

**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERIAL FRAKSI AKTIF DAUN MANGGA
(*Mangifera indica* L) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922 DAN *Salmonella typhi***

Sherli Mariance Sari

Program Studi ilmu keperawatan STIK Bina Husada Palembang

Jln. Syech Abdul Somad No 28 22 Ilir Palembang

Email: Ayi_ade@rocketmail.com

Abstrak

Penyakit diare infeksi yang banyak diderita masyarakat adalah infeksi disebabkan oleh bakteri *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia* dan *Salmonella*. Infeksi *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia* yang sering terjadi disebabkan *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri dari fraksi aktif daun mangga (*Mangifera indica* L) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratories secara *in vitro* rancangan *Post-test only group control designed*. Objek penelitian ini menggunakan biakan murni dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Diagnostik Klinik PT. Bio Farma Bandung. Parameter uji efektifitas dengan mengukur kadar hambat minimum dari fraksi daun mangga (*Mangifera indica* L). Hasil penelitian ini dianalisis dengan menggunakan SPSS versi 20. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun mangga (*Mangifera indica* L) aktif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi*. Memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) 125 µg/ml terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan 6,25 µg/ml untuk bakteri *Salmonella typhi*. Nilai kesetaraan fraksi etil 6,25 µg/ml etil asetat setara dengan 1,18 µg/ml *Cefixime* terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan 125 µg/ml etil asetat dengan 34,6 *cefixime* terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Hal ini menunjukkan bahwa *Cefixime* memiliki potensi yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi daun mangga dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan bakteri *Salmonella typhi*. Dapat disimpulkan bahwa fraksi Etil Asetat daun mangga (*Mangifera indica* L) aktif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan bakteri *Salmonella typhi*.

Kata kunci : Antibakteri, daun mangga (*Mangifera indica* L), Studi eksperimental, *in vitro*

PENDAHULUAN

Sampai saat ini penyakit diare masih menjadi masalah kesehatan dunia terutama di negara berkembang. Besarnya masalah tersebut terlihat dari tingginya angka kesakitan dan kematian akibat diare (Kumar dkk, 2007). Menurut data WHO pada tahun 2009, diare adalah penyebab kematian kedua pada anak dibawah 5 tahun. Secara global setiap tahunnya ada sekitar 2 miliar kasus diare dengan angka kematian 1.5 juta pertahun. Pada negara berkembang, anak-anak usia dibawah 3 tahun rata-rata mengalami 3 episode diare pertahun. Data statistik menunjukkan bahwa setiap tahun diare menyerang 50 juta penduduk di Indonesia dua pertiganya balita meninggal 600.000 jiwa (Pickering dkk, 2004). Di Provinsi Sumatera Selatan angka kesakitan diare khususnya di Palembang pada tahun 2008-2012 mengalami peningkatan dari 53.854 kasus menjadi 57.576 kasus (Pemerintah Kota Palembang, 2013).

Penyebab diare adalah multifaktorial, sebagian besar disebabkan oleh infeksi oleh karena itu diare termasuk ke dalam kategori penyakit menular diare dapat disebabkan oleh virus, bakteri, amuba atau jamur (Kemkes, 2010). Penyakit diare infeksi yang banyak diderita masyarakat adalah infeksi oleh bakteri *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia* dan *Salmonella*. Infeksi *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia* yang sering terjadi, yaitu *Escherichia coli* (Eva, 2009). *E. coli* sering dihubungkan dengan tipe penyakit usus (diare) pada manusia baik yang akut maupun kronis (Brooks dkk, 2001).

Produk utama dari tanaman mangga adalah buahnya yang biasanya dikonsumsi dalam bentuk segar maupun berbagai produk olahannya. Tetapi selain buah, komponen lainnya yang juga berperan penting adalah daun mangga yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif. Ekstrak daun mangga dilaporkan memiliki kandungan *alkaloid*, senyawa *fenolik*, *saponin*, *kaumarin*, *tanin*, *flavonoid*, *triterpenoid*, *steroid* dan *glikosid* dan juga *mangiferin* yang berfungsi sebagai senyawa *antimikrobia* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Aspergillus spp*, *Penicillium spp*, *Staphylococcus Aureus* (Angellia, 2013)

Harborne (1987) mengatakan bahwa tanin yang terkandung dalam ekstrak akan mengganggu sel pada bakteri patogen dalam penyerapan protein oleh cairan sel, hal ini dapat terjadi karena tanin dapat menghambat *proteolitik* yang berperan menguraikan protein asam amino. Secara medis tanin digunakan sebagai komponen antidiare, hemostatik, dan antihermoroidal. Tanin sebagai antibakteri menurut Naim (2004) berhubungan dalam kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesi sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin yang mempunyai target polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan dinding sel karena tanin merupakan senyawa fenol.

Senyawa fenol dan turunannya flavonoid merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membrane sitoplasma sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membrane sitoplasma dan mengendapkan protein sel (Volk, 1993).

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratories secara *in vitro* rancangan *Post-test only group control designed* untuk menguji efektivitas antibakteri fraksi aktif daun mangga (*Mangifera indica* L) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bersama Program Pascasarjana Universitas Sriwijaya Palembang.

Bahan dan Objek Penelitian

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman daun mangga (*Mangifera indica* L) yang diperoleh dari Kelurahan Margamulya Kota Lubuklinggau, Sumatera Selatan.

Objek Penelitian

Objek penelitian ini menggunakan biakan murni dari bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Diagnostik Klinik PT. Bio Farma Bandung.

Besar Sampel

Pada penelitian ini kelompok perlakuan adalah konsentrasi pelarut dalam enam gradien konsentrasi. Untuk memenuhi sampel 30, maka dilakukan pengulangan 5 kali.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Maserator, kromatografi cair vakum (KCV), spektrofotometer, autoklaf, timbangan analitik, lampu bunsen, blender, oven, labu erlenmeyer, beker glass, botol flacon, inkubator, cawan petri, erlenmeyer, jarum ose, tabung reaksi, mikropipet, pipet tetes, magnetic stirrer, penangas air, alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi* alkohol 70 %, simplisia Biji Pepaya, nutrisi agar (NA), nutrient broth (NB), aquadest, kertas cakram 6 mm, kertas label, kertas saring, pelarut N-heksan, etilasetat, Metanol, metilenklorida, Plat silika gel GF 254, Serbuk silika Gel-60 (0,063-0,200), dimetilsulfoksida (DMSO).

Prosedur Kerja

Sampel Daun Mangga (*Mangifera indica* L).

Pada penelitian ini akan mengambil tumbuhan daun mangga yang berasal dari kota Palembang. Bagian tumbuhan yang akan diambil adalah bagian daun yang muda. Daun dibersihkan dari kotoran yang menempel lalu dikeringkan yang selanjutnya akan dibuat untuk pembuatan ekstrak daun mangga (*Mangifera indica* L).

Ekstraksi Serbuk Simplisia Metode Maserasi

Pembuatan ekstrak daun mangga dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut methanol 250 gr daun mangga (*Mangifera indica* L) yang telah dikeringkan dibalander sampai halus sehingga menjadi serbuk kering bersamaan dengan metanol kemudian didiamkan selama 24 jam ditempat yang terlindung dari cahaya langsung (untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya/perubahan warna). Selanjutnya disaring yang didapat lalu diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu pada pemanas water bath 70⁰C sehingga didapatkan ekstrak metanol kental dari daun mangga tersebut.

Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi dilakukan dengan metode FCC (Fraksinasi Cair-Cair) dengan pelarut n-heksan, etilasetat, metanol secara sinambung dengan sifat kepolaran pelarut yang berbeda-beda. Fraksinasi dilakukan sebagai berikut: Ekstrak metanol dilarutkan dalam metanol dan air dengan perbandingan 3:7 yaitu (450 ml ekstrak methanol: 1050 ml methanol air) sehingga didapatkan sebanyak 1500 ml. Selanjutnya dimasukkan kedalam labu pisah, ditambahkan 4 x 250 ml n-heksan, dikocok secara perlahan setelah didiamkan terjadi pemisahan antara fraksi n-heksan dan metanol-air. Fraksi n-heksan dipisahkan, kemudian diulangi beberapa kali sampai larutan berwarna bening. Fraksinasi dilanjutkan menggunakan etilasetat dengan proses yang sama dengan n-heksan. Fraksi n-heksan cair, fraksi etilasetat cair dan fraksi metanol-air diuapkan dengan alat vakum putar, sehingga diperoleh fraksi kental. Fraksi kental diuapkan dengan penangas air sampai diperoleh fraksi kering. Ketiga fraksi yang diperoleh diujikan Efektivitas antibakterinya (Salni, 2011).

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Bubuk NA dimasukkan kedalam *erlenmayer* masing-masing sebanyak 14 gr, masing-masing dilarutkan dengan menambahkan 500 ml aquadest, kemudian dipanaskan hingga mendidih diatas penangas listrik sambil dihomogenkan. Setelah itu medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰C dengan tekanan 15 Ibs selama 15 menit (Oxoid, 1998).

Peremajaan kultur bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*

Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* sebanyak 1 ose diinokulasikan kedalam media agar miring NA secara aseptis dengan meletakkan jarum ose mengandung biakan pada dasar kemiringan agar ditarik dengan gerakan zig-zag lalu diinkubasi pada suhu 37,5⁰C selama 24 jam (Lay, 1994).

Uji Efektivitas Antibakteri

Uji Efektivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* dengan metode difusi agar, sebagai berikut: bakteri uji diinokulasikan kedalam media NB (Nutrient Borth) sebanyak 3 jarum ose, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Suspensi bakteri hasil inkubasi dikocok dengan alat pemutar kemudian diukur transmittannya (T) pada panjang gelombang 580 nm, Transmittan diatur sebesar 25% dengan cara penambahan bakteri bila jumlah selnya terlalu sedikit

atau medium cair apabila jumlah selnya terlalu banyak. Suspensi bakteri transmittan (T) 25% dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 0,1 mL, kemudian ditambah medium NA (Nutrient Agar) 10 mL yang belum membeku, dengan suhu sekitar 40°C. Selanjutnya digoyang-goyang sampai membeku. Kedalam medium yang berisi bakteri dimasukkan kertas cakram 6 mm dan ditetesi dengan larutan fraksi 10 µL dengan konsentrasi 4000 µg/ml. Fraksi dilarutkan dalam DMSO (dimetilsulfoksida). Setelah disimpan selama 24 jam pada suhu 37°C diukur diameter zona hambatan yang terbentuk (Salni, 2011).

Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan nilai KHM dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram dengan diameter 6 mm. Prosedur kerja penentuan KHM adalah sebagai berikut: fraksi aktif dibuat dengan konsentrasi 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml. Pelarut digunakan adalah Dimetilsulfoksida (DMSO). Suspensi bakteri dengan transmittan 25% pada panjang gelombang 580 nm dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 0,1 mL. Kemudian ditambahkan medium NA 10 mL yang belum membeku, cawan petri digoyang-goyang sampai membeku. Kemudian medium dimasukkan kertas cakram berdiameter 6 mm dan ditetesi konsentrasi fraksi 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37 °C diukur diameter hambat yang terbentuk (Salni, 2011)

Uji bioautografi

Uji bioautografi dilakukan untuk mengetahui harga R_f senyawa aktif antibakteri dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Prosedur uji bioautografi adalah sebagai berikut: fraksi aktif dengan konsentrasi 1% ditotolkan pada plat silika gel GF254, kemudian dikembangkan dengan fase gerak yang sesuai untuk pemisahan senyawa-senyawa yang terdapat dalam fraksi. Kromatogram diletakkan dalam cawan petri yang telah berisi biakkan bakteri, bercak-bercak pada kromatogram dicitrak ke cawan petri, kromatogram dibiarkan menempel pada medium agar selama 30 menit supaya senyawa aktif berdifusi kedalam medium agar, kemudian diangkat dengan hati-hati. Setelah 24 jam diinkubasi dapat dilihat bercak atau daerah yang berwarna bening merupakan daerah senyawa aktif berada

Uji kesetaraan Fraksi Aktif Dengan Antibiotik *Cefixime*

Uji kesetaraan fraksi aktif dengan antibiotik *cefixime* dilakukan dengan cara memasukan data diameter hambat kedalam kurva standar *cefixime*. Untuk menentukan diameter hambat *Cefixime* dibuat larutan dengan konsentrasi, 500 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml, 0 µg/ml. Larutan ini diujikan terhadap pertumbuhan koloni bakteri dengan metode difusi agar dan dibuat kurva standar antara diameter hambat dengan log konsentrasi *cefixime*

Analisis Data

Data yang diperoleh merupakan hasil pengamatan secara laborotorium yang selanjutnya akan dianalisis dengan menggunakan uji *t-Test*. Kemudian dianalisisi varians (UJI ANOVA) dan di lanjutkan dengan *post hoc test*. Dengan program SPSS versi 20 yang digunakan untuk melihat perbedaan pengaruh masing-masing perlakuan dan penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum. Kemudian dilakukan korelasi regresi untuk menentukan kesetaraan dari fraksi aktif daun mangga terhadap *cefixime*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun mangga (*Mangifera Indica L*)

Tabel 1

No	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Persen Berat(%)
1	250	56	20

Pada Tabel dapat dilihat bahwa dari 250 g simplisia Daun mangga (*Mangifera Indica L*) dihasilkan sebanyak 56 g ekstrak yakni 20% dari jumlah simplisia. Pelarut methanol yang di gunakan pada proses maserasi dapat melarutkan senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam simplisia. Pelarut ethanol bersifat mampu melarutkan hampir semua komponen baik yang bersifat polar, semi polar maupun non polar (Harborne, 1987). Mekanisme kerja pelarut ethanol akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel maka larutan yang terpekat akan didesak keluar, keuntungan cara ekstraksi ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan dapat menghindari rusaknya komponen senyawa akibat panas (Ahmad, 2006)

Fraksinasi Ekstrak Daun mangga (*Mangifera indica L*)

Tabel 2

No	Pelarut	Berat Fraksi (g)	Persen berat (%)
1	n-heksan	21	37
2	etil asetat	9	16
3	metanol air	26	47
Total		56	100

Pada Tabel dapat dilihat bahwa hasil fraksinasi ekstrak Daun mangga (*Mangifera Indica L*) dengan pelarut metanol air memiliki berat yang lebih besar dibandingkan dengan n-heksan dan etil asetat. Pelarut tersebut mempunyai kemampuan memisahkan senyawa dalam ekstrak berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi Cair-Cair (FCC) merupakan cara fraksinasi sederhana dan umum dilakukan. Mekanisme kerja FCC melibatkan distribusi suatu zat terlarut (solut) diantara dua pelarut yang tidak bercampur. Solut akan terdistribusi dengan sendirinya ke dalam masing-masing pelarut setelah dikocok dan dibiarkan terpisah (Salni, 2003).

Uji Sensitifitas Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi*

Tabel 3

No	Antibiotik	Diameter Hambat (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhi</i>
1	<i>Cefixime</i>	26	28

Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa *Cefixime* menghasilkan diameter hambatan terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 26 mm dan terhadap bakteri *Salmonella typhi* sebesar 28 mm. Bakteri yang digunakan masih sensitive sehingga dapat di gunakan untuk uji sensitifitas.

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan. Dalam penggolongannya antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Berbeda dengan antibiotik yang tidak merugikan sel-sel jaringan manusia, daya kerja antiseptik tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Namun pada dosis normal praktis tidak bersifat merangsang kulit. Antibiotik dapat dikelompokkan kedalam beberapa bagian, yaitu :

Berdasarkan struktur kimia antibiotik terbagi atas : a. Antibiotik -laktam, yang terdiri dari dua kelompok, yaitu kelompok *penisilin* (*ampisilin*, *amoksisilin* dan lain-lain) dan kelompok *sefalosporin* (*sefalotin*, *sefaliridin* *cefixime* dan lain-lain). berdasarkan mekanisme kerja, antibiotik dikelompokkan dalam lima kelompok, yaitu : a. Menghambat sintesis dinding sel bakteri sehingga menghilangkan kemampuan berkembang biak dan menimbulkan lisis. Contoh : *Penisilin* dan *Sefalosporin*. Berdasarkan daya kerja, antibiotik dibagi dalam dua kelompok, yaitu: a. Bakteriostatik, yaitu menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri. b. Bakterisid, yaitu membunuh bakteri secara langsung.

Berdasarkan spektrum kerja, antibiotik terbagi atas: Spektrum sempit, bekerja terhadap beberapa jenis bakteri saja. Contoh : *Penisilin* hanya bekerja terhadap bakteri gram positif dan gentamisin hanya bekerja terhadap bakteri gram negatif. Spektrum luas, bekerja terhadap lebih banyak bakteri, baik gram negatif maupun gram positif serta jamur. Contoh : *Tetrasiklin* dan *Kloramfenikol*. Sifat antibiotik sebaiknya menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen tanpa merusak inang, bersifat bakterisid, tidak menyebabkan resistensi pada kuman, tidak bersifat alergenik atau menimbulkan efek samping bila dipergunakan dalam jangka waktu yang lama, larut di dalam air serta stabil (Syahrurachman, 1994)

Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada kertas cakram yang dapat dilihat pada Gambar 1:



Gambar A



Gambar B

Gambar 4.1 Hasil Uji Sensitifitas dengan *Cefixime* pada Konsentrasi 1000 µg/m A. terhadap Bakteri *Escherichia coli* B. terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

Hasil uji sensitifitas menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Salmonella typhi* tersebut masih sensitif terhadap *Cefixime* sehingga dapat digunakan sebagai sampel penelitian.

Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun mangga (*Mangifera Indica L*)

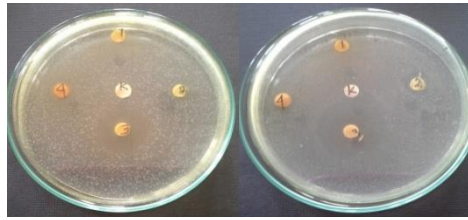
Uji Aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol air dilakukan dengan metode Difusi Agar untuk mengetahui dalam fraksi mana senyawa aktif berada. Konsentrasi fraksi yang digunakan adalah 4000 µg/ml dengan pelarut *Dimetilsulfoksida*. Hasil uji aktifitas antibakteri dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada:

No	Jenis pelarut	Diameter Hambat $\bar{x} \pm$ standar deviasi (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhi</i>
1	n-heksan	9,40 \pm 0,89	11,60 \pm 2,07
2	etil asetat	15,20 \pm 2,16	20,60 \pm 3,64
3	metanol air	-	-

Dari Tabel dapat dilihat bahwa fraksi n-heksan memiliki diameter hambat 9,40 mm dan 11,60 mm, fraksi etil asetat sebesar 15,20 mm dan 20,60 mm untuk masing-masing bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan bakteri *Salmonella typhi* sedangkan fraksi metanol air tidak memiliki diameter

hambat untuk kedua bakteri tersebut, ini menunjukkan bahwa dari ketiga fraksi didapatkan bahwa fraksi yang aktif adalah fraksi n-heksan dan etil asetat.

Hal ini juga terlihat dari terbentuknya zona hambat sebagaimana Gambar 2:



Gambar 2.

Dari hasil gambar pengukuran diameter hambat tersebut bahwa fraksi etil asetat lebih besar bila dibandingkan dengan n-heksana dan methanol air, ini menunjukkan bahwa etil asetat lebih aktif dibandingkan dengan n-heksana dan methanol air.

Bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negative struktur dinding sel bakteri gram negative lebih kompleks (Salni,2011) lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam), dan polisakarida (lapisan luar) yang bersifat nonpolar hal ini sesuai dengan pernyataan Davis dan Stout (1971) yang mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah.

Jawetz *et al.*, (1991) dalam Syarifah (2006) menjelaskan bahwa mekanisme yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri adalah kerusakan membran sel oleh zat aktif antibakteri. Kerusakan membran sel akan mengganggu integritas komponen-komponen seluler dan menyebabkan proses respirasi bakteri tidak terjadi. Pada akhirnya mengakibatkan tidak tercukupinya energi untuk transport aktif zat hara sehingga pertumbuhan bakteri terganggu.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi etil asetat.

Tabel 5

Konsentrasi Fraksi (µg/ml)	N	Diameter hambat (mm)	
		<i>Escherichia coli</i> $\bar{X} \pm sd$	<i>Salmonella typhi</i> $\bar{X} \pm sd$
2000	5	12,60 ± 0,55	15,00 ± 1,87
1000	5	11,60 ± 0,55	12,80 ± 0,83
500	5	10,60 ± 0,55	10,80 ± 0,44
250	5	8,60 ± 0,55	9,20 ± 0,83
125	5	7,20 ± 0,45	7,80 ± 1,09
62,5	5	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
31,25			

Dapat dilihat bahwa Fraksi etil asetat dengan konsentrasi 1000 µg/ml mempunyai diameter hambat terbesar yaitu 12,60 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Fraksi etil asetat dengan konsentrasi 2000 µg/ml mempunyai diameter hambat terbesar yaitu 15,00 mm terhadap bakteri *Salmonella typhi*, sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi etil asetat mempengaruhi diameter hambat,

semakin kecil konsentrasi maka semakin kecil diameter hambat. Hasil KHM fraksi etil asetat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Salmonella typhi*

Daya bunuh (bakterisidal) dapat diketahui melalui uji MBC (Minimum Bakterisidal Concentration) dengan mengamati adanya pertumbuhan koloni pada media setelah inkubasi pada suhu kamar di laminar flow selama 24 jam. bersifat bakteriostatik yaitu terlihat adanya pertumbuhan bakteri pada media. Gillespie (1994) menyatakan bahwa zat antibakteri bersifat bakterisidal ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media agar. Pelczar dan Chan (1988) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan maka akan semakin cepat bakteri yang terbunuh.

Konsentrasi fraksi etil asetat terkecil yang masih menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah 62,5 µg/ml dengan diameter hambat 7,20 mm, konsentrasi ini dinyatakan sebagai nilai KHM. Konsentrasi fraksi etil asetat terkecil yang masih menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* adalah 125 µg/ml dengan diameter hambat 7,80 mm konsentrasi ini dinyatakan sebagai nilai KHM.

Nilai KHM fraksi 62,5 µg/ml termasuk kategori cukup kuat sesuai dengan pendapat Holetz *et al.*, (2002) bahwa berdasarkan nilai KHM, kekuatan aktifitas antibakteri dibedakan menjadi empat, yakni sangat kuat jika KHM kurang dari 100 µg/ml, cukup kuat jika KHM 100-500 µg/ml, lemah jika KHM 500-1000 µg/ml, tidak memiliki aktifitas antibakteri jika KHM lebih dari 1000 µg/ml. Aktifitas antibakteri dari masing-masing fraksi dengan berbagai

Nilai KHM dari fraksi etil asetat tumbuhan daun mangga lebih aktif dibandingkan dengan KHM dari beberapa peneliti, Sari (2013) uji aktivitas fraksi aktif daun burung di dapat nilai KHM 250 µg/ml untuk bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Sasono (2013) aktivitas fraksi aktif biji papaya dengan nilai KHM 250 µg/ml.

Hal ini sesuai dengan pendapat Volk & Wheeler (1993) dalam Harborne, J.B (1996) bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi aktifitas zat antimikroba adalah konsentrasi yang terkandung dalam zat tersebut. Sama halnya dengan pendapat Pelczar & Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi maka sifat antimikrobanya juga semakin kuat. Namun demikian diameter zona hambat bukan merupakan indikasi mutlak dalam menilai efektifitas antibakteri dari suatu bahan uji karena diameter zona hambat yang terbentuk tidak hanya tergantung dari toksisitas bahan uji namun ditentukan pula oleh beberapa faktor lainnya yaitu kemampuan dan kecepatan difusi dari bahan uji pada media, interaksi antar komponen pada media serta kondisi lingkungan *in vitro*.

Tinggi rendahnya aktifitas antibakteri memang dapat dilihat dengan mengetahui besar kecilnya diameter zona hambat namun kekuatan aktifitas antibakteri lebih ditentukan oleh nilai KHM karena KHM menunjukkan kemampuan bakterisidal suatu zat antibakteri dalam konsentrasi minimalnya, sedangkan penilaian berdasarkan zona hambat hanya menggambarkan kekuatan daya hambat suatu zat antibakteri tanpa menggambarkan konsentrasi minimal suatu zat antibakteri untuk memberikan efek bakterisidal (Syarifah, 2006).

Perbandingan aktivitas fraksi dengan berbagai konsentrasi

Untuk mengetahui perbandingan rerata Diameter Hambat Fraksi etil asetat Daun mangga (*Mangifera indica L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan bakteri *Salmonella typhi* pada berbagai konsentrasi bahwa dosis efektif untuk fraksi etil asetat baik terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada konsentrasi 62,5 µg/ml dan pada bakteri *Salmonella typhi* terdapat pada konsentrasi 250 µg/ml. Dari data diatas di dapat bahwa semakin tinggi konsentrasi ada perbedaan bermakna untuk fraksi aktif etil asetat daun mangga, dari beberapa peneliti yang

dilakukan sari (2013) uji aktifitas daun burung di dapat hasil ada perbedaaan yang berpengaruh terhadap rerata diameter hambat dari tiap konsentrasi

Uji Kesesuaian Dosis Fraksi etil asetat berbanding Cefixime terhadap bakteri

Untuk mendapatkan nilai efektifitas fraksi maka analisa data selanjutnya dibandingkan dengan obat Cefixime. Berdasarkan uji statistik *oneway anova* didapatkan *p value* = 0,000 yang artinya ada perbedaaan yang berpengaruh terhadap rerata diameter hambat dari tiap konsentrasi, karena variansi data homogen maka dilanjutkan analisis dengan menggunakan uji *Post Hoc Bonferroni* untuk melihat besarnya pengaruh tiap konsentrasi terhadap diameter hambat yang dibandingkan dengan Cefixime dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6

Konsentrasi µg/ml	Konsentrasi µg/ml	<i>p value</i>
2000	1000	0,043
	500	0,000
	250	0,000
	125	0,000
	1000 *	0,000
1000	500	0,090
	250	0,000
	125	0,000
	1000 *	0,000
500	250	0,358
	125	0,002
	1000 *	0,000
250	125	0,681
	1000 *	0,000
125	1000 *	0,000

Dari Tabel 6 dapat disimpulkan bahwa Cefixime berpotensi lebih efektif bila dibandingkan dengan fraksi etil asetat baik terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 maupun bakteri *Salmonella typhi* dengan *p value* < 0,05. Hal ini dapat dipahami karena Cefixime memiliki spectrum lebih luas terhadap bakteri gram negatif terutama *enterobacteriaceae* (Sulistia, 2008). Sehingga perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan aktivitas fraksi Daun mangga (*Mangifera indica L*), salah satunya dengan jalan isolasi senyawa aktif dari larutan uji. Isolasi senyawa aktif akan menghasilkan senyawa yang lebih spesifik sehingga aktifitasnya akan lebih spesifik karena tidak ada lagi senyawa-senyawa lain yang bisa mengganggu aktifitas antibakteri dalam larutan uji.

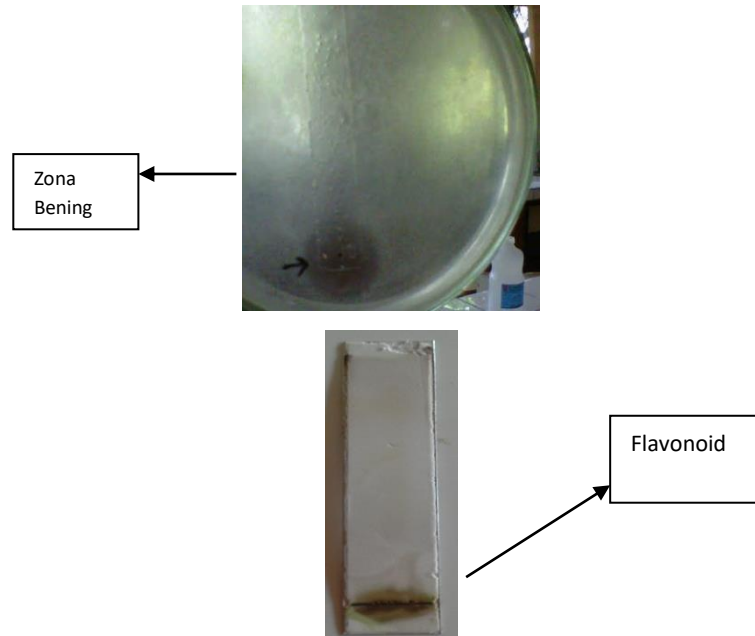
Setelah uji *Anova* maka dilakukan uji *Pearson Correlation* untuk melihat hubungan antara besar konsentrasi masing-masing fraksi dan besarnya diameter hambat yang terbentuk dimana didapat besarnya hubungan (R) untuk fraksi etil asetat = 0,825 dengan masing-masing *p value* = 0,000 terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan besarnya hubungan (R) untuk fraksi etil asetat = 0,782 dengan masing-masing *p value* = 0,000 terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa masing-masing fraksi memiliki nilai korelasi (+), hal ini menunjukkan bahwa hubungan tersebut berbanding lurus, yakni semakin besar konsentrasi fraksi etil asetat Daun mangga (*Mangifera indica L*) maka semakin besar pula diameter hambat yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Salmonella typhi* dan sebaliknya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa memang ada pengaruh antara fraksi aktif dari Daun mangga (*Mangifera indica L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan bakteri *Salmonella typhi*.

Uji Bioautografi dan Penentuan Golongan Senyawa Aktif

Tabel 7

Uji Bioautografi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

No	Jenis Fraksi	Eluen	Rf	Warna	Senyawa Aktif
1	etil asetat	n-heksan: etil asetat (8:2)	0	Kuning	Flavonoid



Pada table 4.12 dapat dilihat senyawa aktif yang didapat adalah flavonoid dengan nilai Rf 0,16. Pada bioautografi terlebih dahulu dilakukan uji KLT dengan meneteskan fraksi etil pada lembar kromatogram lalu diletakkan di dalam wadah berisi eluen. Hasilnya berbentuk bercak bahan bioaktif. Kemudian salah satu kromatograf disemprot dengan H₂SO₄ 50% dan terbentuklah warna kuning. Kromatograf satunya diletakkan di cawan petri yang berisi biakan bakteri dibiarkan selama 1 jam agar bahan bioaktif etil asetat berdifusi ke dalam agar. Setelah itu kromatograf diangkat dari cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam dapat terlihat zona bening yang merupakan daerah aktif kemudian dihitung nilai Rf nya nilai Retondasi Faktor dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal}}$$

$$= \frac{0 \text{ mm}}{60 \text{ mm}} = 0$$

Nilai Rf menunjukkan jenis senyawa yang diperoleh. Setiap senyawa mempunyai nilai Rf masing-masing. Nilai Rf dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal. Bilangan Rf selalu lebih kecil dari 1,0. Metode KLT cocok untuk analisis di laboratorium karena membutuhkan waktu yang singkat untuk menyelesaikan dan memerlukan jumlah cuplikan yang sangat sedikit (Stah, 1985) Menurut Harborne (1987) reagen H₂SO₄ biasanya digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, yang ditunjukkan dengan warna berupa bercak hijau, coklat, kuning, merah atau biru. Berdasarkan data di atas nampaknya penggunaan reagen H₂SO₄ memperkuat asumsi bahwa bercak senyawa yang terdeteksi adalah golongan flavonoid.

Dari hasil penelitian ini, didapatkan bahwa senyawa flavanoid yang terkandung dalam Daun mangga (*Mangifera indica L*) juga memiliki aktifitas anti bakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Salmonella typhi*.

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein, menjadi tidak stabil karena struktur protein sel bakteri menjadi rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonoid, sehingga protein sel bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya fungsi permeabilitas sel bakteri terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri (Harborne, 1987).

Uji aktivitas antibakteri terhadap Cefixime berbagai konsentrasi

Uji kesetaraan digunakan untuk mengetahui perbandingan fraksi aktif etil asetat dengan antibiotik *Cefixime*, untuk mengetahui kesetaraan fraksi dan antibiotik *Cefixime* terlebih dahulu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan *Cefixime* berbagai konsentrasi terhadap bakteri uji. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 7:

Tabel 7

Konsentrasi (µg/ml)	Konsentrasi (µg/cakram)	Log	Rerata diameter hambat	
			<i>Escherichia coli</i> x ±sd	<i>Salmonella typhi</i> x± sd
1000	10	1	25,40±0,55	27,40±0,55
500	5	0.699	23,40±0,55	23,80±1,09
100	1	0	19,40±0,55	19,80±0,83
50	0,5	-0.301	17,40±0,55	17,40±0,54
10	0,1	-1	9,40±0,55	9,60±0,54
1	0,01	-2	7,40±0,55	7,40±0,00

Uji kesetaraan fraksi aktif dengan *Cefixime* dilakukan dengan cara memasukan data diameter hambatan kedalam analisis regresi. Hasil analisis akan diperoleh suatu persamaan garis regresi. Nilai diameter hambat fraksi pada KHM, Nilai regresi *Cefixime*, Nilai konstanta regresi *Cefixime* dimasukkan dalam persamaan garis regresi sehingga diperoleh nilai kesetaraan.

Uji Kesetaraan Fraksi etil asetat Daun mangga (*Mangifera indica L*) dengan *Cefixime* terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Kesetaraan fraksi etil asetat dengan *Cefixime* didapatkan dengan memasukkan diameter hambat pada persamaan regesi yakni: $Y = 6,44724X + 18,38808$

Tabel 8

Konsentrasi Fraksi etil asetat (µg/ml)	Konsentrasi <i>Cefixime</i> (µg/ml)
6,25	1,18
5,29	1

Uji Kesetaraan Fraksi etil asetat Daun mangga (*Mangifera indica L*) dengan *Cefixime* terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

Kesetaraan fraksi etil asetat dengan *Cefixime* didapatkan dengan memasukkan diameter hambatan pada persamaan regresi yakni: $Y = 3,49510X + 9,43319$

Tabel 9

Konsentrasi Fraksi Etil asetat µg/ml	Konsentrasi <i>Cefixime</i> µg/ml
125	34,6
3,61	1

Uji kesetaraan digunakan untuk mengetahui perbandingan fraksi etil asetat dengan antibiotik *Cefixime*, untuk mengetahui kesetaraan fraksi dan antibiotik *Cefixime* dilakukan pengujian aktivitas antibakteri *cefixime*

Dari hasil perhitungan tersebut, dapat dilihat bahwa fraksi etil asetat 6,25 µg/ml setara dengan *Cefixime* 1,18 µg/ml bila diujikan dengan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sedangkan fraksi etil asetat 125 µg/ml setara dengan *Cefixime* 34,6 µg/ml bila diujikan dengan bakteri *Salmonella typhi*. Hal ini menunjukkan bahwa untuk mendapatkan dosis yang sesuai dengan *Cefixime* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan bakteri *Salmonella typhi* dibutuhkan jumlah fraksi yang lebih besar. Keadaan ini bisa disebabkan zat antibakteri yang diisolasi masih berupa fraksi meskipun masih dalam bentuk fraksi namun sudah menunjukkan aktifitas antibakteri yang positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan bakteri *Salmonella typhi*.

Cefixime adalah sefalosporin semi-sintetik generasi ketiga yang dapat diberikan secara oral. Selain *cefixime*, keluarga *sefalosporin* lain diantaranya *sefaleksin*, *cefactor*, *cefuroxime*, *cefpodoxime*, *cefprozil* dan lain-lain. (Arda, 2011). Mekanisme kerja: *Sefalosporin* yaitu dengan cara menghambat sintesa dinding sel bakteri, sehingga tanpa dinding sel, bakteri akan mati.

DAFTAR PUSTAKA

Arda Kartiawan, 2011. *Cefixime Antibiotik* <http://Apoteker Arofatt.com> diakses 1 Januari 2014 Pkl. 08.17 Pm

Brooks GF, Butel SJ, Morse AS. 2001. *Medical Microbiology*. International Edition. 22nd ed. McGraw-Hill. New York.

Dinas Kesehatan Kota Palembang. 2012. *Profil Kesehatan Kota Palembang*.

Dexa Medica, 2012, *Cefixime Antibiotik* <http://www.dechacare.com> diakses 1 Januari 2014 Pkl. 08.20 Pm

Hagerman, A.E, M.E. Rice and N.T. Richard. 1998. *Mechanism of Protein Precipitation for Two Tannins, Pentagalloyl Glucose and Apicatechin, Catechin, Procyandin*. Journal of Agri, Food Chem. Vol 46.

Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung.

Jawetz, E. J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J.S. Butel, and L.N. Ornston. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Jakarta: EGC.

Naim, R. 2004. *Senyawa Antimikroba dari tumbuhan*. FKH dan Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.

Nelson WE, Behrman RE, Kliegman R, Arvin AM. 2000. *Nelson Textbook of Pediatrics*, 15th ed. Jakarta: EGC.

Salni. 2011. *Senyawa Antibakteri Penginfeksi Kulit dari Karamunnting (*Rhodomirtus tomentosa* (*Ait*) Hassk). Dan Uji Efektivitas sediaan Salepnya*. Disertasi ITB. Bandung.

Seminar dan Workshop Nasional Keperawatan “Implikasi Perawatan Paliatif pada Bidang Kesehatan”

Wilson, S.G dan Dick, H.M. 1984. *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity*. 7th ed. London: Edward Arnold (Publishers) Ltd.

Zweig, Whitaker. *Bioautografi*. <http://anainformationcenter.com/2009/08/bioautografi.html> diakses, 2-1-2013