol. 2 ed. 10. Terj. Sekolah farmasi ITB. Jakarta: EGC; 2008. p. 1117-8, 1133, 1215-20.
4. Dalhoff K dan Ewig S: Clinical Practice Guideline: Adult Patients With Nosocomial Pneumonia. *Dtsch Arztebl Int.* 2013; 110(38): 634-40.
5. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Dellinger EP, Goldstein EJ dan Gorbach SL. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Skin and Soft Tissue Infections: 2014 Update by the Infectious Diseases Society of America. IDSA Practice Guidelines for SSTIs. *CID.* 2014: 1-43.
6. Coates A, Hu Y, Bax R, Page C. The Future Challenges Facing The Developement of New Antimicrobial Drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2002; 1: 895-910.
7. Vashist H, Jindal A. Antimicrobial Activities of Medicinal Plants – Review. *Int J Res Pharma Biomed Sci.* 2012; 3: 222-30.
8. Chansukh K, Charoensup R, Palanuvej C dan Ruangrungsi N. Antimicrobial Activities of Selected Thai Medicinal Plants Bearing Quinonoids. *RJPBCS.* 2014; 5(2): 425-32.

9. Purwaningsih E, Hanani E, Arnalia P, Krisnamurti D. Efek Kelasi Ekstrak Air *Mangifera foetida* pada Serum Penderita Talesemia. *J. Indon Med Assoc.* 2011; 61(8): 321-5.
10. Soetarno S, Soediro I, Padmawinata K. Isolasi dan Karakterisasi Mangiferin dari Daun Mangga Arumanis dan Perbandingan Kadarnya pada Daun Tujuh Kultivar *Mangifera Indica* L. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 1991; 16: 126-35.
11. Doughari J and Manzara S. In Vitro Antibacterial Activity of Crude Leaf Extracts of *Mangifera indica* Linn, *African Journal of Microbiology Research*. 2008; 2(1): 67-72.
12. Neogen Corporation. Maniol Salt Agar (7143). Acumedia Manufacturers. 2011; Rev 6.
13. Poeloengan M, Chairul, Salmah S, Komala I dan Susan MN. Aktivitas Antimikroba dan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Obat. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 2006: 975.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24 [ISBN 1-56238-898-3]. Wayne. PA: CLSI. 2014; 34(1): 27-30, 68-75, 77 p.
15. Aziz S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Umbi Bakung Putih (*Crinum asiaticum* L.) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2010; 21(3): 249-54.
16. 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.
17. Septian R. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Buah Mangga (*Garcinia mangostana* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada Agar Muller Hinton [Skripsi]. Jakarta: FKUI. 2013.
18. Davis WW and Stout TR. Disc Plate Method of Microbiological

- Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 1971; 22(4): 666-70.
19. Markham KR. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Divisi Kimia Departemen Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Industri. Petone Selandia Baru. Bandung: Penerbit ITB.1988
 20. Kuntorini EM. Kemampuan Antioksidan Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana Merr*) pada Umur Berbeda. Prosiding seminar SEMIRATA FMIPA UNILA, 2013: 297-301.
 21. Departemen Kesehatan Republik Indonesia (DEPKES RI). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta : DEPKES RI; 2000. p. 5, 9-12.
 22. Pelczar JM, Chan ECS. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Cetakan I. Jakarta: Penerbit UI Press; 1988.
 23. Fardiaz S. Analisis Mikrobiologi Pangan. Jakarta: PT Prasindo Persada; 1993.
 24. Brückler J, Schwarz S, Untermann F. Staphylokokken-infektionen und-enterotoxine,band. II/1, In: Blobel, H. und Schlie Ber (Eds.),Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, 2. Auflage. Stuttgart: Gustav Fischer Verl ag Jena; 1994.
 25. Lay B. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada; 1994.
 26. Boyd R, Morr J. Medical Microbiology. Boston: Little, Brown and Company Boston; 1984.
 27. Austin TX. Manitol Salt Agar. Austin Community College District [Halaman Beranda terdapat di internet]. 2010 [Diakses pada 6 Juli 2015]. Tersedia dalam http://www.austinc.edu/microbugz/html/mannitol_salt_agar.html.
 28. Rijayanti RP, Luliana S, Trianto HF. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK*

- Untan.* 2014; 1(1): 2-17.
29. Merza V, Suryanto D, Nasution M. Skrining Fitokimia dan Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* Merr). Dalam Hutahean S, Ilyas S, Rahayu S, Berliani K, editors. *Prosiding Seminar Nasional Biologi: Meningkatkan Peran Biologi Dalam Mewujudkan Nasional Achievement With Global Reach.* Medan: USU Press, 2011: 1-892.
 30. Galingging RY. Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) sebagai Tanaman Obat Multifungsi. *Warta Penelitian dan Pengembangan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.* 2009; 15(3): 10-6.
 31. Nur AM. Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, Pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor. 2011.
 32. Ifesan BOT, Hamtasin C, Mahabusarakam W dan Voravuthikunchai SP. Inhibitory Effect of *Eleutherine americana* Merr. Extract on *Staphylococcus aureus* Isolated From Food. *Journal of Food Science.* 2009; 74(1): M31-M36.
 33. Ifesan BO, Ibrahim D, Voravuthikunchai SP. Antimicrobial Activity of Crude Ethanolic Extract From *Eleutherine americana*. *J of Food, Agricl & Enviro.* 2010; 8(3&4): 1233-36.
 34. Cushnie T, Lamb A. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2005; 26: 343–56.
 35. Mori A, Nishino C, Enoki N, Tawata S. Antibacterial Activity and Mode of Action of Plant Flavonoids Against *Proteus Vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry.* 1987; 26: 2231–4.
 36. Ohemeng K, Schwender C, Fu K, Barrett J. DNA Gyrase Inhibitory and Antibacterial Activity of Some Flavones. *Bioorg Med Chem Lett.* 1993; 3: 225–30.
 37. Hilliard J, Krause H, Bernstein J, Fernandez J, Nguyen V, Ohemeng K

- et al.* A Comparison of Active Site Binding of 4-Quinolones and Novel Flavone Gyrase Inhibitors to DNA Gyrase. *Adv Exp Med Biol.* 1995; 390: 59–69.
38. Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Solmajer T, Jerala R. Characterization of Quercetin Binding Site on DNA Gyrase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 306: 530–6.
39. Tsuchiya H, Iinuma M. Reduction of Membrane Fluidity by Antibacterial Sophoraflavanone G Isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine.* 2000; 7: 161–5.
40. Haraguchi H, Tanimoto K, Tamura Y, Mizutani K, Kinoshita T. Mode of Antibacterial Action of Retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry.* 1998; 48: 125–9.
41. Nuria MC, Falzaitun A, Sumantri, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro.* 2009; 5(2): 26–37.
42. Sari F, SM S. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Semarang: Universitas Diponegoro; 2011.
43. Akiyama H, Fujii O, Yamasaki T, Iwatsuki K. Antibacterial Action of Several Tannin against *Staphylococcus aureus*. *Journal of antimicrobial Chemotherapy.* 2001; 48: 487-91.
44. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2013; 5(4): 679-84.
45. Harbrone J. Metode Fitokimia Edisi II Bandung: Penerbit ITB; 2006.
46. Cavalieri S, Rankin I, Harbeck R, Sautter R, McCarter Y, Sharp S *et al.* Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. USA: American Society for Microbiology; 2005.

47. Poongothai, P dan Rajan,S. Antibacterial Properties of *Mangifera indica* Flower Extracts on Uropatogenic Escherichia coli. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 2013; 2(12): 104-11.
48. Hemani. Pengembangan Biofarmaka sebagai Obat Herbal untuk Kesehatan. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*. 2011; 7(1): 20-29.

Surat Keterangan Lulus Kaji Etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
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://kedokteran.untan.ac.id

No : 530 /UN22.9/DT/2015 30 Januari 2015
Hal : Keterangan Lulus Kaji Etik

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK **ETHICAL – CLEARANCE**

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:

Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (L.)Merr) dan Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro

Peneliti utama : **Angga Dominius**
Principal Researcher **111112063**

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

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

Ketua
Chairman



dr. Heru Fajar Trianto, M.Biomed
NIP. 19841013 200912 1 005

*Ethical-clearance berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan