

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA KASTURI
(*Mangifera casturi* Kosterm) TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli ATCC 25922**



Oleh:

**H. Rahmad
19133853A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA KASTURI
(*Mangifera casturi* Kosterm) TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli ATCC 25922**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**H. Rahmad
19133853A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul:

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA KASTURI
(*Mangifera casturi* Kosterm) TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli ATCC 25922**

Oleh:

H. Rahmad
19133853A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 6 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. H. Sutari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Opstaria Saptarini, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.

Penguji :

1. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

1.

2. Dr. Supriyadi, M. Si.

2.

3. Ganet Eko Pramukantoro, M.Si., Apt.

3.

4. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt.

4.

PERSEMBAHAN

Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu

Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah

*Bacalah, dan Tuhanmulah yang maha mulia, Dia mengajar manusia dengan qalam, Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya
(QS: Al-'Alaq 1-5)*

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

- Allah SWT.
- Ayahanda H.Syahrudin, Ibunda Hj.Faridah, Adik ku tercinta H.Sufiani dan Siti Rahmah beserta Seluruh keluarga besarku yang selalu memberikan semangat, perhatian, doa dan dorongan.
- Amryna malahati yang selalu ada di saat susah maupun senang, memberikan semangat, perhatian, dan doa.
- Teman-teman tersayang Amryna malahati, Didik, Rudi, Githa fahma, Andri adi pradana, Imam asrofi, Gus adi santikara, indra fatur firmansyah, Santus, Wulan, Uum, Nora dan teman teman dari TEORI 3, FKK 3 angkatan 2013 terima kasih untuk bantuannya dan dukungannya.
- Agama, Almamater, Bangsa dan Negara.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 6 Juni 2017



H. Rahmad

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul: **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Program Studi Ilmu Farmasi pada Universitas Setia Budi.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat bimbingan, bantuan dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., Apt., Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini
3. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk, bimbingan dan arahan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan petunjuk, bimbingan dan arahan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Terima kasih kepada seluruh dosen penguji yaitu Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt. Dr. Supriyadi, M. Si. Ganet Eko Pramukantoro, M.Si., Apt. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt.
6. Seluruh dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi atas bantuannya selama penulis menempuh skripsi dan studi.
7. Kepada orang tua ku tercinta yang selalu memberikan motivasi, doanya dalam pembuatan skripsi ini.
8. Seluruh rekan mahasiswa Universitas Setia budi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna karena keterbatasan kemampuan penulis, oleh sebab itu kritik dan saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Selamat membaca dan semoga bermanfaat. Amin

Surakarta, 6 Juni 2017

H.Rahmad

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
 BAB I PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Masalah	3
D. Kegunaan Penelitian	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 5
A. Tanaman Mangga Kasturi	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Deskripsi tanaman	5
3. Waktu panen.....	6
4. Khasiat tanaman mangga kasturi.....	7
5. Kandungan kimia	7
5.1Flavonoid.....	8
5.2 Tanin.....	8
5.3 Saponin.....	8
5.4 Triterpenoid	8
B. Simplisia	9
1. Pengertian simplisia	9
2. Pencucian simplisiadan pengeringan.....	9
C. Metode penyarian	10

1. Ekstraksi	10
2. Maserasi.....	10
3. Soxhletasi	10
4. Perkolasi	11
5. Destilasi	11
6. Fraksinasi.....	12
7. Cairan penyari untuk ekstraksi	12
8.1 <i>n</i> -heksan.....	12
8.2 Etil asetat	13
8.3 Air.....	13
D. Media.....	13
1. Macam-macam bentuk media	13
1.1 Media padat.....	13
1.2 Media setengah padat.....	14
1.3 Media cair	14
2. Klasifikasi media	14
2.1 Media sintetik.....	14
2.2 Media kompleks.....	14
2.3 Media anaerob.....	14
2.4 Media biakan khusus.....	14
2.5 Media selektif dan diferensial	15
2.6 Media pengayaan	15
E. Sterilisasi	15
F. Diare	16
G. <i>Escherichia coli</i>	17
1. Sistematika <i>Escherichia coli</i>	17
2. Morfologi dan sifat.....	17
3. Toksin <i>Escherichia coli</i>	18
3.1 Enterotoksigenik <i>Escherichia coli</i> (ETEC).	18
3.2 Enteroinvasif <i>Escherichia coli</i> (EIEC).	18
3.3 Enteropatogenik <i>Escherichia coli</i> (EPEC).....	18
3.4 Enterohemoragik <i>Escherichia coli</i> (EHEC).....	18
4. Patogenesis	19
H. Antibakteri.....	19
1. Mekanisme antibakteri	20
1.1 Menghambat metabolisme sel mikroba.....	20
1.2 Menghambat sintesis dinding sel mikroba	21
1.3 Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba	21
1.4 Meghambat sintesis protein sel mikroba	21
1.5 Merusak asam nukleat sel mikroba	21
I. Uji Aktivitas Antibakteri	21
J. Kotrimoksazol	23
K. Landasan Teori	24
L. Hipotesis	26

BAB III METODE PENELITIAN	27
A. Populasi dan Sampel.....	27
1. Populasi	27
2. Sampel	27
B. Variabel Penelitian	27
1. Identifikasi variabel utama	27
2. Klasifikasi variabel utama	27
3. Definisi operasional variabel utama	28
C. Alat dan Bahan	29
1. Alat	29
2. Bahan	29
D. Jalannya Penelitian	30
1. Determinasi tanaman	30
2. Penyiapan serbuk.....	30
3. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi	30
4. Penyiapan ekstrak metanol daun mangga kasturi.....	30
5. Uji bebas metanol ekstrak daun mangga kasturi	31
6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun mangga kasturi.....	31
6.1 Flavonoid	31
6.2 Triterfenoid	31
6.3 Tanin	31
6.4 Saponin	31
7. Fraksinasi dari ekstrak metanol daun mangga kasturi.....	32
8. Sterilisasi	32
9. Pembuatan suspensi bakteri uji	32
10. Identifikasi bakteri uji	33
10.1 Identifikasi koloni <i>Escherichia coli</i>	33
10.2 Identifikasi mikroskopis <i>Escherichia coli</i>	33
10.3 Identifikasi bakteri uji secara biokimia.....	33
11. Uji aktivitas antibakteri daun mangga kasturi dengan metode difusi.....	34
12. Uji aktivitas antibakteri mangga kasturi dengan metode dilusi	35
13. Pengamatan hasil	36
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	41
1. Hasil determinasi tanaman	41
2. Pembuatan serbuk daun mangga kasturi	41
2.1. Pengumpulan bahan	41
2.2. Pengeringan dan penyerbukan daun mangga kasturi	41
3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi	42
4. Hasil pembuatan ekstrak metanol daun mangga kasturi	42
5. Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun mangga kasturi	43

6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun mangga kasturi.....	44
7.	Hasil identifikasi <i>E. coli</i> ATCC 25922	45
7.1	Hasil identifikasi bakteri <i>E. coli</i> ATCC 25922 secara makroskopis.	45
7.2	Hasil identifikasi mikroskopis bakteri <i>E. coli</i> ATCC 25922 dengan pewarnaan gram	46
7.3	Hasil identifikasi biokimia bakteri <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	46
8.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi	49
9.	Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri secara Dilusi	50
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	53
A.	Kesimpulan.....	53
B.	Saran	53
	DAFTAR PUSTAKA	54
	LAMPIRAN	60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman mangga kasturi (Ayala-silva dkk 2013)	5
Gambar 2. Skema jalannya penelitian.....	36
Gambar 3. Skema pembuatan suspensi bakteri.....	37
Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak metanol dan fraksi daun mangga kasturi.....	38
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi terhadap bakteri <i>E. coli</i> ATCC 25922 secara difusi.....	39
Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi terhadap bakteri <i>E. coli</i> ATCC 25922 secara dilusi.....	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah daun mangga kasturi...	42
Tabel 2. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi.....	42
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak daun mangga kasturi	43
Tabel 4. Hasil pengujian bebas metanol ekstrak daun mangga kasturi	43
Tabel 5. Hasil total fraksi ekstrak daun mangga kasturi.....	44
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun mangga kasturi.....	45
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi	45
Tabel 8. Identifikasi uji biokimia pada bakteri <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	47
Tabel 9. Hasil uji dilusi fraksi etil asetat dan kotrimoksazol.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi daun mangga kasturi (<i>Mangifera casturi</i> Kosterm)	61
Lampiran 2. Tanaman dan serbuk daun mangga kasturi (<i>Mangifera casturi</i> Kosterm)	62
Lampiran 3. <i>Sterling-bidwell</i> , Inkubator dan Evaporator	63
Lampiran 4. Maserasi dan hasil fraksi <i>n</i> -heksan dan etil asetat.	64
Lampiran 5. Foto ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun mangga kasturi	65
Lampiran 6. Foto hasil uji kandungan senyawa serbuk, ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air	66
Lampiran 7. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun mangga kasturi	68
Lampiran 8. Hasil persentase penetapan kadar air daun mangga kasturi	69
Lampiran 9. Rendemen ekstrak metanol daun mangga kasturi	70
Lampiran 10. Hasil perhitungan rendemen fraksinasi	71
Lampiran 11. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air metode difusi	72
Lampiran 12. Pembuatan konsentrasi fraksi etil asetat metode dilusi	73
Lampiran 13. Pembuatan konsentrasi dan dilusi kotrimoksazol.....	74
Lampiran 14. Pembuatan Media	75
Lampiran 15. Foto hasil uji aktivitas antibakteri metode difusi	79
Lampiran 16. Foto hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat metode dilusi	80
Lampiran 17. Foto hasil uji aktivitas antibakteri kotrimoksazol metode dilusi...	82
Lampiran 18. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstraksi metanol dengan konsentrasi 25% serta kontrol (+) dan kontrol (-).	84

INTISARI

RAHMAD, H., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Penyakit diare salah satunya disebabkan oleh bakteri *E. coli*. Daun mangga kasturi dimanfaatkan untuk mengobati diare (Parves 2016). Daun mangga kasturi mengandung senyawa tanin, flavonoid, triterpenoid dan saponin (Tanaya dkk 2015). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi terhadap *E. coli* ATCC 25922.

Serbuk daun mangga kasturi dilakukan ekstraksi metode maserasi menggunakan pelarut metanol lalu difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi cakram dan dilusi. Uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram menggunakan konsentrasi 25% dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi. Uji aktivitas antibakteri metode dilusi menggunakan fraksi teraktif dari metode difusi.

Berdasarkan penelitian ini ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air memiliki aktivitas antibakteri. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air mempunyai diameter hambat dengan konsentrasi 25% berturut-turut sebesar 10,5 mm, 8,2 mm, 21,2 mm, 8,9 mm dan Fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif. Hasil uji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat dengan metode dilusi didapatkan KBM sebesar 3,125%.

Kata kunci : *Mangifera casturi* Kosterm, fraksi, *Escherichia coli*, difusi, dilusi

ABSTRACT

RAHMAD, H., 2017, THE EXPERIMENT ACTIVITY on ANTIBACTERIAL *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER'S FRACTIONS FROM the MANGO KASTURI LEAF'S METHANOL (*Mangifera casturi* Kosterm) EXTRACT TOWARDS the *Escherichia coli* ATCC 25922 SKRIPSI, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY of SURAKARTA.

One of the causes of diarrhea is the *E. coli* bacteria. The leaf's Mango kasturi used to treat diarrhea (parves 2016). Mango kasturi leaf contain flavonoid, saponin, tanin and triterpenoid. This research is being done in purpose to find out the antibacterial activity of *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions from the mango casturi leafs to *E. coli* ATCC 25922 bacteria.

The powder of mango casturi was extracted with maceration method using methanol solvent. The test for the antibacterial activity in this study uses two methods: disc diffusion and dilution. The test of the antibacterial activity by disc diffusion method using 25% concentration of extract, *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions from mango kasturi leaf's. The test of the antibacterial activity by dilution method using the most active fraction obtained from the diffusion method.

Based on research that has been done extract, of *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions have antibacterial activity. The extract, *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions having inhibitory diameter with 25% concentration had of 10.5 mm, 8.2 mm, 21.2 mm, 8.9 mm and the result of antibacterial activity test ethyl acetat fraction by using dilution method obtained by CMB 3,125%.

Keywords: *Mangifera casturi* Kosterm, fraction, *Escherichia coli*, diffusion, dilution

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Perkembangan dunia yang begitu cepat diimbangi dengan kecepatan menyebarnya penyakit infeksi seperti demam berdarah, sifilis, malaria, dan penyakit menular lainnya (Sasika 2011). Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme. Penyakit infeksi contohnya adalah infeksi saluran pernafasan atas, infeksi saluran pernafasan bawah, infeksi saluran kencing, infeksi saluran gastrointestinal. Macam-macam mikroorganisme penyebab penyakit infeksi meliputi bakteri, virus, jamur, protozoa, cacing dan bahkan algae (Shulman dkk, 1994). Penyakit infeksi salah satunya adalah diare, diare adalah suatu kondisi dimana buang air besar dengan konsistensi lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dan frekuensinya lebih sering (biasanya tiga kali atau lebih) dalam satu hari. Penyebab diare dapat disebabkan karena keracunan dan infeksi (Depkes 2011).

Penyakit diare masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di negara berkembang seperti di Indonesia, karena morbiditas dan mortalitas yang masih tinggi. Survei morbiditas yang dilakukan oleh Subdit Diare, Departemen Kesehatan dari tahun 2000 sampai dengan 2010 terlihat kecenderungan insiden naik. Pada tahun 2000 IR penyakit diare 301/1000 penduduk, tahun 2003 naik menjadi 374/1000 penduduk, tahun 2006 naik menjadi 423/1000 penduduk dan tahun 2010 menjadi 411/1000 penduduk (Kemenkes RI 2011).

Penyakit diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Campylobacter*, *Arcobakter butzleri* (Anonim 2012). Penyakit diare yang disebabkan oleh infeksi bakteri salah satunya *E. coli*. *E. coli* termasuk dalam family Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan bakteri Gram-negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil), mempunyai flagel, berukuran 0,4-0,7µm x 1,4µm (Radji 2010). Penyakit diare yang disebabkan bakteri *E. coli* dapat diobati dengan antibiotik, namun penggunaan antibiotik memiliki kekurangan misalnya resisten, harga lebih mahal, efek samping, oleh karena itu

kita kembali menggunakan pengobatan yang berasal dari alam karena harganya lebih murah, pengolahan lebih sederhana, lebih aman salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat diare adalah tanaman mangga kasturi.

Mangga kasturi termasuk dalam genus *Mangifera*. Genus *Mangifera* telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional antara lain untuk mengobati diare, disentri, reumatik, diabetes, tekanan darah tinggi dan berbagai penyakit kulit (Parves 2016). Penelitian yang dilakukan Rosyidah dkk (2010) tentang aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi dengan metode difusi dan pelarut metanol. Fraksi A (*n*-heksan) dari ekstrak metanol serbuk kulit batang kasturi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, dengan diameter hambat $10,8 \pm 0,3$ mm terhadap bakteri *S. aureus* dan $10,3 \pm 0,5$ mm terhadap bakteri *E. coli*.

Metode penyarian daun mangga kasturi yang akan digunakan adalah maserasi setelah itu dilanjutkan dengan metode fraksinasi. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Keuntungan maserasi mudah dilakukan, konsentrasi bahan ekstrak terjamin keseimbangannya, maserasi secara teoritis tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut (Voigt 1995). Berdasarkan kandungan zat aktif daun mangga kasturi dan penelitian sebelumnya yang dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol, maka pada metode maserasi menggunakan pelarut metanol karena pelarut tersebut dapat melarutkan hampir semua senyawa metabolit sekunder. Selain itu metanol mempunyai titik didih yang relatif rendah sehingga mudah diuapkan (Firdausi dkk 2015).

Metode uji antibakteri di dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa zona yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa (Jawetz dkk 2007). Metode dilusi dapat digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Pratiwi 2008). Penelitian diperlukan mengenai aktivitas antibakteri dari daun mangga kasturi terhadap bakteri *E. coli* dari ekstrak metanol daun mangga kasturi dengan fraksi *n*-heksan, etil asetat, air sehingga dapat diketahui fraksi yang paling

aktif memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap bakteri *E. coli*. Berdasarkan latar belakang diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang mangga kasturi sebagai antibakteri dengan pelarut metanol, yang diuji terhadap bakteri *E. coli* penyebab diare.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* ATCC 25922?

Kedua, manakah dari ekstrak metanol dan ketiga fraksi daun mangga kasturi tersebut, yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling aktif untuk menghambat *E. coli* ATCC 25922?

Ketiga, berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif daun mangga kasturi sebagai antibakteri terhadap *E. coli* ATCC 25922?

C. Tujuan Masalah

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi terhadap *E. coli* ATCC 25922.

Kedua, untuk mengetahui manakah dari ekstrak metanol dan ketiga fraksi daun mangga kasturi tersebut, yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif untuk menghambat *E. coli* ATCC 25922.

Ketiga, untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif daun mangga kasturi sebagai antibakteri terhadap *E. coli* ATCC 25922.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, informasi dan wawasan, kepada seluruh lapisan masyarakat tentang aktivitas daun mangga kasturi untuk mengatasi masalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* agar masyarakat bisa lebih memanfaatkan tanaman ini untuk pengobatan. Penelitian ini diharapkan berguna bagi peneliti lain sebagai acuan atau tambahan informasi dalam melakukan penelitian terhadap daun mangga kasturi sebagai antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Mangga Kasturi

1. Sistematika tanaman

Sistematika secara lengkap tanaman mangga kasturi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Familia	: Anacardiaceae
Genus	: <i>Mangifera</i>
Spesies	: <i>Mangifera casturi</i> kosterm (Andriyani, 2013)



Gambar 1. Tanaman mangga kasturi (Ayala-silva dkk 2013)

2. Deskripsi tanaman

Pohon mangga kasturi dapat berumur puluhan tahun, tumbuh dipekarangan atau di hutan. Kulit kayu berwarna putih keabu-abuan sampai coklat terang, kadang terdapat retakan atau celah kecil ± 1 cm berupa kulit kayu mati dan mirip dengan *Mangifera indica*. Tanaman bisa mencapai tinggi 25-50m atau bahkan lebih, dengan diameter batang $\pm 40-115$ cm. Kulit batang apabila dilukai akan mengeluarkan getah yang mula-mula bening, kemudian berwarna kemerahan dan menghitam dalam beberapa jam. Getah ini mengandung terpenin

dan berbau tajam, dapat melukai kulit atau menimbulkan iritasi, terutama bagi kulit yang sensitif (Baswarsiati dan Yuniarti 2007).

Daun tunggal, gundul, tersusun dalam spiral atau spiral rapat, bertangkai panjang, berbentuk lanset memanjang dengan ujung runcing dan pada kedua belah sisi tulang daun tengah terdapat 12-25 tulang daun samping. Tanpa daun penumpu. Daun muda menggantung lemas dan berwarna ungu tua (Abdelnaser dan Shinkichi 2010).

Bunga mangga kasturi merupakan bunga majemuk berkelamin ganda dengan bentuk bunga berkarang dalam malai dengan banyak bunga yang berukuran kecil, aktinomorf, dan sering sekali berambut rapat. Panjang tangkai bunga ± 28 cm dengan anak tangkai sangat pendek, yaitu 2-4 mm seolah-olah duduk pada cabang-cabang malai. Daun kelopak bulat telur memanjang dengan panjang 2-3 mm. Daun mahkota bulat telur memanjang dan bunga berbau harum. Benang sari sama panjang dengan mahkota, staminodia sangat pendek dan seperti benang sari yang tertancap pada tonjolan dasar bunga (Rashedy 2014).

Buah mangga kasturi berbentuk bulat sampai elips dengan berat 60-84 g, panjang 4,5-5,5 cm, dan lebar 3,5-3,9 cm, daging buah kuning atau oranye dan berserabut, tekstur daging buah agak kasar, rasa buah manis sedikit asam, dan beraroma khas. Biji tergolong biji batu dengan dinding yang tebal. Biji tunggal, terkadang dengan banyak embrio, terselubung cangkang endokarp yang mengeras dan seperti kulit. Mangga ini berbuah pada awal musim penghujan atau sekitar bulan Januari (Shaban 2009).

3. Waktu panen

Pada saat musim berbuah (November-Januari), tanaman ini berbuah sangat lebat. Kulit buah saat masih muda berwarna hijau, setelah tua berubah menjadi coklat kehitaman, permukaan kulitnya licin. Bentuk buah lonjong dengan nisbah panjang/lebar 1,25-1,53. Kulit buah sekitar 0,24 mm. Daging buah berkadar air tinggi (87,2%), namun beberapa komponen kimia yang lainnya rendah, seperti protein (0,3%), lemak (0,04%), pati (1,4%), total gula (2%), dan kalori (9,6 kal/100g). Kadar asam (4,7%) dan karbohidratnya (12%) relatif tinggi (Antarlina 2009).

Waktu panen daun dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu ditandai dengan saat-saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak. Pucuk daun dianjurkan diambil pada saat warna pucuk daun berubah menjadi daun tua (Gunawan & Mulyani 2004).

4. Khasiat tanaman mangga kasturi

Mangga kasturi termasuk dalam genus *Mangifera*. Genus *Mangifera* telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional antara lain untuk mengobati diare, disentri, reumatik, diabetes, tekanan darah tinggi dan berbagai penyakit kulit (Parves 2016). Menurut penelitian Rosyidah dkk (2010) kulit batang tumbuhan kasturi berkhasiat sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* yang menyebabkan diare dan *S. Aureus* yang menyebabkan penyakit kulit dan menurut Mustikasari dkk (2008) akar dan batang dari tumbuhan kasturi mempunyai potensi sebagai obat antidiabetes. Menurut penelitian Fakhruddin dkk (2013) ekstrak metanol dari buah mangga kasturi memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dan secara empiris biji mangga kasturi berfungsi sebagai antidiare, daunnya untuk mengobati asam urat dan diabetes dan buahnya sebagai antioksidan.

Menurut Tanaya dkk (2015) fraksi etil asetat daun mangga kasturi mengandung tanin, flavonoid dan triterpenoid. Penelitian yang dilakukan Syah dkk (2015) terhadap bagian daun *Mangifera indica* menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, alkaloid, tanin, kuinon, polifenol, steroid dan triterpenoid. Senyawa kimia yang ada di dalam daun *Mangifera indica* yaitu flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Biswas dkk 2015). Menurut kemotaksonomi apabila dua tanaman masih dalam satu genus yang sama kemungkinan kandungan yang ada di dalam tanaman tersebut juga sama. Berdasarkan persamaan kandungan dari daun *Mangifera indica* kemungkinan daun mangga kasturi juga memiliki potensi yang sama pula yaitu mengobati infeksi kulit dan infeksi usus.

5. Kandungan kimia

Berdasarkan penelitian Putri dkk (2015) pada uji fitokimia dari fraksi *n*-heksan bagian daun mangga kasturi mengandung tanin, triterpenoid. Menurut penelitian Tanaya dkk (2015) pada uji fitokimia fraksi etil asetat daun mangga kasturi mengandung tanin, flavonoid, triterpenoid.

5.1 Flavonoid. Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki kembali (Prayudhani dkk 2012).

5.2 Tanin. Tanin merupakan suatu zat kompleks yang terdapat campuran polifenol yang sukar dipisahkan, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit, pertahanan bagi tumbuhan, membantu mengusir hewan pemangsa tumbuhan, antioksidan, menghambat pertumbuhan tunas dan dapat mendenaturasi protein (Robinson 1995). Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah dengan menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk, selain itu tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Rijayanti 2014).

5.3 Saponin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan dalam konsentrasi yang rendah sering menimbulkan hemolisis sel darah merah. Dikenal dua jenis saponin, glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah melibatkan pembentukan kompleks dengan sterol pada membran plasma sehingga menghancurkan semi permeabilitas sel, kemudian mengarah pada kematian sel (Kumalasari dan Sulistyani 2011).

5.4 Triterpenoid. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik yaitu skualena yang berupa senyawa tidak berwarna, bersifat optis aktif, berbentuk kristal, dan bertitik leleh tinggi (Harborne 1987). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, dan menyebabkan membran atau dinding sel tidak terbentuk sempurna (Ajizah 2004).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelican (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan pelican (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pencucian simplisia dan pengeringan

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan yang tercemar pestisida. Pencucian dilakukan dengan air bersih (Gunawan & Mulyani 2004).

Pengeringan bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif dan memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Pengeringan secara alamiah dapat dilakukan dengan panas sinar matahari langsung, pengeringan alamiah lainnya dengan diangin anginkan dan tidak dipanaskan dibawah matahari langsung. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembaban udara dan kelembaban bahan, ketebalan bahan, sirkulasi udara dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004). Kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% karena dengan kadar lembab kurang dari 10% sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno dkk 2008).

C. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, flavonoid, alkaloid dan lain-lain. Senyawa aktif yang diketahui terkandung dalam simplisia akan mempermudah pilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes 2000). Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental, atau cair, dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, soxletasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Cairan penyari yang dapat digunakan berupa air, eter atau campuran etanol dalam air (Anief 2003).

2. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Keuntungan maserasi mudah dilakukan, konsentrasi bahan ekstrak terjamin keseimbangannya, maserasi secara teoritis tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut (Voigt 1995). Kerugiannya adalah pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes 2000).

Maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, dimasukkan dalam bejana lalu dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk, sari kemudian diencerkan dan ampas diperas. Ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian (Depkes 2000).

3. Soxhletasi

Soxhletasi adalah metode ekstraksi yang sering dilakukan dengan cara bahan yang akan diekstrak berada dalam kantung ekstraksi yang sering dilakukan dengan cara bahan yang akan diekstrak berada dalam kantung ekstraksi di dalam

sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja secara kontinyu karena adanya pendingin balik. Wadah dari gelas yang mengandung kantung diantara labu suling dan suatu pendingin aliran balik dan dihubungkan melalui pipa pipet. Labu tersebut berisi bahan pelarut, yang menguap dan mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipa pipet, pelarut tersebut berkondensasi di dalamnya, menetas di atas bahan ekstraksi dan membawa keluar bahan yang diekstraksi. Larutan terkumpul dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimal secara otomatis ditarik ke dalam labu. Zat yang diekstraksi tertimbun melalui penguapan kontinyu dari bahan pelarut murni. Metode ini hanya membutuhkan pelarut yang sedikit (Voigt 1995).

Metode ini memiliki kekurangan yang sama dengan metode ekstraksi panas lainnya karena kemungkinan terjadi peruraian produk (Heinrich dkk 2014). Metode ini memiliki keuntungan untuk penyarian pada temperatur tinggi. Metode ini cocok untuk menyari zat-zat yang berjumlah kecil pada serbuk simplisia yang disari oleh cairan penyari yang murni, sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak dan penyarian zat yang diteruskan sesuai dengan kebutuhan, tanpa menambah volume cairan penyari (Harborne 1987).

4. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari pengembangan bahan tahap maserasi antara perkolasi sebenarnya yaitu penetesan atau penampungan ekstrak secara terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan. Keuntungan perkolasi adalah peralatan sederhana dan mudah dalam mengerjakannya, aman untuk zat aktif yang tidak tahan pemanasan. Kelemahan perkolasi adalah waktu penyarian lama, penyarian kurang sempurna, memerlukan jumlah pelarut yang besar (Depkes 2000).

5. Destilasi

Metode destilasi atau penyulingan terhadap bagian tanaman yang mengandung minyak. Dasar dari metode ini adalah memanfaatkan perbedaan titik didih. Metode yang paling lazim dilakukan adalah metode destilasi atau penyulingan. Metode ini meliputi destilasi kering dan destilasi air. Metode

destilasi kering paling sesuai untuk bahan tanaman yang kering dan untuk minyak-minyak yang tahan pemanasan (tidak mengalami perubahan bau dan warna saat dipanaskan). Metode destilasi air digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat panas kering (Gunawan dan Mulyani 2004). Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel V 2006).

6. Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan polaritas. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Serbuk simplisia mula-mula disari berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut dimulai dengan yang nonpolar, kemudian disari dengan pelarut yang semi polar dan terakhir dengan pelarut polar. Keuntungan fraksinasi adalah diperolehnya isolat atau senyawa yang lebih spesifik terhadap polaritas pelarut yang digunakan (Harborne 1987).

7. Cairan penyari untuk ekstraksi

Pemilihan pelarut yang tepat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Akbar, 2010). Metanol merupakan bentuk alkohol yang paling sederhana dari turunan alkohol. Metanol berbentuk cair yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar dan berbau khas. Metanol digunakan sebagai bahan pelarut, bahan bakar dan bahan aktif bagi industri metanol. Metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid (Voigt 1995).

8.1 *n*-heksan. *n*- heksan merupakan pelarut nonpolar berupa cairan yang jernih, tidak berwarna, mempunyai sifat larut dalam 5 bagian air. *n*-heksan dapat bercampur dengan etanol, mutlak dapat bercampur dengan benzene, kloroform, eter, dan sebagian besar senyawa minyak atsiri, lemak, asam lemak tinggi, golongan triterpenoid, steroid, uapnya mudah meledak bila berikatan dengan udara maka sebaiknya disimpan dalam tempat yang dingin (Robinson 1995).

8.2 Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah (Wardhani & Sulistyani 2012). Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri dkk 2013).

8.3 Air. Air adalah pelarut universal, yang digunakan untuk ekstrak tanaman dengan produk aktivitas antimikroba. Ekstrak tumbuh tumbuhan organik dari pelarut telah memberikan aktivitas antimikroba yang lebih konsisten dibandingkan dengan ekstrak air. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat aktif ikut tersari sehingga zat lain yang diperlukan mengganggu proses penyarian (Tiwari dkk 2011).

D. Media

Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, didalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain (Abdurahman 2008).

1. Macam-macam bentuk media

Bentuk media ada tiga jenis yaitu media padat, media setengah padat, media cair.

1.1 Media padat. Media padat diperoleh dengan cara menambahkan agar-agar. Agar berasal dari ganggang atau alga yang berfungsi sebagai bahan pematat. Alga digunakan karena bahan ini tidak diuraikan oleh mikroorganisme, dan dapat membeku pada suhu 45°C. Media padat terbagi menjadi media Agar miring dan Agar deep (Waluyo 2004).

1.2 Media setengah padat. Media setengah padat adalah media yang dibuat dengan bahan sama dengan media padat, akan tetapi yang berbeda adalah komposisi agarnya. Media ini digunakan untuk melihat gerak kuman secara mikroskopik (Waluyo 2004).

1.3 Media cair. Media cair juga dikenal sebagai media sintetik. Media sintetik merupakan media yang mempunyai kandungan dan isi bahan telah diketahui secara terperinci. Media sintetik sering digunakan untuk mempelajari genetika mikroorganisme. Senyawa anorganik dan senyawa organik yang ditambahkan dalam media sintetik harus murni. Contoh media sintetik adalah cairan Hanks, Locke, Eagle (Waluyo 2004).

2. Klasifikasi media

2.1 Media sintetik. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan harus mengandung semua faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Media, bahan media, dan bakteri disatukan, lalu bakteri diamati. Pertumbuhan bakteri yang sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji (Radji 2010).

2.2 Media kompleks. Media yang sering digunakan secara rutin di laboratorium. Media ini mengandung nutrisi tinggi atas ekstrak ragi, ekstrak daging atau tumbuhan, ataupun protein sederhana dari sumber lain. Vitamin, mineral, dan bahan organik lain yang diperoleh dari ekstrak daging atau ragi merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentuk cair disebut *nutrient agar* (Radji 2010).

2.3 Media anaerob. Penanaman bakteri anaerob harus menggunakan media spesial disebut *reducing media* yang mengandung natrium trioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan perlahan-lahan untuk menghilangkan oksigen yang terserap. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasikan dalam media agar di dalam cawan petri (Radji 2010).

2.4 Media biakan khusus. Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia

tertentu. Bakteri aerob membutuhkan CO₂ dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dari pada konsentrasi CO₂ di udara, maka konsentrasi CO₂ pada media ini dinaikkan (Radji 2010).

2.5 Media selektif dan diferensial. Media ini digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif dirancang untuk menekan pertumbuhan bakteri yang diinginkan. *Bismuth Sulfate Agar* (BSA) digunakan untuk mengisolasi bakteri *S. typhi* dari tinja. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama. Karakteristik selektif dan diferensial kadang-kadang di kombinasikan di dalam satu jenis media (Radji 2010).

2.6 Media pengayaan. Media yang digunakan untuk pengayaan biakan bakteri biasanya dalam bentuk media cair dan hampir sama dengan media selektif, tetapi dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan sehingga dapat dideteksi. Tahapan pengayaan adalah upaya untuk menumbuhkan bakteri dalam beberapa kali pemindahan ke media yang baru. Ketika biakan pengayaan terakhir disebarkan di atas media padat yang mengandung komposisi yang sama dengan media cair, hanya koloni yang mampu menggunakan fenol yang bertahan tumbuh (Radji 2010).

E. Sterilisasi

Alat atau bahan dikatakan steril bila bahan atau alat tersebut bebas dari mikroba, baik dalam bentuk vegetatif maupun bentuk spora. Tindakan untuk membebaskan alat atau media dari jasad renik disebut dengan sterilisasi (Widyarto 2009). Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan proses penghilangan semua jenis organisme hidup, dalam hal ini adalah mikroorganisme (protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma, virus) yang terdapat pada suatu benda. Proses ini melibatkan proses fisik dengan tujuan untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme.

Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu sterilisasi panas basah dengan perebusan menggunakan air mendidih 100°C

selama 10 menit efektif untuk sel-sel vegetatif dan spora eukariot, namun tidak efektif untuk endospora bakteri. Sterilisasi panas kering berfungsi untuk mematikan organisme dengan cara mengoksidasi komponen sel ataupun mendenaturasi enzim. Metode ini tidak dapat digunakan untuk bahan yang terbuat dari karet atau plastik, waktu sterilisasinya lama (sekitar 2-3 jam) dan berdaya penetrasi rendah. Metode sterilisasi kering ini tidak memerlukan air sehingga tidak ada uap air yang membasahi alat atau bahan yang disterilkan.

Penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar uv untuk bahan yang tidak akan berubah akibat temperatur tinggi atau tekanan tinggi, sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan memiliki daya antimikroba yang lebih rendah dibandingkan metode sterilisasi yang lain. Bakteri pembentuk spora dan beberapa virus resisten terhadap sterilisasi dengan metode ini. Penggunaan larutan alkohol efektif membunuh bakteri dan fungi namun tidak dapat membunuh endospora dan virus. Sterilisasi dengan penyaringan digunakan untuk bahan yang sensitif terhadap panas, misalnya enzim. Pada proses ini digunakan membran filter yang terbuat dari selulosa asetat. Kerugian prosedur ini adalah biaya yang mahal (Pratiwi 2008).

F. Diare

Diare adalah frekuensi buang air besar (BAB) yang abnormal akibat kondisi ketidakseimbangan absorpsi air, sekresi air dan elektrolit dengan feses yang tidak berbentuk atau cair yang frekuensinya lebih dari 3 kali dalam 24 jam. Frekuensi dan konsistensi BAB bervariasi dalam dan antar individu. Mekanisme yang mengganggu keseimbangan air dan elektrolit yang mengakibatkan diare terbagi atas 4 mekanisme yaitu perubahan transpor ion aktif yang disebabkan oleh penurunan absorpsi natrium atau peningkatan sekresi klorida, perubahan motilitas usus, peningkatan osmolaritas luminal, dan peningkatan tekanan hidrostatik jaringan (Sukandar dkk 2013).

Diare dikelompokkan menjadi akut dan kronis. Diare akut adalah diare yang terjadi secara mendadak yang sebelumnya sehat dan berlangsung kurang dari 14 hari (Depkes 2011). Patogenesis diare akut oleh infeksi, digambarkan dengan

masuknya mikroorganisme ke dalam saluran pencernaan, berkembang biaknya mikroorganisme tersebut setelah berhasil melewati asam lambung, dibentuknya toksin (endotoksin) oleh mikroorganisme dan adanya rangsangan pada mukosa usus yang menyebabkan terjadinya hiperperistaltik dan sekresi cairan usus mengakibatkan terjadinya diare (Suraatmaja 2007).

Diare kronik adalah diare yang berlanjut sampai lebih dari 14 hari dengan kehilangan berat badan atau berat badan tidak bertambah selama masa diare (Depkes 2011). Beberapa hal yang dapat menyebabkan diare, termasuk bakteri *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, *Campylobacter*, virus *Rotavirus*, *Norovirus* dan parasit *Cryptosporidium*, *Giardia* dan beberapa senyawa seperti laksatif, dan obat antiinflamasi non steroid (Sukandar dkk 2013).

G. *Escherichia coli*

1. Sistematika *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Sub Divisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: <i>Escherichia</i>
Jenis	: <i>Escherichia coli</i> (Jawetz dkk 2012).

2. Morfologi dan sifat

E.coli merupakan bakteri flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam family Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah dan dalam air (Jawetz dkk 2012). *E. coli* dapat menyebabkan diare yaitu dengan mekanisme produksi enterotoksin yang secara tidak langsung menyebabkan kehilangan cairan dan invasi yang sebenarnya lapisan epitelium dinding usus, yang menyebabkan peradangan dan kehilangan cairan (Jawetz dkk 2012). Morfologi dari *E. coli* adalah berbentuk

batang pendek (koko basil) Gram negatif, ukuran 0,4-0,7 μm , sebagian besar strain *E. coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. *E. coli* bersifat mikroaerofilik. Beberapa strain bila ditanam pada media Agar darah menunjukkan hemolysis tipe beta.

Biakan *E. coli* berupa koloni berwarna merah pada agar *Mac Conkey* yang menunjukkan bahwa basil memfermentasi laktosa dan bersifat non patogen di dalam intestine. Tempat yang paling sering terkena infeksi *E. coli* adalah saluran kemih, saluran empedu, dan tempat-tempat lain dirongga perut. Bakteri ini juga menghasilkan enterotoksin penyebab diare. *E. coli* memproduksi enterotoksin yang tahan panas dapat menyebabkan diare yang ringan, sedangkan enterotoksin yang tidak tahan panas dapat menyebabkan sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus, menghambat reabsorpsi natrium (Widyarto 2009).

3. Toksin *Escherichia coli*

3.1 Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC). ETEC memproduksi toksin LT (termolabil) dan ST (termostabil). Toksin-toksin ini bekerja pada eritrosit untuk menstimulasi sekresi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya diare (Radji 2010).

3.2 Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC). EIEC mekanisme patogenik mirip dengan patogenesis infeksi yang disebabkan oleh *Shigella*. EIEC masuk dan berkembang dalam epitel sel-sel kolon sehingga menyebabkan kerusakan pada sel kolon. Gejala klinis yang ditimbulkan oleh infeksi EIEC mirip dengan gejala diare yang disebabkan oleh *Shigella*. Gejala diare biasanya disertai dengan demam (Radji 2010).

3.3 Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC). EPEC jenis ini merupakan penyebab utama diare pada bayi. EPEC memiliki fimbria, toksin yang tahan terhadap panas (ST), dan toksin yang tidak tahan panas (LT), serta menggunakan *adhesin*, yang dikenal dengan intimin, untuk melekat pada sel mukosa usus. Infeksi EPEC mengakibatkan diare berair yang biasanya dapat sembuh sendiri, tetapi ada juga yang menjadi kronis. Diare lama yang disebabkan oleh EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik (Radji 2010).

3.4 Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC). EHEC memproduksi verotoksin yang bekerja pada sel vero, yaitu sel ginjal yang diperoleh dari ginjal

monyet Afrika (African green monkey). EHEC dapat menyebabkan kolitis berdarah (yaitu diare berat yang disertai perdarahan) dan sindrom uremik hemolitik (yaitu gagal ginjal akut yang disertai anemia hemolitik mikroangiopatik dan trombositopenia). Kasus kolitis berdarah dan komplikasinya dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang sebelum dikonsumsi (Radji 2010).

3.5 *Escherichia coli* enteroagregatif (EAEC). EAEC bakteri ini menimbulkan diare akut dan kronis merupakan penyebab utama diare pada masyarakat di negara berkembang. EAEC melekat pada sel manusia dengan pola khas dan menyebabkan diare tidak berdarah, tidak menginvasi, dan tidak menyebabkan inflamasi pada mukosa intestin. EAEC diperkirakan memproduksi EAST (*entero aggregative ST toxin*), yang merupakan suatu enterotoksin yang tidak tahan panas. EAEC memproduksi hemolisin yang mirip dengan hemolisin yang diproduksi oleh galur *E. coli* yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (Radji 2010).

4. Patogenesis

E. coli bersifat komensal dan masuk dalam salah satu bakteri indikator sanitasi. Infeksi bakteri tersebut diduga merupakan faktor utama penyebab malnutrisi pada bayi dan anak-anak di negara berkembang. *E. coli* patogenik banyak mencemari daging sapi, susu, air tanpa proses, buah, dan sayuran mentah (Kusumaningsih 2010). Pada tahun 1982 pertama kali dilaporkan terjadinya wabah diare berdarah yang disebabkan oleh *E. coli* pada 20.000 orang dengan kematian sebanyak 250 orang, akibat mengonsumsi hamburger setengah matang dari restoran cepat saji di Amerika Serikat. Gejala umum infeksi *E. coli* diantaranya diare berdarah, mual muntah, nyeri abdomen, dan kram perut. Infeksi *E. coli* pada bayi, anak-anak, lanjut usia, pada seseorang dengan sistem kekebalan tubuh yang rendah (penderita HIV/AIDS), dapat menimbulkan komplikasi yang menyebabkan kematian (Kusumaningsih 2010).

H. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa kimia atau zat yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu

mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Agustrina 2011). Antibakteri yang telah beredar di masyarakat bermacam-macam diantaranya adalah desinfektan biasanya menyatakan suatu zat yang membunuh mikroorganisme di lingkungan benda-benda mati. Desinfektan seharusnya dapat mematikan mikroorganisme pada pengenceran yang tinggi, tidak merusak jaringan atau benda-benda mati, tidak mahal, stabil, tidak menyebabkan warna, tidak berbau, dan bekerja cepat walaupun ada protein asing, eksudat, atau serat-serat (Katzung 1997). Desinfektan contohnya phenol, kresol, lysol dan lainnya. Jenis antibakteri lainnya adalah antiseptik. Golongan ini sering digunakan untuk menyebutkan jenis zat-zat yang menghambat pertumbuhan bakteri baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Umumnya jenis ini digunakan pada permukaan jaringan hidup di bawah kondisi kontak yang sesuai. Antiseptik contohnya detol, betadin dan lainnya (Katzung 1997).

Antibiotik adalah suatu metabolit yang diperoleh atau dibentuk oleh berbagai jenis mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Antibiotik memegang peranan penting dalam mengontrol populasi mikroba di dalam tanah, air, limbah, dan lingkungan (Radji 2010). Pengujian suatu senyawa baru yang aktif terhadap mikroorganisme baik secara *in vitro* maupun *in vivo* didapat hasil akhir berupa senyawa yang dapat berefek sebagai desinfektan, antiseptik dan antibiotik. Senyawa yang memiliki toksisitas selektif dapat bersifat sebagai antibiotik.

1. Mekanisme antibakteri

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri dibagi menjadi lima kelompok yaitu menghambat metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein sel mikroba, merusak asam nukleat sel mikroba (Ganiswara 2005).

1.1 Menghambat metabolisme sel mikroba. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Asam Para Amino Benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikuti sertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional,

sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Gunawan dkk 2009).

1.2 Menghambat sintesis dinding sel mikroba. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Gunawan dkk 2009).

1.3 Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba. Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Gunawan dkk 2009).

1.4 Menghambat sintesis protein sel mikroba. Mikroba perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Salah satu mekanisme kerja antimikroba yaitu dengan cara antimikroba berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca tRNA pada waktu sintesis protein yang mengakibatkan terbentuknya protein abnormal dan non fungsional bagi sel mikroba. Contoh antibakteri yang bekerja menghambat sintesis protein sel mikroba adalah streptomisin, gentamisin, kanamisin, eritromisin, linomisin, dan kloramfenikol (Ganiswara 2005).

1.5 Merusak asam nukleat sel mikroba. Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja ini biasanya bersifat sitotoksik dan hanya digunakan sebagai obat antikanker tetapi dapat juga digunakan sebagai antivirus. Antibakteri yang bekerja merusak asam nukleat sel mikroba contohnya rifampisin, dan golongan quinolon (Ganiswara 2005).

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilusi.

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diperiksa (Jawetz dkk 2007). Metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode cakram kertas/*disc diffusion*, metode lubang/sumur, dan metode silinder. Metode *Disc diffusion* dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan mikroba oleh suatu senyawa antimikroba dalam ekstrak. Metode sumur yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi mikroba (Hermawan dkk 2007). Metode difusi agar dipengaruhi beberapa faktor yaitu ketebalan medium agar, komposisi media agar, jumlah inokulum, suhu inkubasi, waktu inkubasi dan pH (Rostinawati 2009). Keuntungan metode difusi adalah lebih mudah, cepat, tidak membutuhkan alat dan bahan yang banyak, sehingga efektif sebagai pembanding. Kelemahan metode difusi adalah tidak dapat menentukan apakah suatu obat (agen kemoterapi) sebagai bakterisidal dan bukan hanya bakteriostatik (Jawetz dkk 1986).

Metode dilusi cair, masing-masing konsentrasi ditambah suspensi bakteri, hasil yang didapat di metode ini adalah Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi konsentrasi terkecil suatu obat dapat menghambat pertumbuhan kuman dalam pembenihan cair. Pembenihan yang dipakai harus merupakan pembenihan yang dapat menumbuhkan kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan.

Metode dilusi dilakukan dengan cara membuat suatu seri konsentrasi yang terdiri dari beberapa tabung reaksi. Masing-masing tabung ditambahkan bahan uji yang akan diperiksa kecuali tabung untuk kontrol positif, kemudian ditambahkan bakteri yang telah diencerkan 1:1000 ke dalam tiap-tiap tabung reaksi kecuali untuk kontrol negatif (Bonang & Koeswardono 1982). Keuntungan metode dilusi adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz dkk 2012).

J. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol dalam penelitian ini digunakan sebagai pembanding karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri dan memiliki frekuensi terjadinya resistensi yang lebih rendah daripada masing-masing obat. Kotrimoksazol merupakan antibiotik yang mengandung kombinasi sulfametoksazol dan trimethoprim (Ganiswara 2005).

Trimetoprim dan sulfametoksazol bekerja dengan menghambat reaksi enzimatis obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba. Spektrum antibakteri trimethoprim sama dengan sulfametoksazol meskipun daya antibakterinya 20-100 kali lebih kuat daripada sulfametoksazol. *E. coli* merupakan salah satu mikroba yang peka terhadap kotrimoksazol. Mekanisme antibakteri kotrimoksazol kerjanya berdasar atas dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatis untuk membentuk asam tetrahidrofolat (Ganiswara 2005).

Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C seperti pembentukan purin dan beberapa asam amino. Trimetoprim menghambat enzim dihidrofolat reduktase mikroba secara selektif. Kombinasi ini mungkin efektif walaupun mikroba telah resisten terhadap trimethoprim. Frekuensi terjadinya resistensi terhadap kotrimoksazol lebih rendah daripada masing-masing obat, karena mikroba yang resisten terhadap salah satu komponen lebih peka terhadap komponen yang lainnya. Sinergisme maksimum akan terjadi bila mikroba peka terhadap komponen (Ganiswara 2005).

Menurut WHO, pilihan utama farmakoterapi infeksi bakteri *E. coli* pada manusia adalah kotrimoksazol. Uji yang dilakukan tentang pengaruh kotrimoksazol terhadap pertumbuhan *E. coli* dapat dilihat rata-rata zona hambat yang terjadi adalah 22,8 mm, artinya secara kualitatif daya hambat yang dihasilkan sangat kuat karena lebih dari 20 mm (Billy dkk 2015). Kotrimoksazol mempunyai beberapa variasi dosis dengan kombinasi obat yang mengandung obat sulfametoksazol dan trimetoprim. Pada tablet oral mengandung trimetoprim 80 mg dan sulfametoksazol 400 mg, tablet forte sulfametoksazol 800 mg,

trimetoprim 160 mg, pada suspensi per 5 ml mengandung sulfametoksazol 200 mg, trimetoprim 40 mg. Penggunaan pada usia 12 tahun keatas dan dewasa adalah 2 x sehari 2 tablet biasa atau 1 tablet forte. Anak usia 6 tahun – 12 tahun 2 x sehari 2 sendok teh. Anak usia 6 bulan – 5 tahun 2 x sehari 1 sendok teh (Anonim 2010).

K. Landasan Teori

Tumbuhan kasturi atau mangga Kalimantan menarik untuk diteliti karena tumbuhan ini merupakan tumbuhan khas Kalimantan Selatan dan termasuk tumbuhan langka. Tumbuhan kasturi tersebar di daerah Kalimantan Selatan seperti Banjarbaru, Martapura, Kandangan, dan Tanjung buahnya menyerupai mangga kecil dan agak padat, baunya tajam dan rasanya khas. Kulitnya tipis, licin, hijau mengkilat dengan noda gelap (Ayala-silva dkk 2013). Mangga kasturi termasuk dalam genus *Mangifera*. Genus *Mangifera* telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional antara lain untuk mengobati diare, disentri, reumatik, diabetes, tekanan darah tinggi dan berbagai penyakit kulit (Parves 2016).

Penelitian yang dilakukan oleh Rosyidah dkk (2010) menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol serbuk batang kasturi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan diameter daerah hambatan $10,3 \pm 0,5$ mm terhadap bakteri *E. coli* dan $10,8 \pm 0,3$ mm terhadap bakteri *S. aureus*. Menurut Putri dkk (2015) uji fitokimia fraksi *n*-heksan pada bagian daun mangga kasturi diketahui mengandung tanin, triterpenoid dan menurut Tanaya dkk (2015) pada uji fraksi etil asetat daun mangga kasturi mengandung tanin, flavonoid, triterpenoid. Penelitian lain tentang uji fitokimia pada akar dan batang kasturi positif mengandung saponin dan tanin (Mustikasari dkk 2008). Penelitian yang dilakukan Syah dkk (2015) terhadap bagian daun *Mangifera indica* menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, alkaloid, tanin, kuinon, polifenol, steroid dan triterpenoid. Senyawa kimia yang ada di dalam daun *Mangifera indica* yaitu flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Biswas dkk 2015). Menurut kemotaksonomi apabila dua tanaman masih dalam satu genus yang sama kemungkinan kandungan yang ada di dalam tanaman tersebut juga sama. Berdasarkan persamaan kandungan dari daun *Mangifera indica* kemungkinan

daun mangga kasturi juga memiliki potensi yang sama pula yaitu mengobati infeksi kulit dan infeksi usus.

Ekstrak daun mangga kasturi diperoleh dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana (Voigt 1995). Metanol merupakan bentuk alkohol yang paling sederhana dari turunan alkohol. Metanol berbentuk cair yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar dan berbau khas. Metanol digunakan sebagai bahan pelarut, bahan bakar dan bahan aktif bagi industri metanol. Metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid (Voigt 1995). Ekstrak metanol yang telah diperoleh, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air. *n*-heksan merupakan pelarut non polar digunakan untuk menyari senyawa seperti minyak atsiri, terpenoid, triterpenoid, sterol lemak, dan asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil dan resin (Depkes 2005). Etil asetat bersifat semi polar sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Putri dkk 2013). Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari seperti antosianin, tanin, saponin, glikosida dan gula (Depkes 2005).

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram atau suatu silinder yang tidak beralas, yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada perbenihan padat yang telah ditanami dengan biakan tebal bakteri yang diperiksa. Luas zona yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz dkk 1986). Metode dilusi cair, masing-masing konsentrasi ditambah suspensi bakteri, hasil yang didapat di metode ini adalah Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi konsentrasi terkecil suatu obat dapat menghambat pertumbuhan kuman dalam pembenihan cair. Pembenihan yang dipakai harus merupakan pembenihan yang dapat menumbuhkan kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Bonang & Koeswardono 1982).

L. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* ATCC 25922.

Kedua, fraksi yang paling aktif antara ekstrak metanol dan ketiga fraksi daun mangga kasturi untuk menghambat *E. coli* ATCC 25922 adalah fraksi etil asetat.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari hasil fraksi teraktif daun mangga kasturi sebagai antibakteri terhadap *E. coli* ATCC 25922 terdapat pada konsentrasi tertentu.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga kasturi yang diperoleh dari Kelurahan Bakungan, Kecamatan Loa Janan, Kabupaten Kutai Kartanegara.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga kasturi yang diambil bulan Januari tahun 2017 secara acak dengan memilih daun pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, berwarna hijau, tidak terlalu tua juga tidak terlalu muda, dari Kelurahan Bakungan, Kecamatan Loa Janan, Kabupaten Kutai Kartanegara.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang membuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama peneliti ini adalah ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun mangga kasturi terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel menurut fungsinya dalam penelitian dapat diklasifikasikan berdasar pola hubungan sebab akibat menjadi variabel bebas, variabel tergantung dan variabel kendali.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan yang dilakukan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai konsentrasi dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak daun mangga kasturi.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *E. coli* ATCC 25922, media yang digunakan dalam penelitian, metode maserasi, dan sterilisasi meliputi alat dan bahan harus steril.

Variabel tergantung adalah titik pusat dari persoalan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 25922 yang dipengaruhi oleh ekstrak daun mangga kasturi yang dilihat dari pertumbuhannya pada media yang selektif.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama daun mangga kasturi adalah daun yang diperoleh dari daun mangga kasturi utuh, yang berwarna hijau, tidak terlalu tua juga tidak terlalu muda, dari Kelurahan Bakungan, Kecamatan Loa Janan, Kabupaten Kutai Kartanegara.

Kedua, serbuk daun mangga kasturi adalah daun yang dipetik kemudian dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran, setelah itu dikeringkan dengan panas cahaya matahari secara tidak langsung, kemudian dihaluskan dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Ketiga, ekstrak metanol daun mangga kasturi adalah hasil ekstraksi daun mangga kasturi yang diekstraksi dengan pelarut metanol menggunakan metode maserasi.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah hasil fraksinasi ekstrak metanol daun mangga kasturi yang dengan pelarut *n*-heksan sebagai pelarut non polar.

Kelima, Fraksi etil asetat adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi *n*-heksan dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi polar sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi etil asetat daun mangga kasturi dengan menggunakan air sebagai pelarut polar sehingga didapatkan fraksi air.

Ketujuh, *E. coli* ATCC 25922 adalah bakteri gram (-) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi adalah metode yang digunakan untuk mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk. Metode dilusi adalah metode yang digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan juga Konsentrasi Daya Bunuh Minimum (KBM) yang paling baik terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922. Metode dilusi yaitu berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi yaitu 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0.19%; 0.095% ; 0,04% kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-). Kontrol positif adalah bakteri *E. coli* ATCC 25922, kontrol negatif adalah fraksi daun mangga kasturi dan kontrol pembanding adalah suspensi antibiotik dengan seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain pembakar spritus, kasa, corong kaca, cawan petri, penangas air, timbangan analitik, labu Erlenmayer, tabung reaksi, rak tabung, gelas ukur, corong pisah, inkas, jarum ose, kapas steril, pinset, blender, ayakan nomor 40, oven, batang pengaduk, seperangkat alat rotary evaporator, autoklaf, inkubator, Beaker glass, pipet ukur, kain flannel, cawan porselin, cawan petri, kertas saring, kaca obyek, deckglass, dan mikroskop.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga kasturi, bakteri *E. coli* ATCC 25922, media yang digunakan Brain Heart Infusion (BHI), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sulfide Indol Motilitas*(SIM), *Endo agar* (EA), *Kliger Iron Agar* (KIA), *Lysin Iron Agar* (LIA), Sitrat, bahan kimia yang digunakan metanol, *n*-heksan, etil asetat, air, *mc farland* 0,5%, aquadest steril, HCl, FeCl₃ 1%, spiritus, CH₃COOH, H₂SO₄, DMSO 1%, kloroform, cat Gram A, Gram B, Gram C, Gram D.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman mangga kasturi kemudian menetapkan kebenarannya sesuai dengan ciri-ciri morfologi tanaman secara makroskopis dan dengan acuan buku yang dibuktikan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan, Universitas Negeri Sebelas Maret. Tujuan dilakukannya determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian.

2. Penyiapan serbuk

Daun mangga kasturi dicuci bersih dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, lalu ditiriskan dan dipotong-potong kemudian ditimbang, setelah itu dioven pada suhu 40°C. Daun mangga kasturi yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun mangga kasturi yang mempunyai derajat kehalusan yang relatif homogen.

3. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi

Penetapan kadar air serbuk daun ungu dilakukan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun ungu 20 gram dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylen sampai serbuk terendam kemudian memasang alat *Sterling Bidwell*. Panaskan labu dengan hati-hati, dipanaskan dengan api kecil setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan jika pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % v/b (Kementrian Kesehatan RI 2013).

4. Penyiapan ekstrak metanol daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi dimasukkan ke dalam bejana lalu ditambahkan metanol dengan perbandingan 1:7,5. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali digojog, setelah itu dipisahkan antara filtrat dengan ampas menggunakan kain flannel. Ampas ditambah cairan penyari diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Filtrat yang diperoleh

dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40°C sehingga menjadi ekstrak metanol daun mangga kasturi yang pekat (Depkes 1986).

5. Uji bebas metanol ekstrak daun mangga kasturi

Ekstrak yang telah pekat diuji apakah sudah bebas dari metanol atau belum dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Ekstrak sudah bebas dari pelarut metanol ditunjukkan dengan tidak terbentuknya bau ester yang khas dari metanol pada uji esterifikasi (Aquariushinta 2015).

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun mangga kasturi

Identifikasi senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif daun mangga kasturi. Identifikasi kandungan senyawa kimia dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

6.1 Flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan caranya sebanyak 1 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif dicampur dengan 5 ml metanol, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan 3 tetes HCl pada masing-masing filtrat. Terbentuknya warna merah pada lapisan metanol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

6.2 Triterfenoid. Sebanyak 1 mg bahan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan 0,5 ml asam asetat anhidrida. Selanjutnya campuran ditetesi dengan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung tersebut. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol dan jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, menunjukkan adanya terpenoid (Jones dan Kinghorn 2006).

6.3 Tanin. Serbuk simplisia, ekstrak, fraksi teraktif ditambah 10 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan saring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah FeCl_3 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman (Robinson 1995)

6.4 Saponin. Identifikasi saponin, sebanyak 10 mL air panas dalam tabung reaksi didinginkan kemudian ditambahkan dengan 0,5 gram serbuk

simplisia, ekstrak dan fraksi teraktif lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 2005).

7. Fraksinasi dari ekstrak metanol daun mangga kasturi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun mangga kasturi didispersikan dengan pelarut metanol : air 75 mL, kemudian dilakukan fraksinasi 3 kali dengan pelarut *n*-heksan masing-masing 75 mL. Proses fraksinasi dilakukan dengan corong pisah, fraksi *n*-heksan terletak di atas dan fraksi air terletak di bawah. Fraksi *n*-heksan yang didapat dipekatkan menggunakan evaporator dengan suhu di bawah 40°C. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksan dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat dengan volume 75 mL. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat yang terletak di atas dan fraksi air di bagian bawah. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu di bawah 40°C dan fraksi air dipekatkan dengan menggunakan *water bath* pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ hasil disebut fraksi air.

8. Sterilisasi

Semua peralatan yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan dibungkus kertas dan disterilkan dengan oven pada suhu 200°C selama 1-2 jam dan media yang akan digunakan untuk uji mikrobiologi disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15-20 menit (Sari dkk 2010).

9. Pembuatan suspensi bakteri uji

2-3 koloni bakteri diambil dari stock bakteri *E. coli* ATCC 25922 lalu dimasukkan dalam BHI 2 ml, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian diambil 100-200 μl masing-masing dimasukkan kedalam tabung berisi 1 ml BHI, diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-5 jam, lalu diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai kerapatan bakteri sama dengan standar *Mc. Farland* 10^8CFU/ml kemudian dimasukan dalam media cair BHI sampai konsentrasi 10^6CFU/ml (Sari dkk 2010).

10. Identifikasi bakteri uji

10.1 Identifikasi koloni *Escherichia coli* ATCC 25922. Suspensi bakteri uji *E. coli* ATCC 25922 diinokulasikan pada media selektif Endo agar (EA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif jika penampakan koloni yang terjadi berwarna seperti kilat logam (Bonang & Koeswardono 1982).

10.2 Identifikasi mikroskopis *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan pewarnaan gram. Pewarnaan dilakukan untuk meyakinkan bahwa bakteri tersebut golongan *E. coli* ATCC 25922. Gram negatif didapatkan bila sel bakteri berwarna merah, bentuk bacilli berarti positif golongan *E. coli* ATCC 25922. Pewarnaan gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi Kristal violet (Gram A) sebagai pewarna utama pada kedua preparat sampai semua ulasan terwarnai, didiamkan selama kurang lebih 1 menit, lalu dicuci dengan aquadest mengalir kemudian ditetesi mordant (lugol iodine/ Gram B), didiamkan kurang lebih selama 1 menit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir dan dikeringkan lalu diangin-anginkan, preparat dilunturkan dengan peluntur Gram C (alkohol : acetone 1:1) dan didiamkan selama kurang lebih 45 detik, dicuci dengan aquadest mengalir kemudian preparat dikeringkan. Preparat ditetesi Safranin (Gram D) tunggu 45 detik, dicuci dengan aquadest mengalir kemudian dikeringkan preparat dengan kertas tissue yang ditempelkan disisi ulasan lalu didiamkan sampai mengering di udara (Volk & Wheeler 1988).

10.3 Identifikasi bakteri uji secara biokimia. Identifikasi uji biokimia menggunakan media SIM, KIA, LIA, dan Sitrat.

10.3.1 SIM (*Sulfide Indol Motilitas*). Biakan murni bakteri diinokulasikan pada permukaan media dengan cara ditusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya sulfide indol, dan motilitas. Uji sulfida positif bila media berwarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah reagen Ehrlich A dan B 5 tetes. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagella. Hasil

positif *E. coli* ditunjukkan *Sulfide* negatif, *Indol* positif, *Motility* positif (---) (Sri 2016).

10.3.2 KIA (*Kliger Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan caraditusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, asam dan gas. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, ada tidaknya gas serta terbentuknya warna hitam pada media. Uji positif bila pada bagian lereng akan berwarna merah (ditulis K), bagian dasar berwarna kuning (ditulis A), sulfide positif terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+). Pada bagian miring, jika bakteri dapat memfermentasi laktosa dan sakarosa, warna media berubah menjadi kuning. Hasil positif *E. coli* ditunjukkan A/AGS⁻ (Sri 2016).

10.3.3 LIA (*Lisin Iron Agar*). Biakan bakteri diinokolasikan pada media dengan cara ditusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfide dan deaminasi lisin. Selanjutnya diamati pada bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media menunjukkan uji sulfide positif. Hasil positif *E. coli* ditunjukkan K/KS⁻ (Sri 2016).

10.3.4 Sitrat. Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan caraditusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri yang memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon akan menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali, sehingga dengan adanya indikator brom thymol blue menyebabkan warna biru pada media. Uji ini positif bila media berwarna biru dan negatif jika media tetap berwarna hijau. Hasil positif *E. coli* ditunjukkan sitrat negatif (Sri 2016).

11. Uji aktivitas antibakteri daun mangga kasturi dengan metode difusi

Ekstrak metanol hasil maserasi dan ketiga sediaan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun mangga kasturi dibuat masing masing pada konsentrasi 25% yang didapatkan diuji secara mikrobiologi terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922. Metode yang digunakan adalah metode difusi cakram disk. Metode difusi digunakan untuk menentukan luas zona hambat terhadap bakteri uji. Metode difusi menggunakan cawan petri steril yang telah diisi dengan media MHA

sebanyak 30 mL. Larutan stok ekstrak dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kemudian diteteskan pada cakram lalu didiamkan pada suhu kamar selama 10-20 menit. Kemudian sebagai pembanding diletakkan pula kertas cakram kotrimoksazol dan sebagai kontrol negatif diletakkan pula kertas cakram yang telah ditetesi DMSO 1%. Replikasi dilakukan lima kali. Masa inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat disekitar cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun mangga kasturi memiliki daya hambat terhadap *E. coli* ATCC 25922.

12. Uji aktivitas antibakteri mangga kasturi dengan metode dilusi

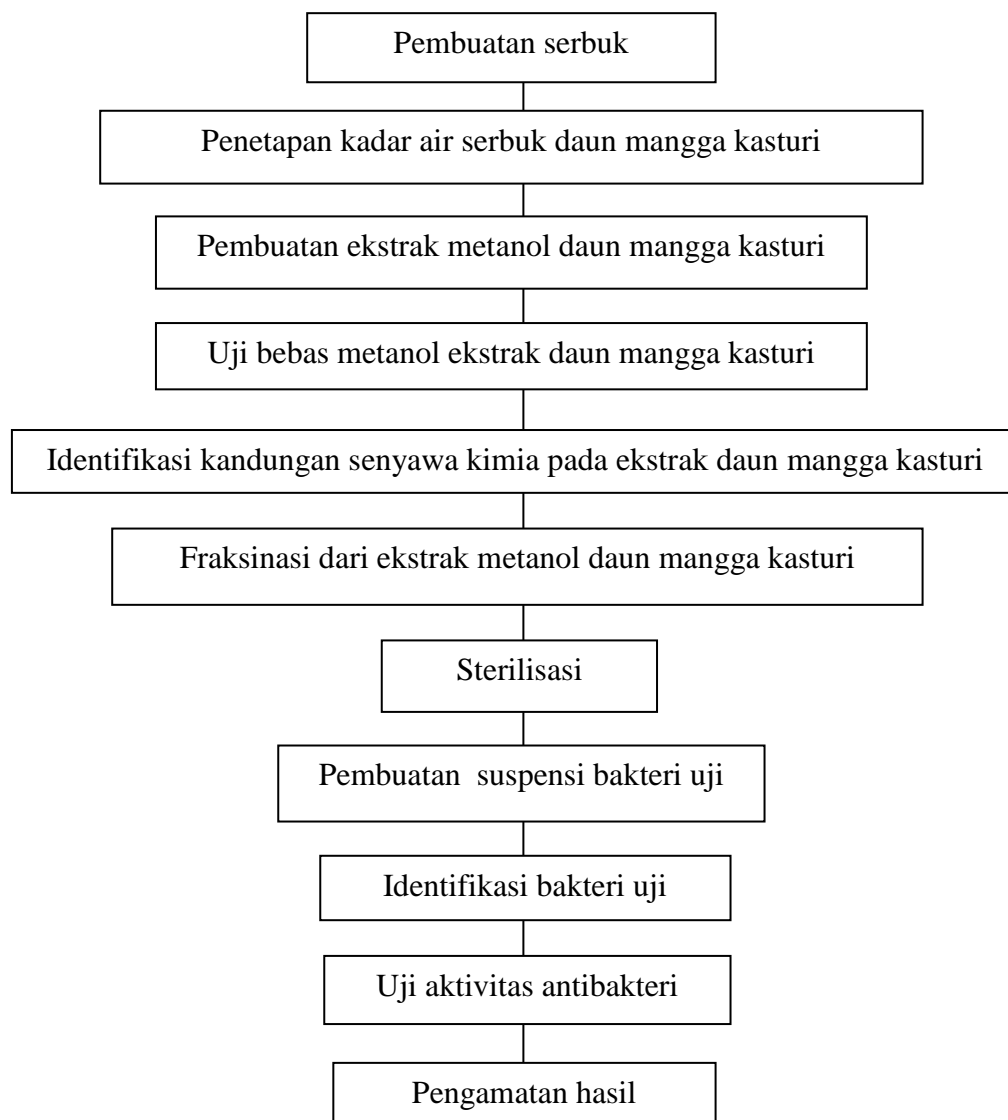
Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode dilusi. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 10 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis.

Metode dilusi dilakukan dengan memasukkan bahan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol positif dan tabung sebagai kontrol negatif. Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 1%. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19% ; 0,095%; 0,04%. Medium BHI dimasukkan dari tabung 2 sampai tabung 11 secara aseptis, pengenceran bertingkat dilakukan dari tabung kedua dipipet 0,5 mL dimasukkan kedalam tabung ketiga, dari tabung ketiga dipipet 0,5 mL dimasukkan kedalam tabung keempat dan begitu seterusnya sampai tabung kesepuluh. Suspensi bakteri dalam medium *Brain Heart Infusion* (BHI) dimasukkan ke dalam tiap tabung uji sebanyak 0,5 mL. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan melihat batas terendah tabung media yang jernih atau yang memberikan hasil negatif pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif untuk masing-masing bakteri uji. Tabung media diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24-48 jam. KBM

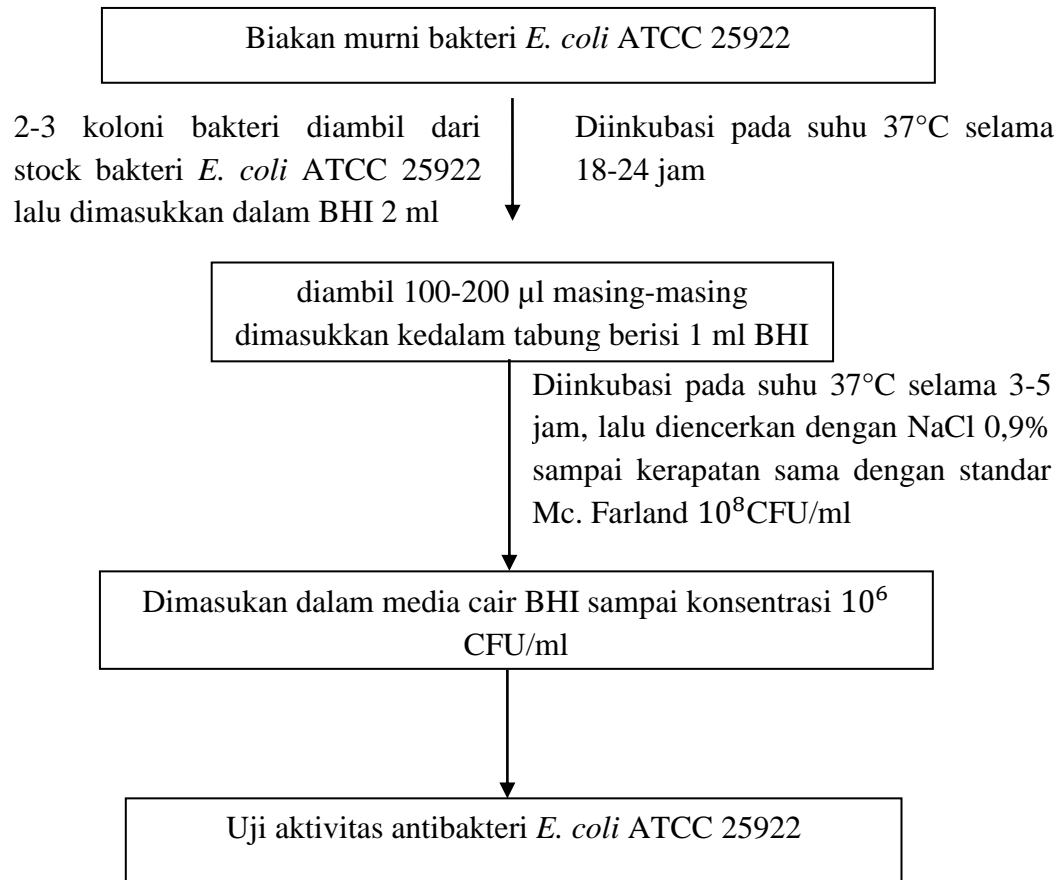
ditunjukkan oleh konsentrasi terendah fraksi teraktif tidak ada koloni pada media *Endo Agar*.

13. Pengamatan hasil

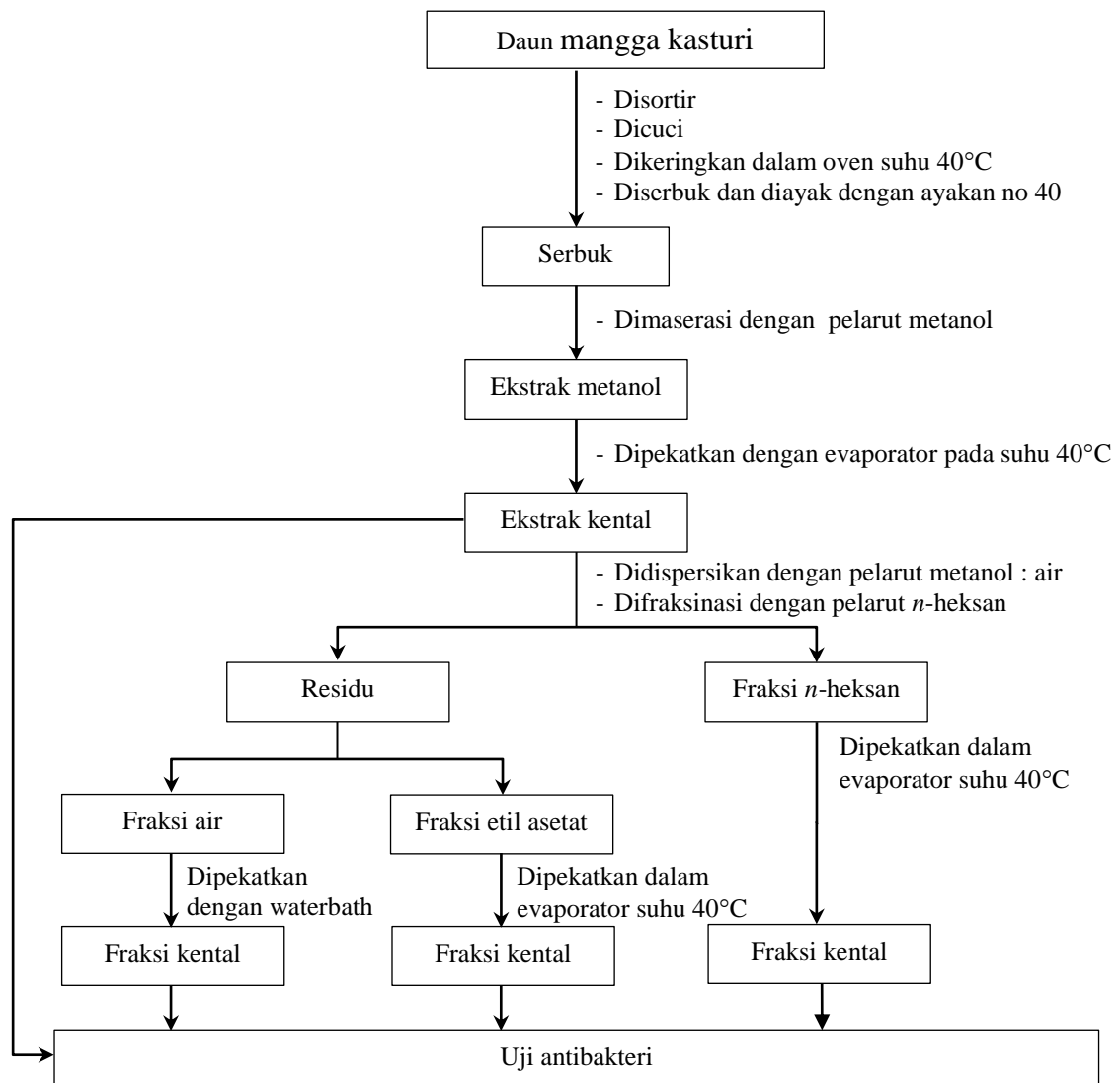
Analisis hasil yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan One Way ANOVA untuk metode difusi dan membandingkan hasil KHM dan KBM dari ekstrak metanol, Fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi dari lima kali replikasi pengujian terhadap *E. coli* ATCC 25922 secara dilusi.



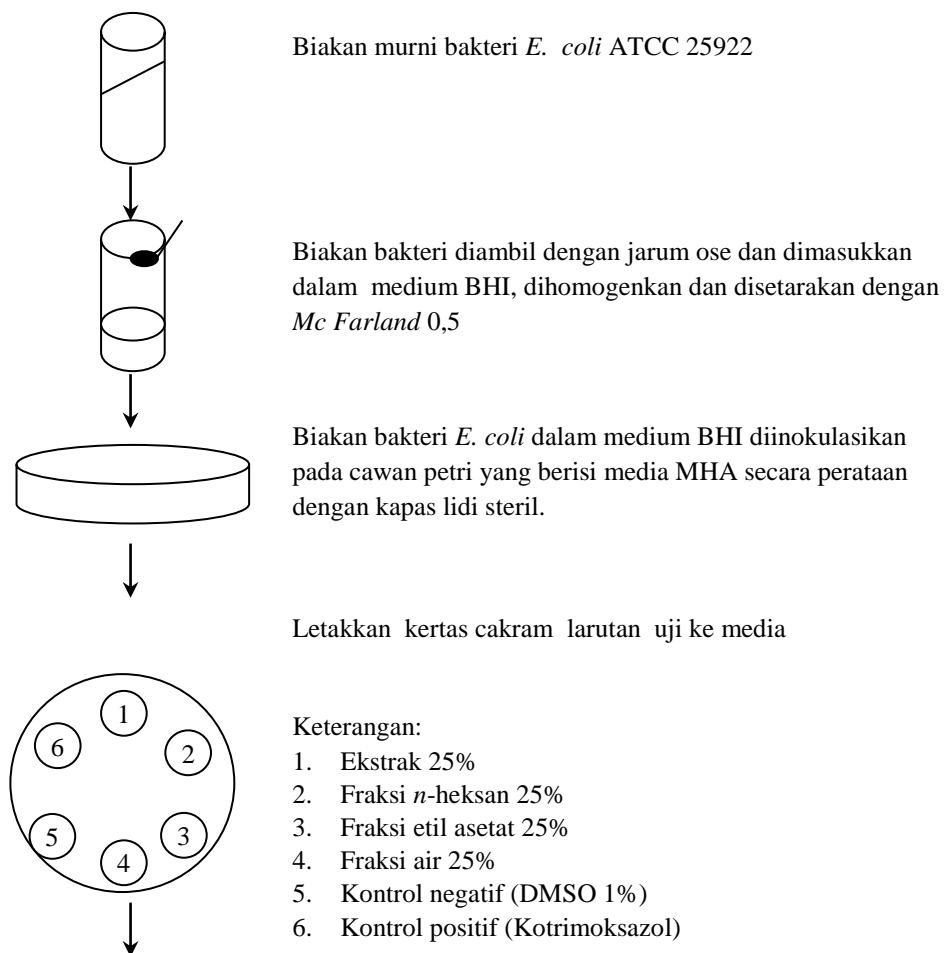
Gambar 2. Skema jalannya penelitian.



Gambar 3. Skema pembuatan suspensi bakteri.



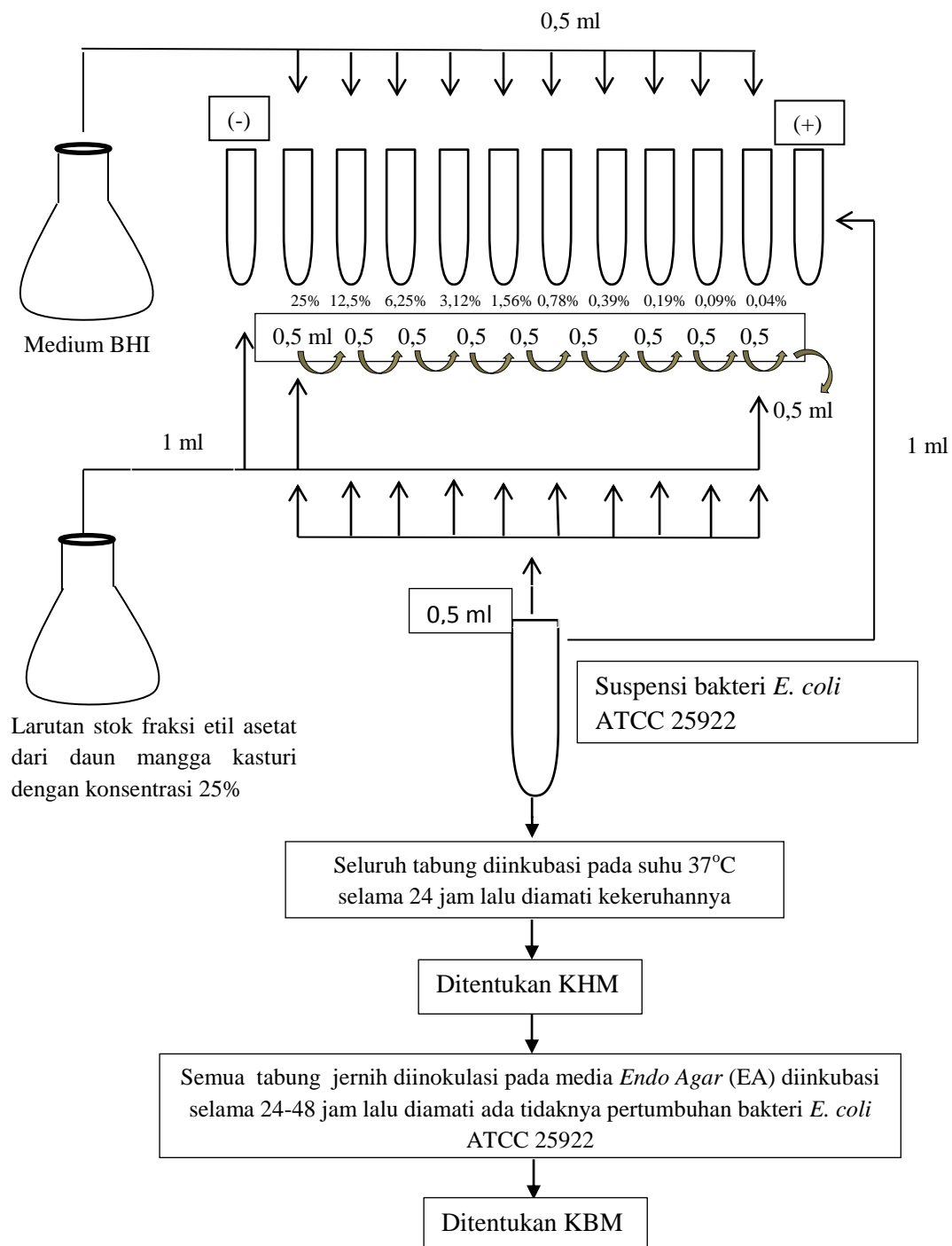
Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak metanol dan fraksi daun mangga kasturi.



Pengukuran diameter hambatan

Diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam

Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 secara difusi.



Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 secara dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman

Determinasi pada tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Negeri Sebelas maret Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan diteliti demi menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan kemungkinan tercampurnya dengan tanaman yang lain.

Hasil dari identifikasi yang telah dilakukan diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm). Hasil determinasi tanaman mangga kasturi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk daun mangga kasturi

2.1. Pengumpulan bahan. Daun mangga kasturi diambil pada bulan januari tahun 2017 secara acak dengan memilih daun yang berwarna hijau, tidak terlalu tua juga tidak terlalu muda, dari Kelurahan Bakungan, Kecamatan Loa Janan, Kabupaten Kutai Kartanegara.

2.2. Pengeringan dan penyerbukan daun mangga kasturi. Daun mangga kasturi dicuci bersih dengan air mengalir, dipotong-potong sedemikian rupa, lalu dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung setelah itu dimasukkan dalam oven pada suhu 45°C. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam tanaman, sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan simplisia oleh mikroorganisme lainnya. Daun mangga kasturi yang sudah kering kemudian dibuat serbuk dengan tujuan memperkecil ukuran partikel daun sehingga mempermudah kontak dengan pelarut dan penyarian dapat berlangsung secara efektif. Serbuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk yang telah dilakukan pengayakan menggunakan ayakan no. 40. Hasil rendemen pengeringan daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 1. Perhitungan pengeringan daun mangga kasturi dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah daun mangga kasturi

Bobot Basah	Bobot Kering	Rendemen
10 kg	3,25 kg	32,5%

Berdasarkan tabel 1 dapat dijelaskan dari pengambilan daun pada berat basah yaitu 10 kg setelah melalui tahap pengeringan dan penjemuran didapatkan bobot kering dari daun mangga kasturi yaitu 3,25 kg yang selanjutnya dilakukan perhitungan persen rendemen bobot kering daun terhadap bobot basah yaitu 32,5%.

3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi dilakukan uji penetapan kadar air menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Uji penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung dalam serbuk daun mangga kasturi. Persentase kadar air yang baik adalah kurang dari 10%. Kadar air yang tinggi dapat mempermudah pertumbuhan jamur begitu juga mikroorganisme lainnya sehingga dapat menyebabkan perubahan kimiawi yang dapat merusak dan menurunkan mutu dari serbuk. Hasil uji penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 2. Perhitungan uji penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 2. Penetapan kadar air serbuk dari daun mangga kasturi

No	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air
1	20	2,0	10,0%
2	20	1,7	8,50%
3	20	1,6	8,00%
Rata-rata			8,83%

Persentase rata-rata yang didapat dari uji penetapan kadar air pada serbuk daun mangga kasturi yaitu 8,83%, sehingga telah dinyatakan bahwa serbuk dari mangga kasturi memenuhi syarat yang telah ditentukan yaitu kurang dari 10% (Katno dkk 2008).

4. Hasil pembuatan ekstrak metanol daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi di ekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Maserasi merupakan metode yang digunakan dalam ekstraksi serbuk daun mangga kasturi. Ekstrak cair yang

diperoleh kemudian dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 40° C. Hasil pembuatan ekstrak metanol dari daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 3. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak dari daun mangga kasturi

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1000	167,8	16,78
1300	197,5	15,19

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari maserasi pertama adalah 167,8 gram dan pada maserasi kedua adalah 197,5 gram. Organoleptis pada ekstrak berwarna hijau tua, tekstur kental. Fraksinasi yang dilakukan terhadap ekstrak dengan menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air untuk memperoleh senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yang terkandung pada ekstrak daun mangga kasturi.

1. Hasil uji bebas metanol ekstrak daun mangga kasturi

Ekstrak dari daun mangga kasturi dilakukan dengan uji bebas metanol. Hasil pengujian bebas metanol ekstrak daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengujian bebas metanol dari ekstrak daun mangga kasturi

Esterifikasi	Hasil uji	Pustaka
Ekstrak + asam asetat + asam sulfat kemudian dipanaskan	Tidak berbau ester	Tidak berbau ester berarti sudah tidak ada metanol (Aquariushinta 2015)

Hasil dari uji bebas metanol yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga kasturi sudah bebas dari pelarutnya yaitu metanol, hasil ini ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester dari metanol. Uji bebas metanol dilakukan bertujuan untuk membuktikan bahwa pada ekstrak daun mangga kasturi sudah benar-benar bebas dari metanol, sehingga saat dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dipastikan bahwa yang membunuh bakteri bukan metanol tetapi ekstrak dari daun mangga kasturi.

5. Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun mangga kasturi

Hasil dari ekstraksi serbuk daun mangga kasturi selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan polaritas pelarutnya. *n*-heksan, etil

asetat dan air adalah pelarut yang digunakan dalam fraksinasi pada penelitian ini. Pelarut *n*-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar, etil asetat bersifat semi polar dan air bersifat polar. Hasil dari fraksi *n*-heksan dan etil asetat pada corong pisah terletak diatas sedangkan fraksi air terletak dibawah, hal tersebut terjadi karena air mempunyai berat jenis lebih besar dibandingkan dengan *n*-heksan dan etil asetat. Hasil fraksinasi dari daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 5. Perhitungan rendemen fraksinasi dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 5. Hasil total fraksi ekstrak dari daun mangga kasturi

Fraksi	Bobot ekstrak (gram)	Bobot hasil fraksi (gram)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksan	300,92	5,522	1,835
Etil asetat	300,92	56,281	18,702
Air	300,92	143,406	47,655

Tabel diatas menunjukkan hasil rendemen yang didapat pada setiap pelarut dimana fraksi air lebih besar dibanding etil asetat dan *n*-heksan, sedangkan fraksi etil asetat lebih besar dari pada *n*-heksan. Air merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam daun mangga kasturi lebih banyak mengandung senyawa yang bersifat polar. Organoleptis fraksi *n*-heksan berwarna hijau tua, fraksi etil asetat berwarna hijau tua dan fraksi air berwarna coklat.

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun mangga kasturi

Serbuk, ekstrak dan fraksi dari daun mangga kasturi dilakukan identifikasi kandungan senyawa kimianya. Kandungan senyawa kimia ini diidentifikasi dengan tujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat di dalam daun mangga kasturi. Hasil identifikasi serbuk dapat dilihat pada tabel 6. Foto hasil dari identifikasi dapat dilihat pada lampiran 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun mangga kasturi

Kandungan senyawa kimia	Pereaksi	Serbuk	Ekstrak	Keterangan	
				Serbuk	Ekstrak
Saponin	Uji Forth	Busa stabil	Busa stabil	+	+
Tanin	Uji Breamer's	Biru kehitaman	Biru kehitaman	+	+
Flavonoid	Wilstater sianidin	Merah /Jingga	Warna merah	+	+
Triterpenoid	Lieberman-burchad	Merah kecoklatan	Merah kecoklatan	+	+

Berdasarkan tabel di atas hasil identifikasi kandungan senyawa secara kualitatif serbuk dan juga ekstrak metanol dari daun mangga kasturi menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak mengandung golongan senyawa yaitu saponin, tanin, flavonoid dan triterpernoid. Fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air adalah fraksi yang akan di uji.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air

Kandungan senyawa kimia	Pereaksi	Hasil			Keterangan		
		<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Air	<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Air
Saponin	Uji Forth	Tidak terbentuk busa	Tidak terbentuk busa	Busa stabil	-	+	+
Tanin	Uji Breamer's	Hitam	Biru kehitaman	Biru kehitaman	-	+	+
Flavonoid	Wilstater sianidin	Hijau tua	Terbentuk warna merah	Cincin coklat	-	+	-
Triterpenoid	Lieberman-burchad	Coklat kemerahan	Warna merah kecoklatan	Coklat muda	+	+	+

Berdasarkan tabel 7 hasil identifikasi kandungan senyawa secara kualitatif fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan mengandung golongan senyawa triterpenoid lalu fraksi etil asetat mengandung golongan senyawa saponin, tanin, flavonoid, triterpenoid dan fraksi air mengandung golongan senyawa saponin, tanin, triterpenoid.

7. Hasil identifikasi *E. coli* ATCC 25922

7.1 Hasil identifikasi bakteri *E. coli* ATCC 25922 secara makroskopis. Bakteri *E. coli* ATCC 25922 diinokulasikan pada media selektif *Endo Agar* (EA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Berdasarkan pengamatan koloni yang dihasilkan berwarna merah dengan kilat logam yang

permanen. Warna koloni merah disebabkan oleh bakteri *E. coli* dan koliform memetabolisme laktosa menjadi aldehyd dan asam sehingga aldehyd bereaksi dengan fuchsin. Aldehyd akan melepaskan fuksin dari senyawa fuksin-sulfat kemudian akan mewarnai koloni merah dan akan terlihat berwarna seperti kilatan logam (Kartika dkk 2014). Gambar hasil identifikasi bakteri secara makroskopis dapat dilihat pada lampiran 15.

7.2 Hasil identifikasi mikroskopis bakteri *E. coli* ATCC 25922 dengan pewarnaan gram. Pewarnaan dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut golongan Gram negatif. Gram negatif didapatkan bila sel bakteri berwarna merah, bentuk basil / batang kecil yang berarti positif golongan *E. coli* ATCC 25922. Pewarnaan gram dilakukan dengan membuat preparat ulasan (smear) yang difiksasi kemudian ditetesi kristal violet (gram A) yang menyebabkan kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri. Penetesan mordant (*lugol iodine* / gram B) menyebabkan adanya ikatan kristal violet dengan *iodine* yang akan meningkatkan afinitas peningkatan zat warna oleh bakteri. Penetesan gram C (alkohol) menyebabkan pori-pori Gram negatif mengembang, Gram negatif memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga kompleks kristal violet keluar dari sel, menyebabkan membran sel menjadi bening sedangkan penetesan gram C (alkohol) pada gram positif maka dinding sel mengalami dehidrasi sehingga pori-pori menciut, daya rembes dinding sel dan membran menurun, kompleks kristal violet tidak dapat keluar dari sel karena itu sel tetap berwarna ungu. Penetesan safranin (gram D) akan mewarnai sel Gram negatif menjadi berwarna merah sedangkan sel Gram positif tetap berwarna ungu (Volk dan Wheller 1988). Gambar hasil identifikasi mikroskopis dapat dilihat pada lampiran 16.

7.3 Hasil identifikasi biokimia bakteri *E. coli* ATCC 25922. Bakteri ditanam dalam media SIM, KIA, LIA, dan Sitrat yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji biokimia berdasarkan tabel 8 dan gambar hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 17.

Tabel 8. Identifikasi uji biokimia pada bakteri *E. coli* ATCC 25922

Pengujian	Hasil	Pustaka (Sri 2016)
(SIM)	-++	-++
(KIA)	A/AG S(-)	A/AG S(-)
(LIA)	K/K S(-)	K/K S(-)
SITRAT	-	-

Keterangan:

SIM : Sulfida Indol Motilitas

KIA : Kliger Iron Agar

LIA : Lysine Iron Agar

A : Reaksi Asam

K : Reaksi Basa

G : Terbentuk gas

S : Terbentuk Sulfida (warna hitam)

Hasil pengujian pada medium SIM untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian bakteri *E. coli* ATCC 25922 pada media *Sulfida Indol Motility* (SIM) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil -++, artinya pada uji sulfida *E. coli* ATCC 25922 tidak dapat mereduksi thiosulfate sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media. Uji indol dilakukan dengan menambahkan tiga tetes Erlich A dan Erlich B menunjukkan hasil + dengan terbentuknya warna merah muda pada permukaan yang artinya bakteri *E. coli* ATCC 25922 membentuk indol dari tryptopan sebagai sumber karbon. Tryptopan merupakan suatu asam amino esensial yang dapat mengalami reaksi oksidasi dengan cara adanya kegiatan enzimatik bakteri. Uji motilitas positif ditunjukkan dengan adanya penyebaran yang berwarna putih seperti adanya akar disekitar inokulasi pada media SIM, hal ini menunjukkan adanya suatu pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel.

Pengujian bakteri *E. coli* ATCC 25922 pada media KIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil A/AGS (-). hasil pengujian pada medium KIA untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. A/A artinya pada lereng dan dasar media berwarna kuning yang menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* ATCC 25922 memfermentasi glukosa dan laktosa, karena bakteri tersebut mengubah indikator

fenol merah menjadi kuning, G artinya terbentuknya gas yang ditunjukkan dengan terangkatnya media, S (-) artinya uji H₂S negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media, karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam antara dasar dan lereng. Medium KIA mengandung laktosa dan glukosa dalam konsentrasi 1% laktosa, 0,1% glukosa, dan fenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam. Medium KIA juga mengandung sodium thiosulfate yaitu substrat untuk penghasil H₂S.

Pengujian bakteri *E. coli* ATCC 25922 pada media LIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil K/KS (-). Hasil pengujian pada medium LIA untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media karena warna pembenihan ini mengandung bromkresol ungu dari warna coklat menjadi warna ungu, S (-) artinya uji H₂S negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S, dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam (Volk dan Wheller 1988).

Pengujian bakteri *E. coli* ATCC 25922 pada media sitrat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil negatif sehingga warna media tetap hijau. Hasil pengujian pada medium sitrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Berdasarkan hasil menunjukkan bahwa *E. coli* ATCC 25922 tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Medium sitrat terdapat indikator BTB (*bromo thymol blue*) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan sitrat menyebabkan suasana basa dan asam akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru.

Berdasarkan dari hasil pengujian identifikasi yang telah dilakukan kemudian dibandingkan dengan pustaka menunjukkan bahwa bakteri yang diamati adalah *E. coli* ATCC 25922.

8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi

Fraksi yang didapatkan dari ekstrak daun mangga kasturi yaitu fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air yang kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922. Larutan stok ekstrak dan fraksi yang diujikan yaitu pada konsentrasi 25%. Pelarut yang digunakan untuk pengenceran konsentrasi adalah DMSO 1%. DMSO 1% digunakan sebagai kontrol negatif, pelarut ini merupakan pelarut yang digunakan dalam pembuatan konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air. DMSO diatas 10% dapat menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri, oleh karena itu DMSO 1% perlu diikuti sertakan dalam pengujian aktivitas antibakteri. Hasil pengujian dari DMSO 1% tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga daya hambat yang terbentuk benar-benar merupakan aktivitas dari masing-masing fraksi dan ekstrak metanol dari daun mangga kasturi.

Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kotrimoksazol dengan mekanisme kerja menghambat reaksi enzimatis obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba sehingga kombinasi kedua obat memberikan efek yang sinergis. Interaksi sinergistik kombinasi lebih efektif walaupun mikroba telah resisten selain itu frekuensi terjadinya resistensi terhadap kotrimoksazol lebih rendah (Ganiswara 2005).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun mangga kasturi terhadap *E. coli* ATCC 25922 dilakukan dengan metode difusi dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Daya antibakteri dari setiap ekstrak dan fraksi dapat dilihat dari ada tidaknya zona hambat di sekitar disk cakram yang ditandai dengan adanya daerah jernih yang diukur dalam satuan milimeter (mm), yang kemudian dibandingkan dengan kontrol positif yaitu antibiotik kotrimoksazol. Hasil uji aktivitas antibakteri metode difusi dapat dilihat pada tabel 9. Foto hasil metode difusi dapat dilihat pada lampiran 18.

Tabel 9. Hasil uji aktivitas antibakteri *E. coli* ATCC 25922 dengan metode difusi

Sediaan uji	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)					Rata-rata (mm) ± SD
		Replikasi					
		1	2	3	4	5	
Ekstrak	25%	9,30	10	10,3	13	10,3	10,5 ± 1,4
<i>n</i> -heksan	25%	7	8,6	8	8,6	9	8,2 ± 0,7
Etil asetat	25%	20	23	24	20	19	21,2 ± 2,16
Air	25%	9	9	9	8,6	9	8,9 ± 0,17
DMSO	5%	0	0	0	0	0	0,00 ± 0,00
Kotrimoksazol	25µg	25	25	25	25	25	25,0 ± 0,00

Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi pada fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak daun mangga kasturi terhadap *E. coli* ATCC 25922 menunjukkan adanya daya hambat yang dibuktikan dengan terdapatnya daerah jernih di sekitar disk cakram yang tidak ditumbuhi bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak daun mangga kasturi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* ATCC 25922.

Berdasarkan dari hasil statistik yang telah dilakukan didapatkan data bahwa fraksi etil asetat pada konsentrasi 25% memiliki zona hambat lebih tinggi dibandingkan dengan zona hambat dari fraksi air, fraksi *n*-heksan dan ekstrak pada konsentrasi 25%. Fraksi Etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri lebih tinggi karena di dalam fraksi etil asetat pada uji kandungan kimia senyawa memiliki hasil positif pada senyawa flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid. Berdasarkan penelitian Biswas dkk (2015) senyawa kimia yang ada di dalam daun *Mangifera indica* yaitu flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa yang paling berefek dari daun mangga kasturi terhadap bakteri adalah flavonoid sehingga fraksi etil asetat menjadi senyawa teraktif terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922.

9. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri secara Dilusi

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode dilusi, sediaan uji yang digunakan dalam metode ini adalah fraksi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang didapatkan dari metode difusi. Metode dilusi digunakan untuk mencari KHM dan KBM menggunakan fraksi yang terefektif yaitu fraksi etil asetat daun mangga kasturi. Seri konsentrasi yang digunakan yaitu

25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, 0,391%, 0,196%, 0,098%, 0,049% kontrol (+) dan kontrol (-). Antibiotik kotrimoksazol digunakan sebagai pembanding dalam metode difusi dan dilakukan juga pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi. Kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih dapat ditentukan sebagai Konsentrasi hambat minimum, tetapi hal ini sulit diamati karena warna dari larutan uji tersebut menutupi kejernihan pada tabung. KBM dapat ditentukan dengan cara masing-masing tabung larutan uji dilakukan penggoresan pada media EA, setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 10. Foto hasil uji dilusi fraksi etil asetat dapat dilihat pada lampiran 19 dan uji dilusi kotrimoksazol pada lampiran 20.

Tabel 9. Hasil uji dilusi fraksi etil asetat dan antibiotik kotrimoksazol

No	Konsentrasi (%)	Fraksi etil asetat Replikasi			Konsentrasi (%)	Kotrimoksazol Replikasi		
		I	II	III		I	II	III
1	25	-	-	-	4,8	-	-	-
2	12,5	-	-	-	2,4	-	-	-
3	6,25	-	-	-	1,2	-	-	-
4	3,125	-	-	-	0,6	-	-	-
5	1,56	+	+	+	0,3	-	-	-
6	0,78	+	+	+	0,15	+	+	+
7	0,39	+	+	+	0,075	+	+	+
8	0,19	+	+	+	0,0375	+	+	+
9	0,09	+	+	+	0,01875	+	+	+
10	0,04	+	+	+	0,0093745	+	+	+
11	K (+)	+	+	+	K (+)	+	+	+
12	K (-)	-	-	-	K (-)	-	-	-

Keterangan:

(+) = terdapat pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 25922

(-) = tidak terdapat pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 25922

Hasil yang didapatkan dari uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan diketahui bahwa fraksi etil asetat pada konsentrasi 3,125% mampu membunuh *E. coli* ATCC 25922, mekanisme flavonid sebagai antibakteri yang terkandung di dalam etil asetat memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki kembali (Prayudhani dkk 2012). sedangkan kotrimoksazol mampu membunuh bakteri *E. coli* ATCC 25922 pada konsentrasi 0,3%. Trimetropim dan sulfametoksazol bekerja dengan menghambat reaksi enzimatis obligat pada dua tahap yang berurutan pada

mikroba. Spektrum antibakteri trimethoprim sama dengan sulfametoksazol meskipun daya antibakterinya 20-100 kali lebih kuat daripada sulfametoksazol. *E. coli* ATCC 25922 merupakan salah satu mikroba yang peka terhadap kotrimoksazol. Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C seperti pembentukan purin dan beberapa asam amino. Trimetoprim menghambat enzim dihidrofolat reduktase mikroba secara selektif. Kombinasi ini mungkin efektif walupun mikroba telah resisten terhadap trimethoprim. Frekuensi terjadinya resistensi terhadap kotrimoksazol lebih rendah daripada masing-masing obat, karena mikroba yang resisten terhadap salah satu komponen lebih peka terhadap komponen yang lainnya. Sinergisme maksimum akan terjadi bila mikroba peka terhadap komponen (Ganiswara 2005). Dosis kotrimoksazol yang digunakan untuk infeksi saluran cerna yaitu 240 mg/5 ml sedangkan dosis yang digunakan terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 pada penelitian ini yaitu 48 mg/ml.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* ATCC 25922.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun mangga kasturi memiliki aktivitas antibakteri yang paling aktif terhadap *E. coli* ATCC 25922.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi etil asetat daun mangga kasturi terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 yaitu sebesar 3,125%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji aktivitas antibakteri dari daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan menggunakan metode lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji aktivitas antibakteri dari daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan menggunakan bakteri yang lain.

Ketiga, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk isolasi senyawa aktif yang terdapat di dalam fraksi etil asetat ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelnaser AE, Shinkichi T. 2010. *Preliminary phytochemical investigation on mango leaves*. World J Agric Sci. 6: 735-739.
- Abdurahman D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian*, PT. Grafindo Media Pratama, Jakarta.
- Agustrina G. 2011. Potensi Propolis Lebah Madu *Apis malifera* Spp sebagai bahan Antibakteri (Skripsi). Bogor. Hlm 1-2.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* jurnal *FKIP Universitas Lambung Mangkurat. Bioscientiae* 1 halaman (31-38).
- Akbar HR. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan (Skripsi). Bogor: IPB.
- Andriyani S. 2013. *Upaya Konservasi Kasturi (Mangifera casturi)*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Bogor, <http://forplan.or.id/images/File/Apforgen/flyer/2010/kasturi.pdf>[3 September 2016].
- Anief M. 2003. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktek*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hlm 168-169.
- Anonim. 2010. *Informasi Spesialite Obat Indonesia*. Jakarta. Penerbit: ISFI. Vol: 44, hal: 158.
- Anonim. 2012. *Update management of infectious disease and gastrointestinal disorders*. Departemen ilmu kesehatan anak FKUI- RSCM : Jakarta. Hal: 71
- Antarlina SS. 2009. Identifikasi sifat fisik dan kimia buah-buahan lokal Kalimantan. *Buletin Plasma Nutfah* 15: 80-90.
- Aquariushinta N. 2015. Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata* L.). *Jurnal kefarmasian Indonesia*. Vol: 5, hal: 74-82.
- Ayala-Silva T, Hamide G, Cristina U. 2013. Physico-chemical Evaluation of `Casturi` Mango. *Jurnal Proc fla. State Hort*. Vol: 126, hal: 17-20.
- Balitbang Kemenkes RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.

- Baswarsiati, Yuniarti. 2007. Karakter morfologis dan beberapa keunggulan mangga Podang Urang. *Buletin Plasma Nutfah* 13: 62-69.
- Billy S, Karneli, Yusneli. 2015. Pengaruh Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava linn*) Dan Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camilia sinensis*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* In Vitro Dan Perbandingannya Dengan Kotrimoksazol. *Jurnal Poltekes Palembang*.
- Biswas T, Sen A, Roy R, Maji S, Maji HS. 2015. Isolation of Mangiferin from Flowering Buds of *Mangifera indica* L. and its Evaluation of *in vitro* Antibacterial Activity. *Research & Reviews: Journal of Pharmaceutical Analysis*.
- Bonang, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya. PT Gramedia.
- [Depkes RI], 1986, *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm 4-11, 25-26.
- [Depkes RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 3-12.
- [Depkes RI]. 2005. *Materia Medika Indonesia. Jilid III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 301-304.
- [Depkes RI]. 2011. Riset kesehatan dasar. Jakarta: badan penelitian dan pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fakhrudin N, Peni SP, Sutomo, Subagus W. 2013. Antiinflammatory Activity Of Methanolic Extract Of *Mangifera Casturi* In Thioglycollate-Induced Leukocyte On Mice, *Trad. Med. J*, 18 (3): 151-156.
- Firdausi I, Rurini R, Sutrisno. 2015. Fraksinasi ekstrak metanol semi daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* koesterm) dengan pelarut *n*-Butanol. *Jurnal kimia student*. Vol: 1, hal: 787.
- Ganiswara. 2005. *Farmakologi dan terapi*. Edisi 4. Jakarta: Gaya Baru. Hlm 571-596
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 9-13.
- Gunawan SG, Setia BR, Nafrialdi, Elysabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. ED ke 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. Hlm 585-587, 605-608.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasis P, Iwang S. Penerjemah; Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: Phytochemical Methods.

- Heinrich, Michael, Joanne B, Simon G, Elizabeth M, Williamson. 2014. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Terjemahan oleh Amalia H. Hadinata. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hermawan A. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. *Article ilmiah*, Universitas Airlangga.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Editor edisi bahasa Adisti aditya putri *et al*, Jakarta: EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Edisi XVI. Dokter Bonang H, penerjemah; Jakarta: Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Medical Mikrobiology 2thEd*. The McGraw Hill Companies, USA.
- Jones WP, Kinghorn AD. 2006. Extraction of Plant Secondary Metabolites. In: Sarker SD, Latif Z, Gray AI, eds. *Natural Products Isolation. 2nd Ed*. New Jersey: Humana Press.
- Kartika E, Khotimah S, Yanti AH. 2014. Deteksi Bakteri Indikator Keamanan Pangan Pada Sosis Daging Ayam Di Pasar Flamboyan Pontianak, *Jurnal Protobiont*. Pontianak: Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura.
- Katno, Kusumadewi AW, Sutjipto. 2008. Pengaruh waktu pengeringan terhadap kadar tanin daun jati Belanda (*Guazuma ulmi folia Lamk.*). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia* 1: 38-46.
- Katzung, Bertram G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta. EGC. Hal: 778.
- Kemenkes RI. 2011. *Situasi Diare di Indonesia*. Tersedia dari URL: http://www.depkes.go.id/downloads/Buletin%20Diare_Final.pdf[6 September 2016].
- Kumalasari E, Sulistyani N. 2011. Aktivitas Antifungi ekstrak etanol batang binahong (*Anrederacordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 1(2): 51-62, 59-60.
- Kusumaningsih A. 2010. Beberapa Bakteri Patogenik Penyebab *Food borne Disease* Pada Bahan Pangan Asal Ternak. *Wartazoa* 20:103-111.
- Mustikasari K, Ariyani D. 2008. Study potensi binjai (*Mangifera caesia*) dan kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai antidiabetes melalui skrining fitokimia pada akar dan batang. *Jurnal sains dan terapi kimia*. Vol: 2, Hal: 64-73.

- Parves GMM. 2016. Pharmacological Activities of Mango (*Mangifera indica*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. E-ISSN: 2278-4136.
- Pratiwi, ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta. Penerbit Erlangga. Hal: 136, 190.
- Prayudhani MF, Utami SH, Endang S. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kercik (*Manilkara kauki* L Dubard) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal SMK Negeri 1 Pasuruan dan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang*.
- Putri HL, Retnowati R, Suratmo. 2015. Fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* koestem). *Jurnal kimia student*. Malang. Universitas Brawijaya Malang. Vol: 1, hal: 772-777
- Putri WS, Warditiani, NK, Larasanty LPF. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Udayana, Bali.
- Radji M. 2010. *Mikrobiologi*. Jakarta: Buku Kedokteran ECG. Hal: 29-32, 68, 125, 127-129.
- Rijayanti RP. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Kosasih Padwawinata, penerjemah, Bandung, Institut Teknologi Bandung.
- Rostinawati T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap *Escherichia Coli*, *Salmonella Typhi* Dan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Agar. Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.
- Rosyidah K, Nurmuhaimina SA, Komari N, Astuti MD. 2010. Antibakteri fraksi saponin dari batang tumbuhan kasturi (*Mangifera*). *Alchemy Journal of Chemistry* vol. 1 No. 2.
- Sari YD, Sitti ND, Laela HN. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Secara In Vitro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Kesmas* ISSN 1978-0575: 218-238
- Sasika S. 2011. *Ensiklopedi Penyakit Menular Dan Infeksi*. Yogyakarta. Penerbit: Familia. Hal: 1.

- Seidel V. 2006. *Initial and bulk extraction*. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa (New jersey). Humana Press Inc. Hal. 5-35
- Shaban AEA. 2009. Vegetative growth cycles of some mango cultivars in relation to flowering and fruiting. *World J Agric Sci* 5: 751-759.
- Shulman ST, Phair JP, Sommers HM. 1994. *Dasar Biologis & Klinis Penyakit Infeksi edisi keempat*. Wahab AS, penerjemah;. Sutaryo, penyunting;. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hal: 2
- Sri Harti. 2016. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta. Penerbit: Andi. Hal: 186-193.
- Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AAP. 2013. *ISO Farmakoterapi Buku 1*. Jakarta : ISFI penerbitan. Hlm. 741-743.
- Suraatmaja S. 2007. *Kapita Selekta Gastroenterologi Anak*. Jakarta. Sagung Seto : 1-5. 11-12.
- Syah MI, Suwendar, Mulqie L . 2015. Uji aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L`Arumanis`) pada Mencit Swiss Webster jantan dengan Metode Tes Toleransi Glukosa Oral (Ttgo). *Jurnal penelitian spesia*. Bandung. Universitas Islam Bandung. Hal: 297-303.
- Tanaya V, Rurini R, Suratmo. 2015. Fraksi semi polar dari daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* koesterm). *Jurnal kimia student*. Vol: 1, hal: 778-784.
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. Skrining Fitokimia dan Ekstraksi. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 7:98-106.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Noerono S, penerjemah; Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal: 566-567.
- Volk, Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jilid I. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammmadiyah Malang. Hal: 63.
- Wardhani LK, Sulistyani N. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella Flexneri* beserta profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2:1-16.

Widyarto A. 2009. Uji Aktifitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Keprok (*Citrus nobilis lour.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

L

A

M

P

J

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 863375 Fax (0271) 863375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 66/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -
Nama Pemesan : H. Rahmad
NIM : 19133853A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Mangifera casturi* Kosterm.
Familia : Anacardiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr.(1963, 1965) dan A. J. G. H. Kostermans & J. M. Bompard (1993):

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78a-79b-80a-81b-86b-87a-88b-89b-91c-95b

141. Anacardiaceae

1a-2a-3a-4a

2. *Mangifera*

1 *Mangifera casturi* Kosterm.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tumbuh tegak, tinggi bisa mencapai 25 m. Akar : tunggang, bercabang-cabang, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Batang : bentuk bulat, berkayu, diameter batang 40-115 cm, kulit batang berwarna putih keabu-abuan sampai coklat terang, permukaan gundul dan licin tapi pecah-pecah atau retak. Daun : tunggal, letak berseling, bentuk lanset memanjang, panjang 10-25 cm, lebar 3-9 cm, pangkal runcing, tepi daun rata, ujung runcing hingga meruncing, permukaan licin dan gundul, tulang daun menyirip, dengan 12-25 tulang cabang, kaku seperti kulit, merah kecoklatan hingga ungu tua ketika muda dan hijau hingga hijau tua setelah dewasa; tangkai daun bulat, pipih pada permukaan atas, menebal pada bagian pangkal, gundul, panjang 5-8 cm. Bunga : majemuk malai rata dengan banyak kuntum bunga, panjang ibu tangkai bunga sekitar 28 cm, muncul di ujung ranting, bunga kecil-kecil, berbau harum, berkelamin dua (biseksual), bagian-bagian bunga berbilangan 5, panjang tangkai bunga 2-4 mm; kelopak bunga berbentuk seperti mangkuk, bertaju 5, tajuk kelopak bulat telur memanjang, panjang 2-3 mm, warna hijau; daun mahkota bunga 5, berlepasan, bulat telur memanjang, berwarna putih kehijauan, berbau harum; benang sari berjumlah 5; putik berjumlah 1. Buah : buah batu, bentuk bulat hingga ellipsoid, panjang 5-8 cm, lebar 4-6 cm, hijau keunguan ketika muda dan ungu tua ketika masak, permukaan licin dan mengkilat, daging buah putih ketika muda dan kuning tua hingga oranye ketika masak, berserabut. Biji : 1 biji per buah, bentuk pipih memanjang, berserabut, warna putih.

Surakarta, 15 Maret 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660114 198003 2 001

Lampiran 2. Tanaman dan serbuk daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm)



Gambar tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm)



Gambar serbuk daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm)

Lampiran 3. *Sterling-bidwell*, Inkubator dan Evaporator



Sterling-bidwell



Inkubator



Evaporator

Lampiran 4. Maserasi dan hasil fraksi *n*-heksan dan etil asetat.



Maserasi

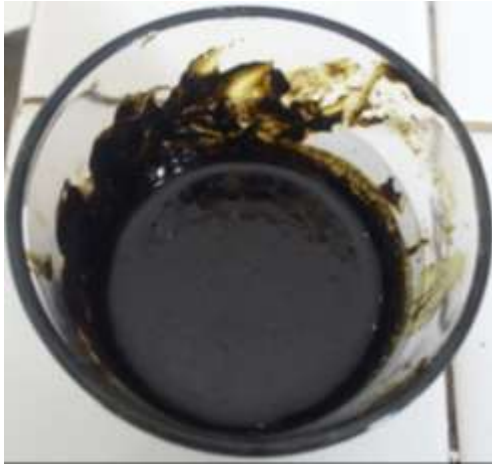


Fraksi *n*-heksan



Fraksi etil asetat

Lampiran 5. Foto ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun mangga kasturi



Ekstrak



Fraksi *n*-heksan



Fraksi etil asetat



Fraksi air

Lampiran 6. Foto hasil uji kandungan senyawa serbuk, ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air

Foto hasil uji kandungan senyawa serbuk dan ekstrak dari daun mangga kasturi



Saponin serbuk



Flavonoid serbuk



Tanin serbuk



Saponin ekstrak



Flavonoid ekstrak



Tanin ekstrak















Triterpenoid serbuk



Triterpenoid ekstrak

Foto hasil uji kandungan senyawa fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun mangga kasturi

Senyawa	Fraksi		
	<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Air
Saponin			
Tanin			
Triterpenoid			
Flavonoid			

Lampiran 7. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun mangga kasturi

Bobot Basah	Bobot Kering	Rendemen
10 kg	3,25 kg	32,5%

$$\text{Perhitungan persentase bobot kering} = \frac{\text{bobot kering (kg)}}{\text{bobot basah (kg)}} \times 100\%$$

$$= \frac{3,25}{10} \times 100\%$$

$$= 32,5\% \text{ b/b}$$

Lampiran 8. Hasil persentase penetapan kadar air daun mangga kasturi

No	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air
1	20	2,0	10,0%
2	20	1,7	8,50%
3	20	1,6	8,00%
Rata-rata			8,83%

$$\text{Perhitungan persentase penetapan kadar air} = \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air I} = \frac{2,0}{20} \times 100\%$$

$$= 10,0\%$$

$$\text{Kadar air II} = \frac{1,7}{20} \times 100\%$$

$$= 8,50\%$$

$$\text{Kadar air III} = \frac{1,6}{20} \times 100\%$$

$$= 8,00\%$$

$$\text{Rata-rata persentase kadar air} = \frac{10,0\% + 8,50\% + 8,00\%}{3} = 8,83\%$$

Lampiran 9. Rendemen ekstrak metanol dari daun mangga kasturi

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1000	167,8	16,78
1300	197,5	15,19

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{167,8}{1000} \times 100\%$$

$$= 16,78\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{197,5}{1300} \times 100\%$$

$$= 15,19\%$$

Lampiran 10. Hasil perhitungan rendemen fraksinasi

$$\text{Perhitungan rendemen fraksi} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

1. Fraksi *n*-heksan

$$\begin{aligned} \bullet \quad \% \text{ Rendemen fraksi} &= \frac{5,522}{300,92} \times 100 \% \\ &= 1,835 \% \end{aligned}$$

2. Fraksi etil asetat

$$\begin{aligned} \bullet \quad \% \text{ Rendemen fraksi} &= \frac{56,281}{300,92} \times 100 \% \\ &= 18,702 \% \end{aligned}$$

3. Fraksi air

$$\begin{aligned} \bullet \quad \% \text{ Rendemen fraksi} &= \frac{143,406}{300,92} \times 100 \% \\ &= 47,655 \% \end{aligned}$$

Lampiran 11. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air metode difusi

1. Konsentrasi 50%

Menimbang 1 g ekstrak dilarutkan dengan DMSO 1% sampai 2 ml

2. Konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \text{ ml} \cdot 25\%$$

$$V_1 \cdot 50\% = 25\%$$

$$V_1 = \frac{25\%}{50\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah DMSO 1% sampai 1 ml.

Lampiran 12. Pembuatan konsentrasi fraksi etil asetat metode dilusi

Fraksi etil asetat daun mangga kasturi

Menimbang 6 gram fraksi etil asetat dalam vial larutkan dengan 12 ml DMSO 1%.

Tabel perhitungan seri konsentrasi fraksi etil asetat metode dilusi						
No	Konsentrasi (%)	V1	N1	V2	N2	Keterangan
1	25	-	-	-	-	1 ml larutan stok
2	25	-	-	-	-	1 ml larutan stok
3	12,5	0,5	25	1	12,5	0,5 ml tab. 2 + BHI ad 1 ml
4	6,25	0,5	12,5	1	6,25	0,5 ml tab. 3 + BHI ad 1 ml
5	3,125	0,5	6,25	1	3,125	0,5 ml tab. 4 + BHI ad 1 ml
6	1,56	0,5	3,125	1	1,56	0,5 ml tab. 5 + BHI ad 1 ml
7	0,78	0,5	1,56	1	0,78	0,5 ml tab. 6 + BHI ad 1 ml
8	0,39	0,5	0,78	1	0,39	0,5 ml tab. 7 + BHI ad 1 ml
9	0,19	0,5	0,39	1	0,19	0,5 ml tab. 8 + BHI ad 1 ml
10	0,09	0,5	0,19	1	0,09	0,5 ml tab. 9 + BHI ad 1 ml
11	0,04	0,5	0,09	1	0,04	0,5 ml tab. 10 + BHI ad 1 ml
12	-	-	-	-	-	1 ml suspensi bakteri

Keterangan :

Tabung 1 = kontrol negatif

Tabung 3 = konsentrasi 12,5%

$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$

$V1 \cdot 25\% = 1 \text{ ml} \cdot 12,5\%$

$V1 = 0,5 \text{ ml}$

Tabung 12 = kontrol positif suspensi bakteri 1 ml

Tabung 2 - 11 ditambah 0,5 ml suspensi bakteri

Lampiran 13. Pembuatan konsentrasi dan dilusi kotrimoksazol

Perhitungan seri konsentrasi kotrimoksazol pada uji dilusi adalah sebagai berikut :

Kotrimoksazol terdiri dari 200 mg sulfametoksazol dan 40 mg trimetrophim / 5 ml. Dalam 5 ml terdapat kombinasi sulfametoksazol dan trimetrophim sebesar 4% b/v dan 0,8% b/v dalam suspensi kotrimoksazol.

No	Konsentrasi (%)	V1	N1	V2	N2	Keterangan
1	4,8	-	-	-	-	1 ml larutan stok
2	4,8	-	-	-	-	1 ml larutan stok
3	2,4	0,5	4,8	1	2,4	0,5 ml tab. 2 + BHI ad 1 ml
4	1,2	0,5	2,4	1	1,2	0,5 ml tab. 3 + BHI ad 1 ml
5	0,6	0,5	1,2	1	0,6	0,5 ml tab. 4 + BHI ad 1 ml
6	0,30	0,5	0,6	1	0,3	0,5 ml tab. 5 + BHI ad 1 ml
7	0,15	0,5	0,30	1	0,15	0,5 ml tab. 6 + BHI ad 1 ml
8	0,075	0,5	0,15	1	0,075	0,5 ml tab. 7 + BHI ad 1 ml
9	0,0375	0,5	0,75	1	0,0375	0,5 ml tab. 8 + BHI ad 1 ml
10	0,01875	0,5	0,375	1	0,01875	0,5 ml tab. 9 + BHI ad 1 ml
11	0,0085	0,5	0,0187	1	0,0085	0,5 ml tab.10 + BHI ad 1 ml lalu buang 0,5 ml

Lampiran 14. Pembuatan Media

1. Formulasi dan pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA)

- Beef, dehydrated infusion 300 g
- Casien hydrolysate 17,5 g
- Strach 1,5 g
- Agar-Agar 17 g
- Suspensikan 38 g bahan diatas dalam 1000 ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Formulasi Endo Agar (EA)

- Pepton from meat 10 g
- Di potassium hydrogen fosfat 3,5 g
- Laktosa 10 g
- Sodium sulfit 2,5 g
- Fuchsin 0,4 g
- Agar-agar 12,5 g
- pH 7,4
- Suspensikan 38 g bahan diatas dengan aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna kemudian tambah 1 ml reagen natrium sulfit 10% aduk ad homogen. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Formulasi dan pembuatan Brain Heart Infusion (BHI)

- Brain infusion 12,5 g
- Heart infusion 5 g
- Fructose peptone 10 g
- Glucose 2 g
- Sodium chloride 5 g
- di-sodium hydrogen phosphate 2,5 g

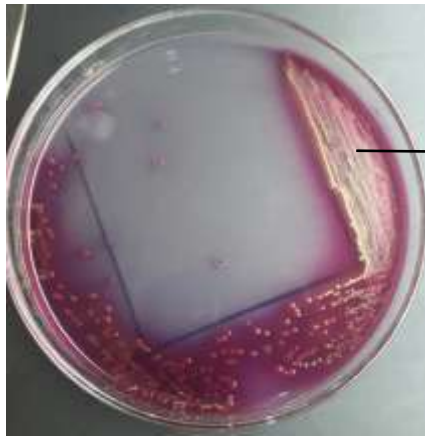
- Suspensi 37 g bahan diatas dalam 1000 ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
4. Formulasi dan pembuatan Sulfide Indol Motility (SIM)
- Peptone from casein 12,5 g
 - Peptone from meat 5 g
 - Ammonium iron (II) citrate 10 g
 - Sodium thiousulfate 0,2 g
 - Agar-agar 0,2 g
 - Suspensikan 30 g bahan diatas dalam 1000 ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
5. Formulasi dan pembuatan Kliger Iron Agar (KIA)
- Peptone from casein 15 g
 - Peptone from meat 5 g
 - Ammonium Iron (II) citrate 0,5 g
 - Meat extract 3 g
 - Yeast extract 3 g
 - Sodium chloride 0,2 g
 - Laktosa 0,2 g
 - Glukosa 1 g
 - Sodium thiosulfate 0,5 g
 - Phenol red 0,024 g
 - Agar-Agar 12 g
 - pH 7,4
 - Suspensikan 55 g bahan diatas dalam 1000 ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada Autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
6. Formulasi dan pembuatan Lysine Iron Agar (LIA)
- Peptone from casein 5 g

- Yeast extract 3 g
- Glukosa 1 g
- Lysine monohidrochloride 10 g
- Sodium thiosulfate 0,04 g
- Ammonium Iron (II) citrate 0,5
- Bromo cresol purple 0,02 g
- Agar-agar 0,2 g
- Suspensikan 32 g bahan diatas dalam 1000 ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

7. Formulasi dan pembuatan Sitrat Agar

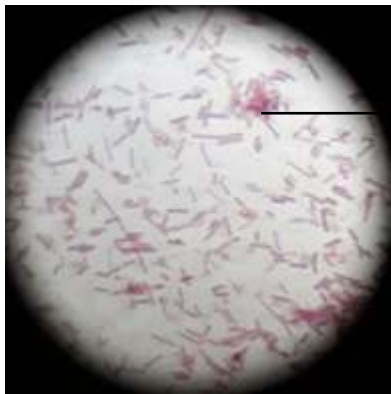
- Ammonium hydrogen fosfat 1 g
- Di-pottasium hydrogen phosphate 3 g
- Sodium chloride 5 g
- Magnesium sulfat 0,2 g
- Bromo thymol blue 0,08 g
- Agar-agar 12,5 g
- Suspensikan 23 g bahan diatas dalam 1000 ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

Lampiran 15. Hasil identifikasi bakteri *E. coli* ATCC 25922 makroskopis



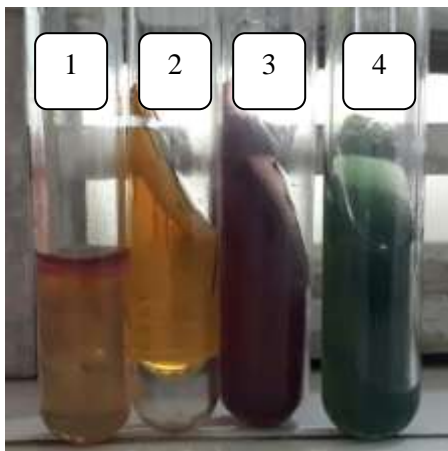
Koloni *E. coli*
berwarna kilat
logam

Lampiran 16. Hasil identifikasi bakteri *E. coli* ATCC 25922 mikroskopis



Warna merah
berbentuk
basil / batang
kecil positif
golongan *E.*
coli ATCC
25922

Lampiran 17. Identifikasi biokimia pada *E. coli* ATCC 25922



Keterangan gambar:

- 1 : Sulfida Indol Motilitas (SIM)
- 2 : Kliger Iron Agar (KIA)
- 3 : Lysine Iron Agar (LIA)
- 4 : Sitrat

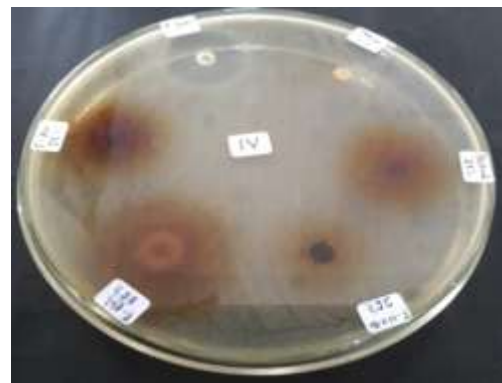
Lampiran 18. Foto hasil uji aktivitas antibakteri metode difusi

Foto difusi konsentrasi 25%

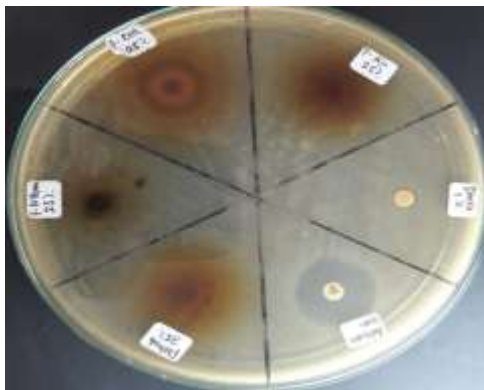
Replikasi si I



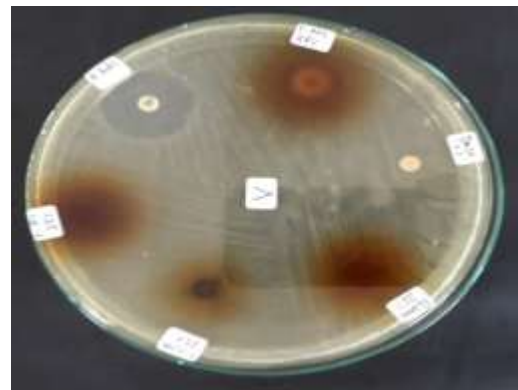
Replikasi IV



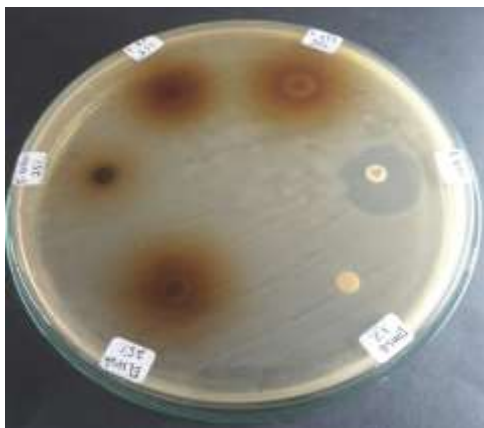
Replikasi II



Replikasi V



Replikasi III

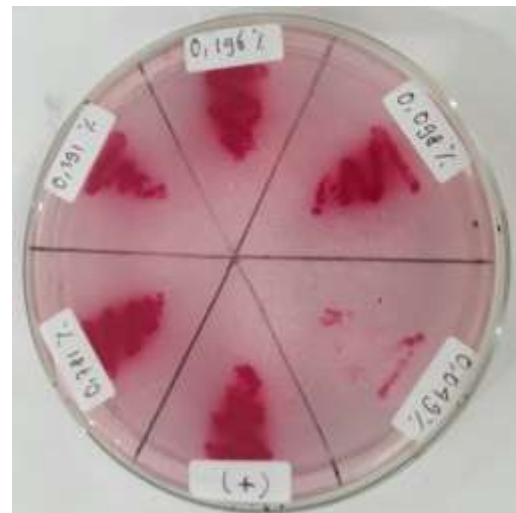
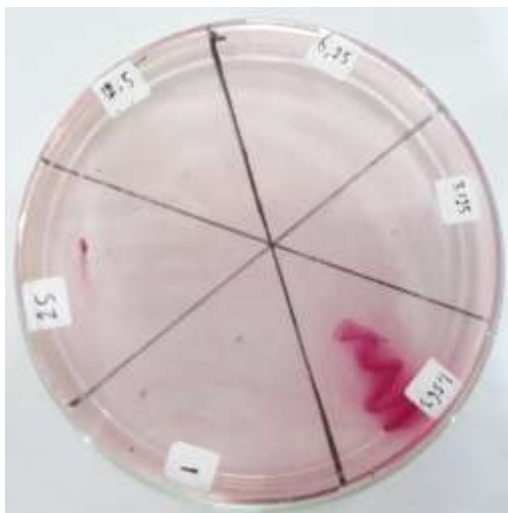


Lampiran 19. Foto hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat metode dilusi

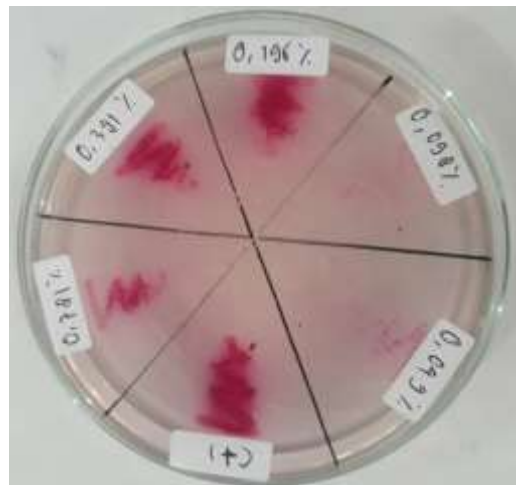
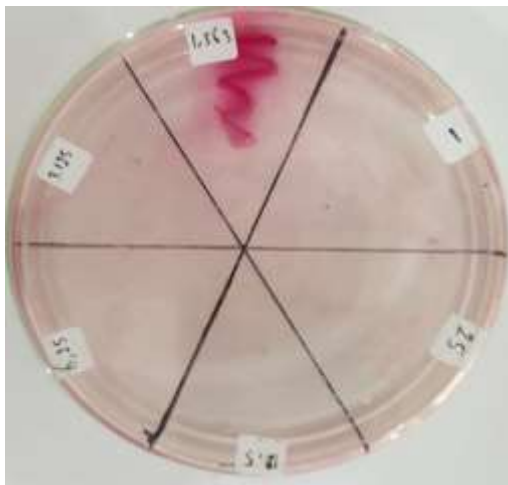


Tabung dilusi fraksi etil asetat

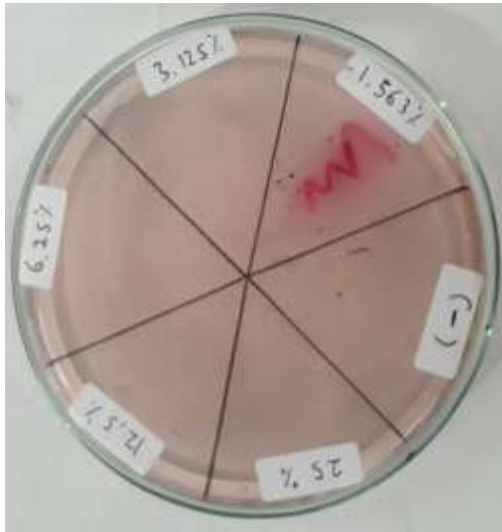
Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

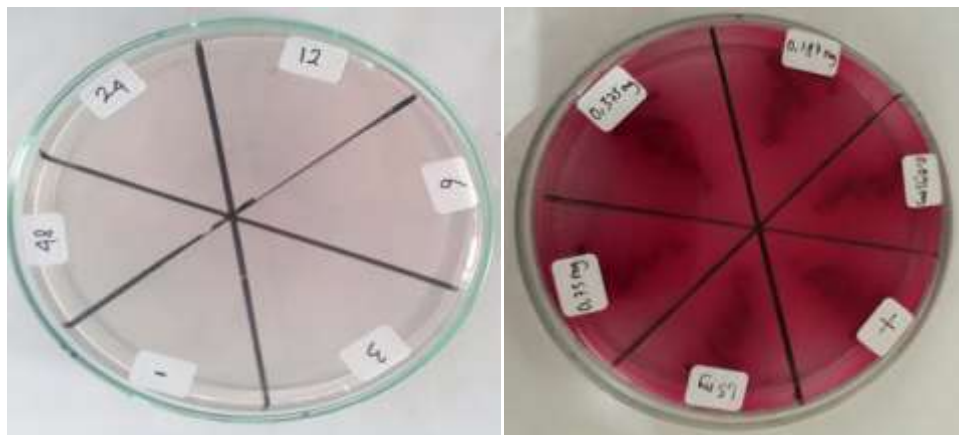


Lampiran 20. Foto hasil uji aktivitas antibakteri kotrimoksazol metode dilusi

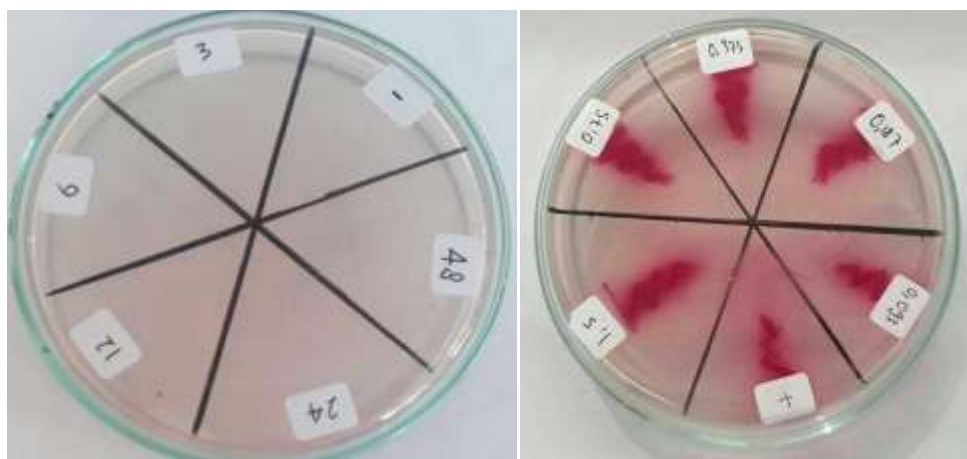


Tabung dilusi kotrimoksazol

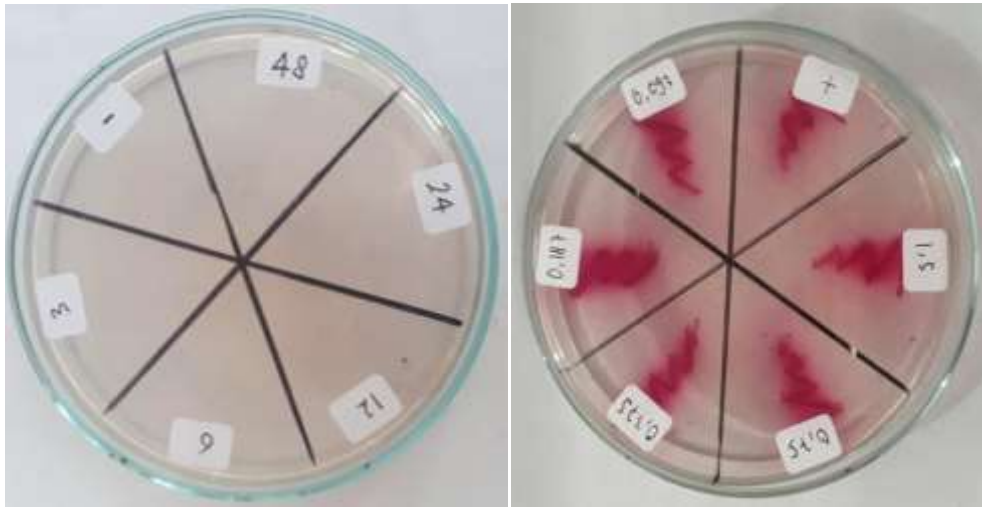
Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



Lampiran 21. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstraksi metanol dengan konsentrasi 25% serta kontrol (+) dan kontrol (-).

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Perlakuan	30	3,50	1,737	1	6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3,50
	Std. Deviation	1,737
Most Extreme Differences	Absolute	,139
	Positive	,139
	Negative	-,139
Kolmogorov-Smirnov Z		,764
Asymp. Sig. (2-tailed)		,604

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

diameter hambatan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak 25%	5	10,5800	1,41315	,63198	8,8253	12,3347	9,30	13,00
fraksi n-hesan 25%	5	8,2400	,77974	,34871	7,2718	9,2082	7,00	9,00
fraksi etil asetat 25%	5	21,2000	2,16795	,96954	18,5081	23,8919	19,00	24,00
fraksi air 25%	5	8,9200	,17889	,08000	8,6979	9,1421	8,60	9,00
antibiotik	5	25,0000	,00000	,00000	25,0000	25,0000	25,00	25,00
kotrimoksazol	5	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
DMSO 1%	5	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Total	30	12,3233	8,59554	1,56932	9,1137	15,5330	,00	25,00

Test of Homogeneity of Variances

diameter hambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10,636	5	24	,000

ANOVA

diameter hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2113,266	5	422,653	345,634	,000
Within Groups	29,348	24	1,223		
Total	2142,614	29			

Multiple Comparisons

diameter hambat

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 25%	fraksi n-hesan 25%	2,34000 [*]	,69938	,029	,1776	4,5024
	fraksi etil asetat 25%	-10,62000 [*]	,69938	,000	-12,7824	-8,4576
	fraksi air 25%	1,66000	,69938	,205	-,5024	3,8224
	antibiotik kotrimoksazol	-14,42000 [*]	,69938	,000	-16,5824	-12,2576
	DMSO 1%	10,58000 [*]	,69938	,000	8,4176	12,7424
fraksi n-hesan 25%	ekstrak 25%	-2,34000 [*]	,69938	,029	-4,5024	-,1776
	fraksi etil asetat 25%	-12,96000 [*]	,69938	,000	-15,1224	-10,7976
	fraksi air 25%	-,68000	,69938	,922	-2,8424	1,4824
	antibiotik kotrimoksazol	-16,76000 [*]	,69938	,000	-18,9224	-14,5976
	DMSO 1%	8,24000 [*]	,69938	,000	6,0776	10,4024
fraksi etil asetat 25%	ekstrak 25%	10,62000 [*]	,69938	,000	8,4576	12,7824
	fraksi n-hesan 25%	12,96000 [*]	,69938	,000	10,7976	15,1224
	fraksi air 25%	12,28000 [*]	,69938	,000	10,1176	14,4424
	antibiotik kotrimoksazol	-3,80000 [*]	,69938	,000	-5,9624	-1,6376
	DMSO 1%	21,20000 [*]	,69938	,000	19,0376	23,3624
fraksi air 25%	ekstrak 25%	-1,66000	,69938	,205	-3,8224	,5024
	fraksi n-hesan 25%	,68000	,69938	,922	-1,4824	2,8424
	fraksi etil asetat 25%	-12,28000 [*]	,69938	,000	-14,4424	-10,1176
	antibiotik kotrimoksazol	-16,08000 [*]	,69938	,000	-18,2424	-13,9176
	DMSO 1%	8,92000 [*]	,69938	,000	6,7576	11,0824
antibiotik kotrimoksazol	ekstrak 25%	14,42000 [*]	,69938	,000	12,2576	16,5824
	fraksi n-hesan 25%	16,76000 [*]	,69938	,000	14,5976	18,9224
	fraksi etil asetat 25%	3,80000 [*]	,69938	,000	1,6376	5,9624
	fraksi air 25%	16,08000 [*]	,69938	,000	13,9176	18,2424
	DMSO 1%	25,00000 [*]	,69938	,000	22,8376	27,1624
DMSO 1%	ekstrak 25%	-10,58000 [*]	,69938	,000	-12,7424	-8,4176
	fraksi n-hesan 25%	-8,24000 [*]	,69938	,000	-10,4024	-6,0776
	fraksi etil asetat 25%	-21,20000 [*]	,69938	,000	-23,3624	-19,0376
	fraksi air 25%	-8,92000 [*]	,69938	,000	-11,0824	-6,7576
	antibiotik kotrimoksazol	-25,00000 [*]	,69938	,000	-27,1624	-22,8376

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

diameter hambatTukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
DMSO 1%	5	,0000				
fraksi n-hesan 25%	5		8,2400			
fraksi air 25%	5		8,9200	8,9200		
ekstrak 25%	5			10,5800		
fraksi etil asetat 25%	5				21,2000	
antibiotik kotrimoksazol	5					25,0000
Sig.		1,000	,922	,205	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.