

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK METANOLIK DAUN
MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh:

**Andri Adi Pradana
19133854A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK METANOLIK DAUN
MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Andri Adi Pradana
19133854A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI
Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK METANOLIK DAUN
MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh :
Andri Adi Pradana
19133854A

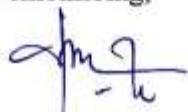
Dipertahankan di hadapan Panitia Pengaji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal :



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,



Opstaria Saptarini, M.Si., Apt

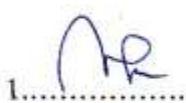
Pembimbing Pendamping,



Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt

Pengaji :

1. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
2. Dra. Kartinah W, SU
3. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt
4. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt



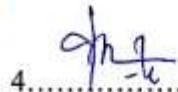
1.....



2.....



3.....



4.....

PERSEMBAHAN

Puji dan syukur hamba ucapkan hanya kepada Allah S.W.T atas segala karunia dan segala nikmat-Nya. Karena hanya kepada-Nya lah hamba meminta dan berdoa. Dan kepada Nabi Muhammad S.A.W shalawat dan salam hamba panjatkan.

“If something is destined for you, never in million years it will be for somebody else”

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

-Ayah Sujono dan Ibu Ely Mufidah-

-Rekan-rekan HMJ S1 Farmasi-

-GLR Squad dan teman ngopi (Andrew, Widan, Yogik, Khalif, Angga, Prasdian, Gus Adi, Rahmad, U’um, Nawan, Arvin, Uwik, Heplin) yang kalau ngajak ngopi tapi pesan es teh.-

-Rekan-rekan FKK 3 2013-

-Rekan-rekan Almameter lainnya-

PERNYATAAN

Saya nyatakan dengan ini bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk permohonan gelar sarjana 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 dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 12 Juni 2017



Andri Adi Pradana

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya bagi Allah SWT, memuji, memohon perlongan dan ampunan hanya kepada-Nya. Kami berlindung kepada-Nya dari sifat jelek setiap jiwa-jiwa kami dan keburukan perbuatan kami. Pada akhirnya penulis dapat dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK METANOLIK DAUN MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) di Fakultas Farmasi Setia Budi.

Pembelajaran yang luar biasa bagi penulis selama proses penyelesaian skripsi dan studi S1 Farmasi, oleh sebab itu penulis sampaikan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam penelitian dan menyusun skripsi ini
3. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan arahan dan penyusunan dalam skripsi ini
4. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan arahan dan penyusunan dalam skripsi ini
5. Seluruh Dosen penguji yang telah memberikan arahan dan penyusunan dalam skripsi ini
6. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staff Perpustakaan dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi atas bantuannya selama penulis menempuh skripsi dan studi.
7. Seluruh rekan mahasiswa Universitas Setia Budi

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna karena keterbatasan penulis, oleh sebab itu kritik dan sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Terimakasih

Surakata, 14 Juli 2017

Andri Adi Pradana

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBERAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TUJUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Mangga Kasturi (<i>Mangifera casturi</i> Kosterm).....	5
1. Taksonomi tanaman	5
2. Deskripsi tanaman	5
3. Khasiat tanaman	6
4. Kandungan kimia	6
4.1. Flavonoid.....	7
4.2. Triterpenoid	7
4.3. Saponin	7
4.4. Tanin.....	7
B. Simplisia.....	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pencucian dan pengeringan simplisia.....	8
3. Pembuatan serbuk.....	8
C. Metode Penyarian.....	9

1.	Ekstraksi	9
2.	Maserasi.....	9
3.	Fraksinasi.....	9
4.	Cairan penyari untuk ekstraksi	10
4.1.	Metanol.....	10
4.2.	n-heksana.....	10
4.3.	Etil asetat	10
4.4.	Air.....	10
D.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11
1.	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11
2.	Sifat fisiologi dan morfologi	11
3.	Patogenesis	12
E.	Antibakteri.....	12
F.	Metode Uji	14
G.	Media.....	15
1.	Media menurut penggunaannya	15
2.	Media menurut bentuknya.....	16
H.	Sterilisasi.....	16
I.	Amoxicillin	17
J.	Landasan Teori.....	18
K.	Hipotesis.....	21
	BAB III METODE PENELITIAN	22
A.	Populasi dan Sampel	22
1.	Populasi	22
2.	Sampel	22
B.	Variabel Penelitian	22
1.	Identifikasi variabel utama	22
2.	Klasifikasi variabel utama	22
3.	Definisi operasional variabel utama	23
C.	Alat & Bahan.....	24
1.	Alat	24
2.	Bahan.....	24
D.	Jalannya Penelitian.....	24
1.	Determinasi tanaman	24
2.	Pembuatan serbuk.....	25
3.	Penetapan susut pengeringan serbuk daun mangga kasturi	25
4.	Pembuatan ekstrak metanol daun mangga kasturi	25
5.	Uji bebas metanol daun mangga kasturi.....	25
6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi	26
6.1	Flavonoid.....	26
6.2	Triterpenoid	26
6.3	Tanin.....	26

6.4 Saponin.....	27
7. Fraksinasi dari ekstrak metanol daun mangga kasturi.....	25
8. Sterilisasi	26
9. Pembuatan suspensi bakteri uji	27
10. Identifikasi bakteri.....	27
10.1Identifikasi koloni <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	27
10.2Identifikasi mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan pewarnaan gram.....	27
10.3Identifikasi bakteri uji secara biokimia	28
11. Uji aktivitas antibakteri	28
11.1Metode difusi.....	28
11.2Metode dilusi.....	29
12. Pengamatan hasil	30
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHSAN	34
1. Hasil determinasi tanaman daun mangga kasturi (<i>Mangifera casturi</i> Kosterm).....	34
1.1. Hasil determinasi tanaman daun mangga kasturi	34
1.2. Hasil deskripsi tanaman daun mangga kasturi	34
2. Pengambilan dan pengeringan.....	34
3. Pembuatan ekstrak metanolik daun mangga kasturi	35
4. Uji bebas metanol ekstrak daun mangga kasturi	36
5. Fraksinasi ekstrak daun mangga kasturi.....	36
6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi daun mangga kasturi.....	37
7. Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	38
7.1 Identifikasi bakteri secara makroskopis	38
7.2 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram.....	38
7.3 Metode uji biokimia	38
8. Uji aktivitas antibakteri bahan uji terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	39
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
A. Kesimpulan	43
B. Saran.....	43
 DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	49

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Tanaman mangga kasturi (<i>Mangifera casturi</i> Kosterm).....	5
Gambar 2. Ekstraksi dan fraksinasi daun mangga kasturi	31
Gambar 3. Skema uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi Error! Bookmark not defined.	
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode dilusi	33

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen daun mangga kasturi	35
Tabel 2. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi.	35
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak daun	36
Tabel 4. Hasil pengujian bebas metanol	36
Tabel 5. Rendemen fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air.....	36
Tabel 6. Hasil identifikasi senyawa serbuk, ekstrak, dan fraksi daun mangga kasturi.....	37
Tabel 7. Hasil uji antibakteri metode difusi	39
Tabel 7. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan amoxicillin	41

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Hasil determinasi tanaman	50
Lampiran 2.	Foto tanaman daun mangga kasturi	51
Lampiran 3.	Foto alat dan rangkaian alat <i>sterling bidwell</i>	52
Lampiran 4.	Foto alat evaporator.....	53
Lampiran 5.	Foto fraksinasi dan hasil fraksinasi daun mangga kasturi	54
Lampiran 6.	Foto hasil identifikasi senyawa serbuk, ekstrak metanolik, fraksi n-heksana, air, dan fraksi etil asetat daun mangga kasturi.....	55
Lampiran 7.	Foto hasil identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	57
Lampiran 8.	Foto hasil pengujian secara difusi cakram.....	59
Lampiran 9.	Foto hasil uji dilusi dan inokulasi fraksi teraktif daun mangga kasturi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	60
Lampiran 10.	Foto hasil uji dilusi dan inokulasi kontrol pembanding terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	61
Lampiran 11.	Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun mangga kasturi.....	62
Lampiran 12.	Perhitungan prosentase penetapan kadar air daun mangga kasturi	63
Lampiran 13.	Perhitungan rendemen ekstrak metanolik daun mangga kasturi ...	64
Lampiran 14.	Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air metode dilusi	65
Lampiran 15.	Perhitungan pembuatan seri konsentrasi fraksi etil asetat metode dilusi	66
Lampiran 16.	Perhitungan pengujian seri dosis antibiotik amoxicillin metode dilusi	67
Lampiran 17.	Formulasi dan pembuatan media.....	68
Lampiran 18.	Hasil pengujian dengan SPSS	69

INTISARI

PRADANA, A, A., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK METANOLIK DAUN MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Mangga kasturi merupakan salah satu tanaman endemik dari pulau Kalimantan yang dipercaya dapat memberikan beberapa khasiat. Kulit batang mangga kasturi terbukti mempunyai aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* tersebut, dan untuk mengetahui nilai KHM dan KBM dari fraksi teraktif.

Daun mangga kasturi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi dan difusi. Metode difusi membandingkan antara ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, DMSO, dan antibiotik sebagai pembanding. Metode dilusi dilakukan dengan seri pengenceran fraksi teraktif pada tabung reaksi, setelah itu dilakukan inokulasi. Analisis data dari diameter zona hambat dengan menggunakan ANOVA.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 25% dari ekstrak metanolik dan ketiga fraksi secara metode difusi memberikan aktivitas daya hambat yaitu 17,7mm; 12,24mm; 21,5mm dan 12,92mm. Fraksi etil asetat mempunyai nilai KBM sebesar 1,56%.

Kata kunci: Mangga kasturi, *Staphylococcus aureus*, dilusi, difusi, maserasi

ABSTRACT

PRADANA, A, A., 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF *n*-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE, AND WATER FRACTION FROM METHANOLIC EXTRACT OF MANGO KASTURI LEAVES (*Mangifera casturi* Kosterm) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Mango kasturi is one of the endemic plants of Borneo island which is believed to be able to provide some of the benefits. Mango bark kasturi tested can provide antibacterial activity. The purpose of this research is to find out whether the extracts, the fraction of n-heksana, ethyl acetate, and water fraction from leaves of mango kasturi can provide antibacterial activity against bacterium *S. aureus*, and to find out the value of the MIC and MKC from the active fraction .

Kasturi mango leave were extracted by maceration method using methanol solvent, then fractionaion using n-heksanae, ethyl acetate, and water. Testing of antibacterial activity using dilution and diffusion method. The diffusion method compares the extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, water fraction, DMSO, and antibiotics as a comparison. The dilution method was carried out with the most active fraction dilution series on the test tube, after which inoculation was performed. Data analysis of the inhibit zone diameter with using by ANOVA.

The result of antibacterial activity test with 25% concentration of methanol extract and the three fraction by diffusion method gave successive inhibitory activity that is 17,7mm; 12,24 mm; 21,5mm and 12,92mm. The ethyl acetate fraction has a MIC at 1.56%.

Keywords: Mango kasturi, *Staphylococcus aureus*, dilution, diffusion, maceration.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi adalah invasi jaringan tubuh hospes organisme penyebab penyakit, diikuti perbanyakannya diri, dan reaksi jaringan hospes terhadap organisme atau racun yang dihasilkannya. Infeksi dapat disebabkan oleh agen infektif, antara lain virus, bakteri, jamur, dan parasit. Hospes melawan infeksi dengan sistem imun yang merupakan respon *innate*, berupa proses peradangan diikuti respon adaptif. Salah satu bakteri penyebab infeksi yaitu *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan berbagai infeksi tetapi dapat juga bersifat komensal. *Staphylococcus aureus* dapat bertahan hidup pada lingkungan yang kering selama berbulan-bulan, tergantung strain bakteri. *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit pada manusia melalui invasi jaringan dan atau karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi dimulai dari tempat koloni patogen pada tubuh, lalu ditularkan melalui tangan ke tempat bakteri dapat memasuki tubuh, misalnya di luka yang ada dikulit, tempat insisi pembedahan, tempat masuk kateter vaskuler, atau tempat lain yang lemah pertahanannya misalnya lokasi eksim atau luka lecet kecil lainnya (Soekiman 2015).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan di lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* menyebabkan sepsis pada luka, bisul atau abses setempat, jerawat dan lesi-lesi kulit pada bayi. *Staphylococcus aureus* yang patogen dan invasif menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik (Jawetz dkk 2012).

Pengobatan terhadap *Staphylococcus aureus* yang disebutkan oleh Jawetz dkk (2012) dalam buku Mikrobiologi Kedokteran menyebutkan bahwa, pengobatan menggunakan antibiotik golongan Penisilin, salah satunya Amoxicillin. Tetapi pengobatan tersebut terbatas oleh resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap obat antimikroba.

Galur *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari rumah sakit umumnya telah resisten terhadap berbagai antimikroba, bahkan telah resisten terhadap semua antibiotik yang beredar, kecuali terhadap vankomisin masih jarang dilaporkan. Galur MRSA (*merhycin resistant Staphylococcus aureus*) merupakan penyebab utama infeksi nosokomial yang bersifat multiresisten terhadap antibiotik, bahkan telah resisten terhadap antiseptik golongan ammonium kuartener sehingga dapat bertahan hidup di lingkungan rumah sakit. Sejak era antibiotik yang ditandai dengan penggunaan penisilin pada tahun 1940-an proses resistensi *Staphylococcus aureus* terjadi dalam waktu singkat. Akibatnya, beberapa galur *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap semua antibiotik konvensional (Radji 2010).

Penggunaan obat tradisional saat ini sangat diperhitungkan, selain untuk menghindari resistensi, obat tradisional juga tidak memiliki efek samping yang berpengaruh dibanding obat sintetis. Kelebihan obat tradisional selain itu ialah mudah didapat, murah, dan juga relatif mudah dalam penggunaannya (Latief 2012).

Salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan sebagai pengobatan adalah tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) yang dipercaya sebagai obat antidiare, asam urat, dan diabetes. Bagian tanaman mangga kasturi yang telah diteliti kandungan kimianya oleh Mustikasari dkk (2008), Putri dkk (2015) dan Tanaya dkk (2015) menyatakan bahwa kulit batang dan daun mangga kasturi mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid dan triterpenoid.

Penelitian yang dilakukan Rosyidah dkk (2010) menunjukkan hasil biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dihambat dengan baik oleh fraksi A (n-heksana) yang diperoleh dari ekstrak saponin pada kulit batang tanaman kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan diameter hambatan sebesar $10,3 \pm 0,5$ mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan $10,8 \pm 0,3$ mm terhadap *Staphylococcus aureus*.

Penggunaan bahan baku kulit batang tidak dianjurkan digunakan karena dapat mengancam kematian dari tanaman mangga kasturi yang tergolong sebagai

tanaman yang terancam punah. Penelitian ini menggunakan daun mangga kasturi untuk menjaga kelestarian hidup tanaman tersebut.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk menguji potensi daun mangga kasturi dan fraksi-fraksi dari daun mangga kasturi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Senyawa-senyawa yang terkandung didalam fraksi-fraksi dari daun mangga kasturi diduga juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Metode yang digunakan untuk menguji *Staphylococcus aureus* salah satunya menggunakan metode dilusi dan difusi. Metode dilusi yaitu metode dengan konsentrasi yang secara bertahap menurun dengan media cair, kemudian ekstrak diinokulasikan pada media serta ditambah bakteri uji lalu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C (Pratiwi 2008). Metode difusi ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, lubang/sumuran, dan metode cakram kertas (Kusmiyati dan Agustini 2007). Metode tersebut bermanfaat untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan untuk mengetahui diameter zona hambat.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah ekstrak metanol, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

Kedua, dari ekstrak metanol dan ke-3 (tiga) fraksi tersebut, manakah yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif tersebut ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah untuk :

Pertama untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua untuk mengetahui manakah yang paling efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari ekstrak metanol dari daun mangga kasturi dan ke-3 (tiga) fraksi tersebut.

Ketiga untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif tersebut.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi, dan wawasan kepada masyarakat luas bahwa tanaman mangga kasturi sebagai tanaman khas Kalimantan yang memiliki khasiat sebagai antibakteri. Sebagai acuan untuk peneliti selanjutnya dan sebagai ilmu pengetahuan, bahwa tanaman mangga kasturi memiliki khasiat sebagai antibakteri.

BAB II

TUJUAN PUSTAKA

A. Tanaman Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm)

1. Taksonomi tanaman

Taksonomi secara lengkap tanaman mangga kasturi sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Tracheobionta
Super Divisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliophyta
Class	:	Magnoliopsida
Subclass	:	Rosidae
Ordo	:	Sapindales
Familia	:	Anacardiaceae
Genus	:	Mangifera
Spesies	:	<i>Mangifera casturi</i> Kosterm (Andriyani 2013)



Gambar 1. Tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) (Darmawan 2015)

2. Deskripsi tanaman

Tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) merupakan tanaman khas Kalimantan Selatan yang tersebar di daerah-daerah seperti Banjarbaru, Martapura, Kandangan, dan Tanjung. Tanaman tersebut selain itu tersebar juga di beberapa daerah Kalimantan Timur dan Kalimantan Tengah, dan

dari ekologi tanaman mangga kasturi, tanaman ini tumbuh di daerah rawa. Buahnya menyerupai mangga kecil, agak padat, baunya tajam dan rasanya khas, hijau mengkilap dengan noda gelap, kulitnya tipis dan licin (Ayala-silva 2013).

Pembudidayaan tanaman mangga kasturi yang dilakukan oleh masyarakat banjar hanya terbatas skala kecil karena tanaman mangga kasturi pertumbuhannya lambat. Penduduk Mataram membudidayakan mangga kasturi pada tahun 1980 dan pertama kali panen pada tahun 2005 (Anonim 2009).

Pohon mangga kasturi dapat berumur puluhan tahun, pembudidayaan oleh masyarakat Banjar di pekarangan atau di hutan. Tanaman bisa mencapai tinggi 25-50 m atau bahkan lebih, dengan diameter batang $\pm 40-115$ cm. Apabila pohon mangga kasturi dilukai, kulit batang akan mengeluarkan getah yang mula-mula bening, kemudian berwarna kemerahan dan menghitam dalam beberapa jam. Getah ini mengandung terpentin dan berbau tajam, dapat melukai kulit atau menimbulkan iritasi, terutama bagi kulit yang sensitif.

Daun tunggal, gundul, tersusun dalam spiral atau spiral rapat, bertangkai panjang, memanjang dengan ujung runcing dan pada kedua belah sisi tulang daun tengah terdapat 12-25 tulang daun samping tanpa daun penumpu. Daun muda menggantung dan berwarna ungu tua (Darmawan 2015).

3. Khasiat tanaman

Mangifera casturi 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 (Moore 2004). Menurut penelitian Rosyidah dkk (2010) kulit batang tanaman mangga kasturi berkhasiat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yang menyebabkan diare dan *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan penyakit kulit dan menurut Mustikasari dkk (2008), akar dan juga batang dari tanaman mangga kasturi mempunyai potensi sebagai obat antidiabetes. Menurut penelitian Fakhrudin dkk (2013) ekstrak metanol dari buah mangga kasturi memiliki aktivitas antiinflamasi.

4. Kandungan kimia

Tanaman mangga kasturi memiliki beberapa senyawa kimia, menurut penelitian yang dilakukan Mustikasari dkk (2008), Putri dkk (2015) dan Tanaya

dkk (2015) yaitu pada bagian akar dan batang mangga kasturi mengandung saponin dan tanin, dan pada bagian daun mengandung saponin, tanin, flavonoid, dan triterpenoid. Kandungan yang diduga dapat menghambat aktivitas bakteri pada daun mangga kasturi yaitu tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid.

4.1. Flavonoid. Flavonoid memiliki aktifitas antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlalut sehingga dapat merusak membran sel dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria dkk 2009).

4.2. Triterpenoid. Terpenoid adalah senyawa yang juga diketahui aktif melawan bakteri, tetapi mekanisme antibakterial triterpenoid masih belum benar-benar diketahui. Aktivitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Cowan 1999). Senyawa fenolik dan terpenoid memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik (Leon dkk 2009).

4.3. Saponin. Saponin adalah senyawa yang dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi. Saponin membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk busa jika dikocok dan tidak hilang dengan penambahan asam (Harborne 1996). Saponin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria dkk 2009)

4.4. Tanin. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA topoisomase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria dkk 2009). Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk mengaktifkan adhesin sel mikroba, juga mengaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan 1999).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain suhu

pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia segar dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman dengan cara tertentu dipisahkan dari tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat kimia murni. Simplisia segar bahan alam segar yang belum dikeringkan. Simplisia mineral adalah simplisia yang berasal dari bumi, baik sudah diolah atau belum, tidak berupa zat kimia murni (Anonim 2013).

2. Pencucian dan pengeringan simplisia

Sebelum pembuatan serbuk sebaiknya simplisia melalui proses pencuian dan pengeringan. Bahan obat sebelumnya dikumpulkan terlebih dahulu, kemudian segera dicuci bersih dan sebaiknya dengan air yang mengalir. Setelah bersih, dapat segera dimanfaatkan bila diperlukan pemakaian bahan segar. Namun, bisa pula dikeringkan untuk disimpan dan digunakan bila sewaktu waktunya dibutuhkan.

Proses selanjutnya yaitu pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah pembusukan oleh cendawan atau bakteri. Bahan dapat disimpan lebih lama dalam toples atau wadah tertutup rapat. Bahan kering juga mudah dihaluskan bila ingin dibuat serbuk (Dalimarta 1999).

3. Pembuatan serbuk

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk (penyerbukan). Simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan beberapa hal sebagai berikut:

Pertama. Makin luas serbuk simplisia, proses ekstraksi makin efektif-efisien, namun makin halus serbuk, maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahap filtrasi. Kedua. Selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras maka akan timbul panas yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Hal ini dapat dikompensasi dengan penggunaan nitrogen cair (Anonim 2000). Mess yang digunakan adalah nomer 40 untuk mendapatkan serbuk agak kasar (Anonim 2013).

C. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Semua atau hampir semua pelarut kemudian diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim 2013)

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 kedalam golongan minyak atsiri, flavonoid, alkaloid dan lain-lain. Diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Anonim 2000).

2. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Mula-mulanya bahan di haluskan (bentuk serbuk) kemudian direndam dalam pelarut. Proses perendaman ini harus dilakukan di tempat yang terlindung dari cahaya langsung. Hal ini berfungsi untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya.

Waktu maserasi berbeda-beda, antara 3-10 hari. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan penumpukan bahan aktif di dasar wadah sehingga perlu dilakukan beberapa kali pengadukan selama proses maserasi (Anonim 2000).

3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair, yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dengan pelarut non polar.

Begitu juga dengan senyawa yang bersifat semi polar dan polar, akan larut dengan pelarut semi polar dan polar (Harborne 1987)

4. Cairan penyari untuk ekstraksi

Pemilihan pelarut yang tepat meningkatkan efisiensi ekstraksi dari simplisia. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Akbar 2010). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, n-heksana, etil asetat dan air.

4.1. Metanol. Metanol adalah pelarut yang bersifat universal, dimana metanol mampu untuk mengekstrak semua metabolit sekunder baik yang bersifat polar maupun non polar pada daun *Manngifera casturi* Kosterm (Putri dkk 2015). Senyawa yang dapat larut di metanol diantaranya adalah terpenoid, tanin, saponin, flavonoid, dan polifenol (Tiwari dkk 2011).

4.2. n-heksana. n-heksana merupakan pelarut non polar, berupa cairan yang jernih, mudah menguap, berbau, seperti eter atau bau seperti petroleum. Praktis tidak larut dalam air, larut dalam metanol mutlak, dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzen dan sebagian besar minyak lemak serta minyak atsiri. Senyawa yang dapat larut di n-heksana adalah senyawa-senyawa non polar seperti steroid, terpenoid, triterpenoid, lemak, dan karotenoid (Tiwari dkk 2011)

4.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam bagian eter, metanol dan kloroform. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid (Harborne 1987).

4.4. Air. Air pelarut yang universal, digunakan untuk mengekstrak produk tanaman dengan aktifitas antimikroba. Pada pemakaian tradisional mengutamakan air sebagai pelarut untuk mengekstraksi, tetapi telah ditemukan bahwa pelarut organik lebih konsisten untuk memberikan aktifitas antimikroba dibandingkan dengan air (Tiwari dkk 2011).

Dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan zat aktif, di antaranya adalah tanin, saponin, dan terpenoid (Tiwari dkk 2011).

D. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Infeksi adalah invasi jaringan tubuh hospes organisme penyebab penyakit, diikuti perbanyakannya diri, dan reaksi jaringan hospes terhadap organisme atau racun yang dihasilkannya. Infeksi dapat disebabkan oleh agen infektif, antara lain virus, bakteri, jamur, dan parasit. Hospes melawan infeksi dengan sistem imun yang merupakan respon *innate*, berupa proses peradangan diikuti respon adaptif (Soekiman 2015). Salah satu bakteri penyebab infeksi yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Filum	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: Staphyococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Warsa 1993)

2. Sifat fisiologi dan morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang menyerupai bentuk bola dengan garis tengah $\pm 1\mu\text{m}$ tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur (menyerupa buah anggur), tapi dapat tersusun empat-empat (tetrad), membentuk rantai (3-4 sel), berpasangan atau satu-satu. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus. *Staphylococcus aureus* bersifat non-motil, non-spora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46°C dan pada pH 4,2-9,3.

Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4mm. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna kuning abu-abu, sampai berwarna kuning emas tua. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen *lipochrom*

yang menyebabkan koloni berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. Pigmen tersebut membedakan dari *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih (Dewi 2013).

Stafilocokus tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik. Tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, tetapi terbentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid terbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni bewarna abu-abu hingga kuning emas pekat (Jawetz dkk 2012).

3. Patogenesis

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol (Jawetz dkk 2012).

Staphylococcus aureus menyebabkan penyakit pada manusia melalui invasi jaringan dan atau karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi dimulai dari tempat koloni patogen pada tubuh, lalu ditularkan melalui tangan ke tempat bakteri dapat memasuki tubuh, misalnya diluka yang ada di kulit, tempat insisi pembedahan, tempat masuk kateter vaskuler, atau tempat lain yang lemah pertahanannya misalnya lokasi eksim atau luka lecet kecil lainnya.

Infeksi *Staphylococcus aureus* pada kulit akan membentuk abses dan akan menyebar secara hematogen. Enzim proteolitik *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan pneumonia, infeksi tulang dan sendi, maupun endokarditis (Soekiman 2015).

E. Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia (Agustrina 2011).

Mekanisme kerja antibakteri menurut Pratiwi (2008) dikelompokkan menjadi :

Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Antimikroba ini merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri gram positif maupun gram negatif. Mekanisme kerjanya adalah dengan mencegah ikatan silang peptidoglikan pada tahap akhir sintesis dinding sel, yaitu dengan cara menghambat protein pengikat penisilin, protein ini merupakan enzim dalam membran plasma sel bakteri yang secara normal terlibat dalam penambahan asam amino yang berikatan silang dengan peptidoglikan dinding sel bakteri, dan memblok antivitas enzim transpeptidase yang membungkus ikatan silang polimer-polimer gula panjang yang membentuk dinding sel bakteri sehingga dinding sel menjadi rapuh dan mudah lisis, contoh : penisilin.

Merusak membran plasma. Membran plasma berisfat semipermeabel dan mengendalikan transport berbagai metabolit ke dalam dan keluar sel. Gangguan dan kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai *barrier* osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran, contoh : polimiksinil.

Menghambat sintesis protein. Agen ini berikatan pada subunit 30S ribosom bakteri (beberapa terkait pada subunit 50S ribosom) dan menghambat translokasi peptidil tRNA dari situs A ke P, dan menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA dan mengakibatkan bakteri tidak mampu menyintesis protein vital untuk pertumbuhan bakteri, contoh: kloramfenikol dan bakterisidal contoh : gentamicin.

Menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA). Agen ini yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri. Penghambatannya pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan relikasi mikroorganisme, seperti ryfamicins (misal : rifampisin dan rifambutin) yang menghambat RNA polimerase dan quinolon yang menghambat topoisomerase, contoh: asam nalidiksat.

Menghambat sintesis metabolismik esensial. Penghambatannya antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Trimetoprim dan sulfanamid termasuk di dalam metabolit mikroorganisme, yang menghambat enzim penting metabolisme folat, contoh : trimetroprim.

F. Metode Uji

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode antara lain :

Pertama, metode difusi. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, lubang/sumuran, dan metode cakram kertas. Metode luang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertanaman bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang. Metode silinder yaitu metode meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya hambatan disekitar silinder (Kusmiyati dan Agustini 2007). *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertanaman bakteri oleh suatu senyawa bakteri dalam ekstrak (Hermawan dkk 2007).

Kedua, metode dilusi. Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (broth dilution) dan lisui padat (solid dilution). Metode dilusi cair dapat mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi padat serupa dengan dilusi cair namun menggunakan metode padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk beberapa mikroba uji. Pada dilusi cair, membuat seri pengenceran agen antimikroba pada media cair yang

ditambahkan dengan mikroba uji, sedang pada dilusi padat pada tiap konsentrasi obat dicampur dalam media padat, lalu ditanami bakteri dan diinkubasi. Setelah masa inkubasi selesai, diperiksa konsentrasi berapa obat yang dapat menghambat atau mematikan mikroba (Pratiwi 2008).

G. Media

Media adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi atau zat-zat hara (nutrien) yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Selain itu, medium juga dipergunakan untuk isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Menetapkan suatu jenis mikroba sebagai penyebab penyakit harus terlebih dahulu mendapatkan mikroba dalam keadaan murni untuk diselidiki sifat-sifatnya. Tujuan tersebut sangat diperlukan suatu medium sebagai tempat tumbuh dan isolasi mikroorganisme. Pembibitan mikroba dalam laboratorium memerlukan medium yang berisi zat hara serta lingkungan pertanaman yang sesuai dengan mikroorganisme (Waluyo 2008).

Fungsi media yaitu untuk menumbuhkan mikroba, mengisolasi mikroba, memperbanyak mikroba, dan untuk menyimpan mikroba. Bentuk media ditentukan ada tidaknya penambahan zat pemanfaat seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya (Suriawiria 2005).

1. Media menurut penggunaannya

Menurut Suriawiria (2005) media dibedakan menjadi:

Media umum. Media umum yaitu media yang dapat dipergunakan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum.

Media pengaya. Media pengaya yaitu dipergunakan dengan maksud mempercepat pertumbuhan suatu kelompok mikroba.

Media selektif. Media selektif yaitu media yang hanya dapat ditumbuhkan oleh satu atau lebih jenis mikroba tertentu tetapi akan menghambat atau mematikan jenis mikroba lainnya.

Media diferensiasi. Media diferensiasi yaitu media yang dipergunakan untuk membedakan mikroba lainnya yang memiliki kekerabatan yang dekat.

Media penguji. Media penguji yaitu media yang dipergunakan untuk pengujian senyawa atau benda tertentu dengan bantuan mikroba.

Media emumaserasi. Media emumaserasi yaitu media yang dipergunakan untuk menghitung jumlah mikroba pada suatu bahan.

2. Media menurut bentuknya

Menurut Harti (2015) media dibedakan menjadi:

Media padat. Media yang mengandung agar 1,2-1,5%, biasanya dalam bentuk plate agar (lempeng agar) atau *slant* agar (agar miring) VJA (*Vogel Johnson Agar*).

Media setengah padat. Media yang mengandung agar 0,6-0,75%, contoh media SIM (*Sulfida, Indol, Motilitas*), untuk pengamatan motilitas.

Media cair. Media tanpa mengandung bahan pematat, contoh media Nutrient cair, BHI (*Brain Heart Infusion*).

H. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan proses untuk mematikan atau menghilangkan seluruh mikroba dari alat dan media. Metode yang digunakan dalam seterilisasi sangat dipengaruhi oleh zat aktif yang di kandung dan sifat sediaannya. Sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar x, sinar α , dan sinar UV dan sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin (Darmadi 2008).

Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu sterilisasi panas basah dengan perebusan menggunakan air mendidih selama 10 menit, cara ini efektif untuk sel-sel vegetatif dan spora eukariot, tetapi 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 sterilisasi untuk bahan dari karet atau plastik, walau lama sterilisasi sekitar 2-3 jam dan berdaya penetrasi rendah.

Steriliasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan memiliki daya bunuh mikroba yang lebih rendah dibandingkan metode lain. Bakteri pembentuk spora dan beberapa virus resisten terhadap steriliasi dengan metode ini. Penggunaan larutan alkohol efektif membunuh bakteri dan fungi, namun tidak dapat membunuh endospora dan virus. Steriliasi dengan penyaringan digunakan untuk bahan yang sensitif terhadap panas, misalnya enzim. Proses ini digunakan membran filter yang terbuat dari selulosa asetat (Pratiwi 2008).

I. Amoxicillin

Penggunaan amoxicillin di penelitian ini bertujuan sebagai pembanding, karena amoxicillin adalah pilihan pertama untuk penanganan *Staphylococcus aureus*.

Penggunaan antibiotika yang sangat tidak rasional akan menimbulkan dampak negatif, seperti terjadi kekebalan bakteri terhadap beberapa antibiotika, meningkatnya efek samping obat dan bahkan kematian. Penggunaan antibiotika dikatakan tepat bila efek terapi mencapai maksimal sementara efek toksik yang berhubungan dengan obat menjadi minimum, serta perkembangan antibiotika resisten seminimal mungkin. Pemilihan antibiotika harus disesuaikan dengan pola resistensi lokal, disamping juga memperhatikan riwayat antibiotika yang digunakan oleh pasien. Hal ini juga mengurangi kemungkinan resistensi terhadap lebih dari satu antibiotik (Saepudin dkk 2007).

Galur MRSA (*merhicolin resistant Staphylococcus aureus*) merupakan penyebab utama infeksi nosokomial yang bersifat multiresisten terhadap antibiotik, bahkan telah resisten terhadap antiseptik golongan ammonium kuartener sehingga dapat bertahan hidup di lingkungan rumah sakit. Sejak era antibiotik yang ditandai dengan penggunaan penisilin pada tahun 1940-an proses resistensi *Staphylococcus aureus* terjadi dalam waktu singkat. Beberapa galur *Staphylococcus aureus* akibatnya telah resisten terhadap semua antibiotik konvensional (Radji 2010).

Resistensi terhadap penisilin di bagi menjadi beberapa kategori: (1) Produksi β -laktamase oleh stafilocok, bakteri gram-negatif, haemophilus,

genokok, dan lainnya. Telah ditemukan lebih dari 50 β-laktamase berbeda, sebagian besar produksinya dikendalikan oleh plasmid bakteri. Beberapa β-laktamase dapat diinduksi oleh sefalosporin yang lebih baru. (2) Tidak adanya atau berkurangnya jumlah reseptor penisilin (PBP) atau modifikasinya PBP (misalnya pada pneumokok, enterokok) atau tidak dapat tercapainya reseptor penisilin karena terdapat sawar permeabilitas pada membran luar bakteri. Mekanisme resistensi tersebut biasanya dikendalikan oleh kromosom. (3) kegagalan aktivasi enzim autotik pada dinding sel yang dapat menyebabkan inibisi, tetapi tidak membunuh bakteri (misalnya, sifat toleran pada sebagian stafilocok). (4) tidak disintesisnya peptidoglikan, misalnya, pada mikoplasma, bentuk L, atau bakteri yang aktif secara metabolik (Jawetz dkk 2012).

Penisilin adalah antibiotik ber-spektrum luas. Amoksisillin aktif melawan bakteri gram positif yang tidak menghasilkan β-laktamase, dan karena obat tersebut berdifusi ke dalam bakteri gram negatif lebih mudah daripada benzil penisilin, obat ini juga aktif melawan banyak strain *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, dan *Salmonella*. Pemberian oral, amoksisillin merupakan obat pilihan karena diabsorbsi lebih baik daripada ampicilin, yang seharusnya diberikan secara parenteral. Amoksisillin dan ampicilin diaktivasi oleh bakteri penisilinase (Neal 2005).

Amoksisillin merupakan antibakteri spektrum luas yang bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian bakteri gram positif dan beberapa gram negatif yang patogenik. *Staphylococci* merupakan salah satu bakteri patogenik yang sensitif terhadap amoksisillin (Werckenthin 2001; Pengov 2003).

J. Landasan Teori

Tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) atau mangga kalimantan menarik untuk diteliti karena tanaman ini merupakan tanaman khas Kalimantan Selatan dan termasuk tanaman langka. Tanaman mangga kasturi tersebar di daerah-daerah seperti Banjarbaru, Martapura, Kandangan, dan Tanjung. Tanaman mangga kasturi, selain itu tersebar juga di beberapa daerah Kalimantan Timur dan Kalimantan Tengah. Dilihat dari ekologinya, tanaman ini

tumbuh di daerah rawa. Buahnya menyerupai mangga kecil, agak padat, baunya tajam dan rasanya khas, hijau mengkilap dengan noda gelap, kulitnya tipis dan licin (Ayala-silva 2013).

Menurut jurnal penelitian yang dilakukan Biswas dkk (2015) menyatakan *Mangifera indica* L. mengandung senyawa *Mangiferin* yang terbukti dapat memiliki aktivitas antibakteri dan memberikan diameter zona hambat 13 mm pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Mangiferin* terdapat dalam fraksi etil asetat. Berdasarkan ilmu taksonomi, apabila dua tanaman yang masih dalam genus yang sama (*Mangifera*) kemungkinan kandungan yang ada dalam *Mangifera indica* L. dan *Mangifera casturi* Kosterm juga sama.

Hasil penelitian Mustikasari dkk (2008) menyatakan akar dan batang mengandung saponin dan tanin. Sementara penelitian Putri dkk (2015) dan Tanaya dkk (2015) daun mangga Kalimantan mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid dan triterpenoid. Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria dkk 2009). Terpenoid adalah senyawa yang juga diketahui aktif melawan bakteri, tetapi mekanisme antibakterial triterpenoid masih belum benar-benar diketahui. Aktivitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Cowan 1999). Saponin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria dkk 2009). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA topoisomase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria dkk 2009). Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk mengaktifkan adhesin sel mikroba, juga mengaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan 1999).

Uji fitokimia yang dilakukan Putri dkk (2015) dan Tanaya dkk (2015) terhadap daun mangga kasturi menyatakan bahwa hasil uji fitokimia fraksi n-

heksana menyaring tanin dan triterpenoid dan hasil pada uji fitokimia fraksi etil asetat menyaring tanin, flavonoid, dan triterpenoid.

Penelitian Syarifuddin dkk (2014) yang membahas tentang perbandingan daya hambat antibakteri ekstrak kulit batang mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Streptococcus mutans* 2302-Unr secara *In Vitro* pada konsentrasi 50%;25%;12,5%;6,25%; dan 3,12%. Hasil uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram ekstrak batang kasturi 25% memiliki diameter zona bening 17 mm. Rata-rata hasil uji aktivitas antibakteri metode sumuran ekstrak batang kasturi 25% memiliki diameter zona bening 11 mm. Sementara pada, metode dilusi memiliki rata-rata hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak batang kastur 25% memiliki pertumbuhan koloni 17×10^8 CFU/ml. Hasil perhitungan MIC daya hambat antibakteri ekstrak kulit batang kasturi sebesar 0,94%.

Penelitian yang dilakukan Rosyidah dkk (2010) menunjukkan hasil biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dihambat dengan baik oleh fraksi A (n-heksana) yang diperoleh dari ekstrak saponin pada kulit batang tanaman kasturi dengan diameter hambatan sebesar $10,3 \pm 0,5$ mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan $10,8 \pm 0,3$ mm terhadap *Staphylococcus aureus*.

Pemilihan pelarut yang tepat meningkatkan efisiensi ekstraksi dari simplisia. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Akbar 2010). Metode penyari daun mangga kasturi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut metanol dan difraksinasikan dengan n-heksana, etil asetat, dan air. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, n-heksana, etil asetat, dan air. n-heksana merupakan pelarut non polar, senyawa yang dapat larut di n-heksana adalah senyawa-senyawa non polar seperti steroid, terpeneoid, triterpenoid, lemak, dan karotenoid (Tiwari dkk 2011). Etil asetat merupakan pelarut semi polar, senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, tanin, dan triterpenoid (Harborne 1987). Air pelarut yang universal, digunakan untuk mengekstrak produk tanaman dengan aktivitas antimikroba. Pada pemakaian tradisional mengutamakan air sebagai pelarut untuk

mengekstraksi, tetapi telah ditemukan bahwa pelarut organik lebih konsisten untuk memberikan aktivitas antimikroba dibandingkan dengan air (Tiwari dkk 2011).

K. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini adalah :

Pertama, ekstrak metanol, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari ekstrak metanol dan ke-3 (tiga) fraksi tersebut, yang paling efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat.

Ketiga, konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif tersebut terdapat pada konsentrasi tertentu.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Pupulasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) yang didapat dari daerah Balikpapan, Kecamatan Samboja, Kalimantan Timur pada tanggal 6 Februari 2017.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman mangga kasturi yang muda, berwarna hijau (tidak terlalu tua) yang diambil di daerah Balikpapan, Kecamatan Samboja, Kalimantan Timur pada tanggal 6 Februari 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak yang diperoleh dari daun mangga kasturi (*Mangifera caturi* Kosterm) dengan pelarut metanol.

Variabel utama kedua adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama diidentifikasi ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel kendali, dan variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak metanolik daun mangga kasturi dalam berbagai konsentrasi, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat dan

tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media yang digunakan, kondisi laboratorium, peneliti dan peralatan yang digunakan.

Variabel tergantung merupakan titik pusat persoalan yang merupakan penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini yakni aktivitas antibakteri fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun mangga kasturi diambil dari Balikpapan, Kecamatan Samboja, Kalimantan Timur. Daun yang diambil yang berwarna hijau (tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua).

Kedua, daun yang dipetik pada sore hari kemudian dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C, kemudian dihaluskan dan diayak dengan pengayak no 40.

Ketiga, ekstrak metanolik daun mangga kasturi adalah hasil ekstraksi dari daun mangga kasturi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol lalu dipekatkan dengan evaporator.

Keempat, fraksi n-heksana daun mangga kasturi adalah hasil fraksinasi dari ekstrak metanol menggunakan pelarut n-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat daun mangga kasturi adalah hasil fraksinasi dari residu n-heksana menggunakan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air daun mangga kasturi adalah hasil fraksinasi dari residu etil asetat menggunakan pelarut air.

Ketujuh, uji aktivitas antibakteri dari penelitian ini dengan metode dilusi adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diambil dari Laboratorium Universitas Setiabudi.

Kedelapan, metode difusi dan dilusi. Metode dilusi adalah metode yang digunakan untuk mengukur diameter zona hambat bakteri. Metode dilusi adalah metode yang digunakan untuk mengetahui KHM dan KBM. Metode ini menggunakan senyawa antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap. Seri pengenceran dalam berbagai kadar yaitu 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%;

1,562%; 0,781%; 0,93%; 0, 195%; 0,097%; 0,049%. Kontrol positif adalah suspensi bakteri, kontrol negatif adalah bahan uji, dan kontrol pembanding adalah suspensi antibiotik dengan seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi.

C. Alat & Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pembakar spiritus, kaki tiga, kasa, selang, corong kaca, penangas air, timbangan analitik, labu Erlenmeyer, tabung reaksi dan rak tabung, gelas ukur, labu takar, inkas, jarum ose, kapas, pinset, ayakan no. 40, oven, batang pengaduk, seperangkat alat *rotary evaporator*, desikator, autoklaf, inkubator, kotak septis, beaker gelas, pipet ukur, kain flanel, cawan porselin, cawan petri, corong pisah, kertas saring, obyek *glass* dan *deg glass*, mikroskop, dan *sterling bidwell*.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga kasturi, dan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Media yang digunakan yaitu BHI (*Brain Heart Infusion*), VJA (*Vogel Johnson Agar*), MHA (*Mueller-Hinton Agar*) bahan pelarut metanol, n-heksana, etil asetat, air, HCl, FeCl₃ 1%, larutan mayer, larutan Dragendorf, kalium tellurit, asam asetat anhidrida, asam sulfat pekat, spiritus, cat kristal violet, larutan lugol iodine, safranin, dan larutan standar Mc Farland 0,5.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahapan pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran daun mangga kasturi dengan melakukan determinasi. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman mangga kasturi sesuai kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Negeri Sebelas Maret.

2. Pembuatan serbuk

Pembuatan serbuk daun mangga kasturi dilakukan dengan cara dicuci bersih dengan air mengalir terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, ditiriskan, dipotong-potong kemudian ditimbang, setelah itu dijemur dan dioven pada suhu 40°C. Daun mangga kasturi yang sudah kering kemudian dihaluskan, dan diayak dengan pengayak no. 40 sehingga diperoleh serbuk daun mangga kasturi yang mempunyai derajat kehalusan.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk daun mangga kasturi

Penetapan susut pengeringan pada penelitoian ini menggunakan alat Sterling-Bidwell, dengan cara menimbang serbuk daun mangga kasturi sebanyak 20 gram, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan xylen sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat Sterling-Bidwell, lalu dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan bila tidak ada lagi air yang menetes, kemudian diukur kadar air nya sampai mencapai $\leq 10\%$ dengan menggunakan alat Sterling-Bidwell (Apriyantono dkk 1989)

4. Pembuatan ekstrak metanol daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi ditimbang 500 gram kemudian di masukkan ke dalam bejana lalu di tambahkan metanol dengan perbandingan 1:7,5 atau 3,75 L. Campuran tersebut didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog dan ampasnya dimaserasi kembali sampai 3 kali. Maserat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *Rotary evaporator* pada suhu dibawah 40°C sehingga didapatkan ekstrak kental daun mangga kasturi (Anonim 1986).

5. Uji bebas metanol daun mangga kasturi

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas metanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan H_2SO_4 pekat dan CH_3COOH pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas metanol ditandai dengan tidak terbentuknya bau ester yang khas dari metanol. Tujuan dilakukannya uji bebas metanol ini bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat metanol yang memiliki aktivitas antibakteri.

6. Fraksinasi dari ekstrak metanol daun mangga kasturi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair, yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari

golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun mangga kasturi didispersikan dengan pelarut metanol : aquadest 75 ml, kemudian dilakukan fraksinasi 3 kali dengan pelarut n-heksana sebanyak 75 ml. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator pada suhu di bawah 40°C. Residu yang didapat dari fraksi n-heksana 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 *waterbath*.

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk, ekstrak dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi.

Identifikasi senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam serbuk, ekstrak, dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari 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-fraksi dicampur dengan 5 ml metanol, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Kemudian ditambahkan Mg 0,2 gram dan 3 tetes HCl pada masing-masing filtrat terbentuknya warna merah pada lapisan metanol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne 1987).

6.2 Triterpenoid. Identifikasi triterpenoid dilakukan caranya sebanyak 1 gram serbuk simplisia, ekstrak, dan fraksi-fraksi ditambahkan 10 ml kloroform. Larutan diambil 5 ml dan ditambahkan asam asetat anhidrat 5 ml, kemudian campuran ini ditetes dengan 2 ml asam asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol dan bila yang diperoleh berupa cincin pada perbatasan dua jenis pelarut, menunjukkan adanya triterpenoid (Jones dan Kinghorn 2006; Evans 2009).

6.3 Tanin. Identifikasi tanin dilakukan caranya sebanyak 0,5 gram serbuk ekstrak, dan fraksi-fraksi dilarutkan 10 ml aquadest kemudian disaring dan filtrat ditambah 3 tetes FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati dkk 2014).

6.4 Saponin. Identifikasi dilakukan caranya sebanyak 0,5 gram serbuk, ekstrak dan fraksi-fraksi dilarutkan air panas kemudian di kocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan terbentuknya busa stabil setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Setyowati dkk 2014).

8. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasi terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Suriawiria 2005).

9. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji diambil 0,1 ml dari suspensi bakteri yang kekeruhan disamakan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$ *Staphylococcus aureus*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

10. Identifikasi bakteri

10.1 Identifikasi koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasikan pada media media VJA (*Vogel Johnson Agar*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif jika penampakan koloni warna hitam dan warna medium disekitar koloni kuning.

10.2 Identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (Kristal Violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine), Gram C (alkohol:aceton 1:1), dan Gram D (cat safranin). Pengecatan dilakukan dengan cara buat preparat ulas (smear) yang telah difiksasi kemudian ditetesi Gram A sampai ulasan terwarnai, diamkan selama kurang lebih 1 menit

kemudian dicuci dengan air mengalir kemudian ditetesi Gram B, didiamkan kurang lebih 1 menit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat dilunturkan dengan Gram C, didiamkan selama 45 detik dan dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan preparat. Setelah itu preparat ditetesi Gram D tunggu 45 detik dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan preparat dengan kertas tissue yang ditempelkan di sisi ulasan lalu didiamkan sampai mengering di udara. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati diamati di bawah mikroskop.

10.3 Identifikasi bakteri uji secara biokimia. Identifikasi bakteri uji secara biokimia ada dua yaitu uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase yaitu dengan penambahan setetes larutan hidrogen peroksida 3% yang diteteskan pada kaca objek, dan sejumlah kecil pertumbuhan bakteri diletakkan pada larutan. Pembentukan gelembung menunjukkan hasil positif.

Uji koagulase menggunakan plasma kelinci (atau manusia) bersitrat yang diencerkan 1:5 dicampur dengan volume yang sama kultur kaldu atau pertumbuhan dari koloni pada agar dan diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung plasma yang dicampur dengan kaldu steril juga diinkubasi sebagai kontrol. Jika bekuan terbentuk dalam 1-4 jam, hasil tes adalah positif (Jawetz dkk 2012).

11. Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode dilusi dan difusi. Metode dilusi ini digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji dan metode difusi untuk mengetahui diameter zona hambat.

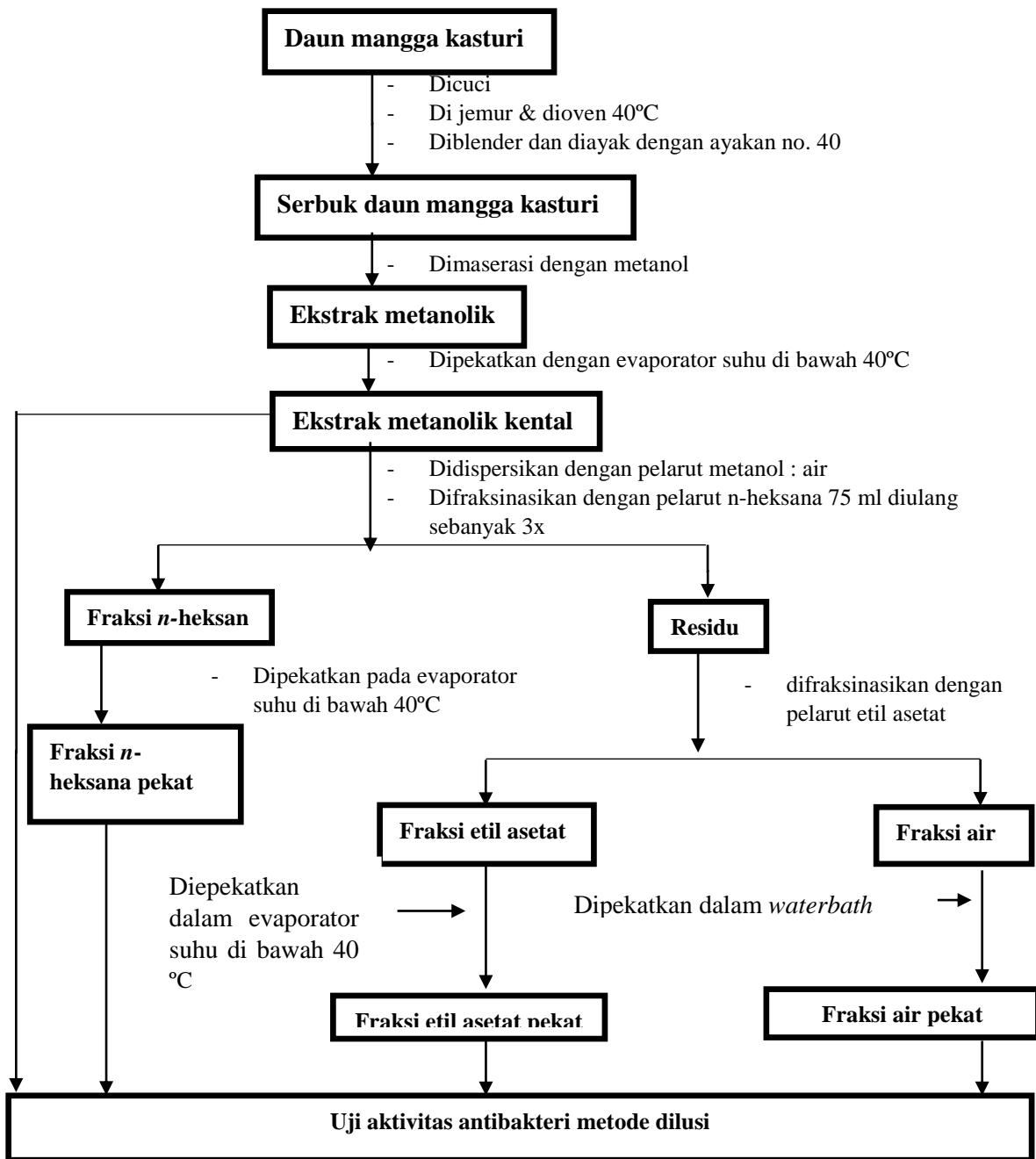
11.1 Metode difusi. Metode difusi menggunakan cawan petri steril yang telah diisi dengan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) sebanyak 30 ml. Larutan stok ekstrak dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dibuat konsentrasi 25% dengan menggunakan pelarut DMSO 1%. Secara aseptis bakteri digoreskan pada cawan petri yang telah memadat dengan menggunakan kapas lidi steril. Setelah itu dipipet 30 μ l larutan stok ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air kemudian diteteskan pada kertas cakram yang telah disterilkan dan didiamkan

pada suhu kamar selama 10-20 menit. Kertas cakram yang telah dijenuhkan dari konsentrasi kemudian diletakan diatas media, sebagai pembanding diletakkan pula kertas cakram amoxicillin dan sebagai kontrol negatif diletakkan pula kertas cakram yang telah ditetesi DMSO 1%. Replikasi dilakukan lima kali dan masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar kertas cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun mangga kasturi memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

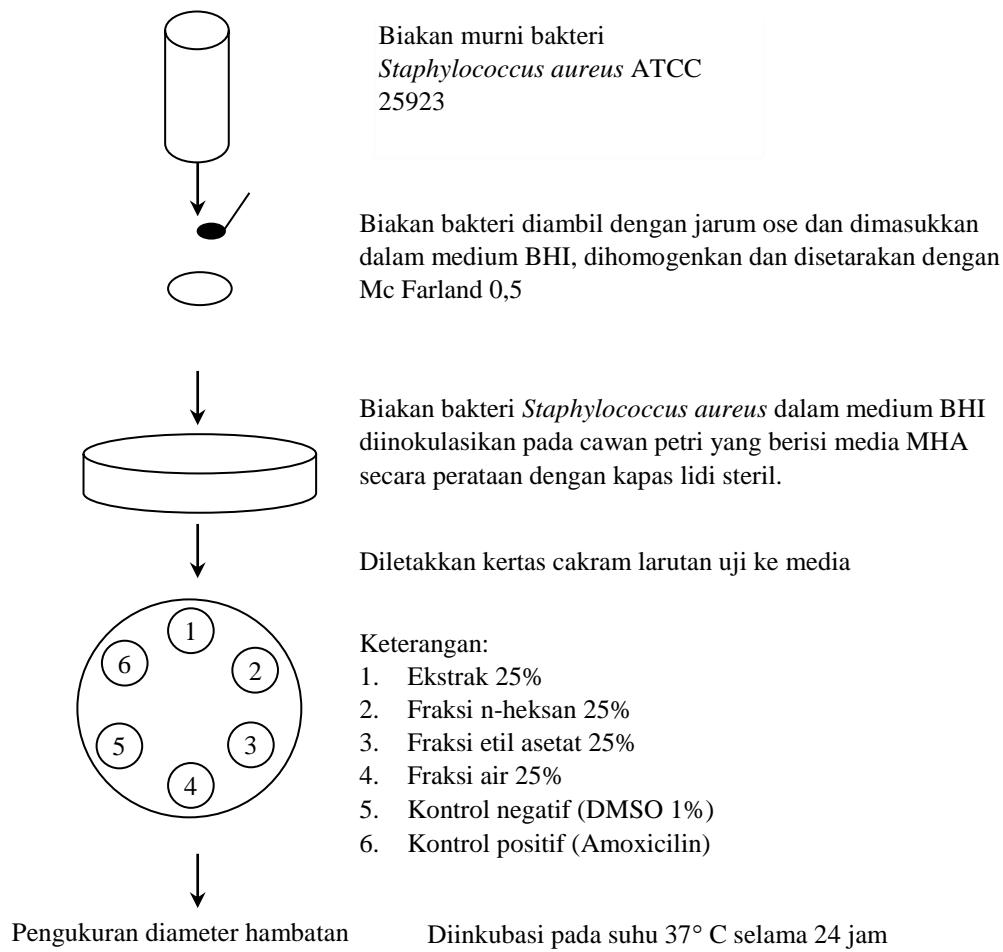
11.2 Metode dilusi. Metode ini menggunakan satu deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis. Metode dilusi dilakukan dengan memasukan bahan uji kedalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol uji positif dan negatif. Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 1%. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi yaitu 25%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,93%; 0, 195%; 0,097%; 0,049%. Medium BHI dimasukan ke masing-masing tabung uji secara aseptis, tabung pertama ditambahkan 0,5 ml dimasukan ke dalam tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 ml dimasukkan ke tabung ke tiga dan begitu seterusnya sampai tabung kesepuluh. Suspensi bakteri dalam medium BHI dimasukkan 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 bakteri uji. Tabung media diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24-48 jam, KBM ditunjukkan oleh konsentrasi yang tidak ditumbuhi oleh koloni pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA).

12. Pengamatan hasil

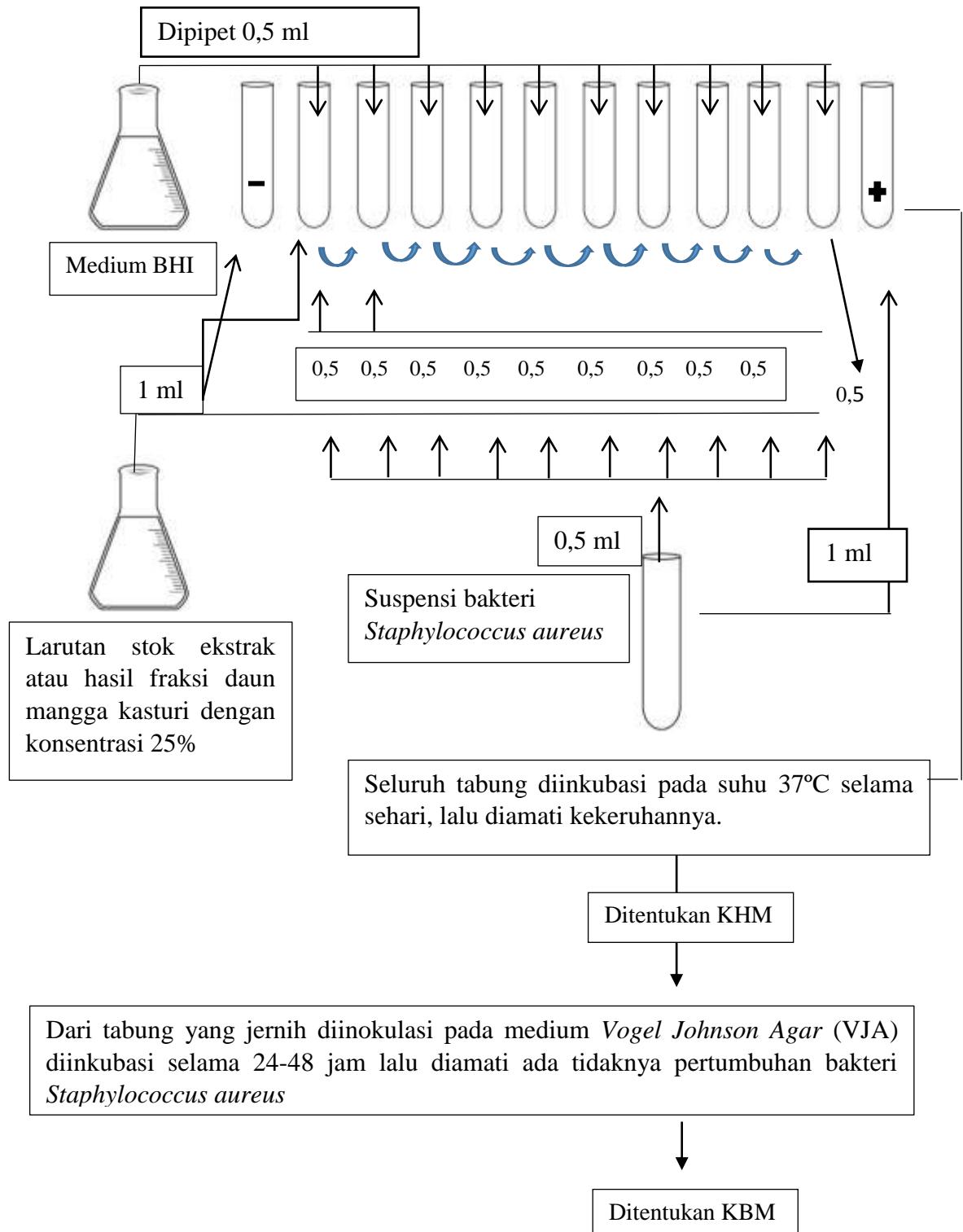
Hasil penelitian ini diamati berdasarkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada tabung reaksi dan di media VJA dan membandingkan hasil KHM dan KBM dan diameter zona hambat pada cawan petri dengan media MHA dari ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air daun mangga kasturi.



Gambar 2. Ekstraksi dan Fraksinasi daun mangga kasturi



Gambar 3. Skema uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari daun mangga kasturi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun mangga kasturi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

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

1.1. Hasil determinasi tanaman daun mangga kasturi. Determinasi tanaman daun mangga kasturi pada penelitian ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang terdapat pada tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi, mengetahui kebenaran serta menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lainnya. Determinasi tanaman daun mangga kasturi dilakukan di unit Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret. Berdasarkan determinasi tersebut dinyatakan bahwa tanaman yang diteliti adalah tanaman *Mangifera casturi* Kosterm. Hasil dari determinasi tersebut sebagai berikut: 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-14b-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. Familia 141. Anacardiaceae 1a-2a-3a-4a. 1. *Mangifera*. 2. *Mangifera casturi* Kosterm. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

1.2. Hasil deskripsi tanaman daun mangga kasturi. Daun mangga kasturi berbentuk lanset memanjang, tunggal, letak berseling, panjang 10-25cm, lebar 3-9cm, 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 mudan dan hijau hingga hijau tua setelah dewasa; tangkai daun bulat, pipih pada permukaan atas, menebal pada bagian pangkal, gundul, panjang 5-8cm.

2. Pengambilan dan pengeringan

Daun mangga kasturi diambil secara acak dikeringkan dengan sinar matahari dan menggunakan oven pada suhu 40°C. Pengeringan adalah suatu metode yang dimaksudkan untuk mengurangi kadar air dari suatu bahan dengan menggunakan energi panas. Tujuan pengeringan selain mengurangi kadar air juga

dapat mencegah pertumbuhan jamur, mencegah proses reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu, dan memperpanjang masa simpan. Setelah dilakukan pengeringan, bahan yang telah kering digiling dan diayak menggunakan pengayak no. 40. Penyerbukan bertujuan untuk memperkecil ukuran serbuk, memperluas permukaan partikel sehingga pengekstrakan dapat berlangsung lebih efektif (Anonim 2013).

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen daun mangga kasturi

Bobot daun basah (kg)	Bobot daun kering (kg)	Rendemen (%)
10 kg	3,25 kg	32,5 %

Berdasarkan data yang diperoleh berat kering serbuk daun mangga kasturi sebesar 3,25 kg dari berat basah 10 kg, dan diperoleh rendemen serbuk kering sebesar 32,5 %. Hasil perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 11.

2. Hasil penetapan kadar air

Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui presentase kadar air yang masih terkandung di dalam serbuk daun mangga kasturi. Presentase di bawah 10% adalah kadar air yang baik, sementara kadar yang terlalu tinggi dapat mempermudah pertumbuhan jamur dan mikroorganisme lain dan kadar yang terlalu tinggi dapat menurunkan mutu serbuk. Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada table 2. Perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada Lampiran 12.

Tabel 2. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi.

Bobot serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
20 g	2,0 ml	10 %
20 g	1,7 ml	8,5 %
20 g	1,6 ml	8,0 %
Rata-rata		8,83 %±1,41

Presentase hasil rata-rata dari penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi sebesar 8,83%, sehingga telah memenuhi syarat yang telah ditentukan (Anonim 1986).

3. Pembuatan ekstrak metanolik daun mangga kasturi

Pengekstrakan daun mangga kasturi dalam penelitian ini menggunakan pelarut metanol, hasil dapat dilihat pada tabel 3. Perhitungan rendemen ekstrak metanolik daun mangga kasturi dapat dilihat pada Lampiran 13.

Tabel 3. Hasil pembuatan rendemen ekstrak metanolik daun mangga kasturi

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

Hasil maserasi serbuk daun mangga kasturi didapatkan ekstrak sebanyak 167,8 gram dan 197,5 gram, rendemen yang didapat adalah sebanyak 16,78 % dan 15,19 %.

4. Uji bebas metanol ekstrak daun mangga kasturi

Ekstrak daun mangga kasturi hasil maserasi dilakukan uji bebas metanol dengan melakukan esterifikasi metanol. Uji ini dilakukan untuk membuktikan bahwa ekstrak hasil maserasi terbebas dari metanol, sehingga tidak mempengaruhi hasil pada saat pengujian antibakteri.

Tabel 4. Hasil pengujian bebas metanol

Esterifikasi	Hasil uji
Ekstrak + asam asetat + asam sulfat kemudian dipanaskan	Tidak berbau ester

Hasil pengujian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga kasturi telah terbebas dari metanol, hasil ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester (Praeparandi 2006).

5. Fraksinasi ekstrak daun mangga kasturi

Fraksinasi merupakan metode pemisahan antara zat cair dengan zat cair, yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya (Harborne 1987). Hasil fraksinasi ekstrak daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 5. Hasil fraksinasi dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 5. Rendemen fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot hasil fraksi (g)	Rendemen (%)
n-heksana	300,92	5,522	1,835
Etil asetat		56,281	18,702
Air		143,406	47,655

Berdasarkan hasil pada tabel 5, fraksinasi ekstrak metanol daun mangga kasturi menunjukkan kandungan senyawa yang terlarut dalam fraksi non polar

sebanyak 5,522 gram, fraksi semi polar sebanyak 56,281 gram, dan fraksi polar sebanyak 143,406 gram.

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

Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam serbuk, ekstrak, dan fraksi daun mangga kasturi. Pengujian kandungan kimia dilakukan dengan pereaksi warna dengan menggunakan tabung reaksi, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif ditunjukan dengan adanya tanda yang khas pada setiap pengujian. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 6 dan tabel 7.

Tabel 6. Hasil identifikasi golongan senyawa pada serbuk, dan ekstrak daun mangga kasturi

Senyawa	Hasil Identifikasi		Implementasi	
	Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Terbentuk warna merah	Terbentuk warna merah	+	+
Triterpenoid	Terbentuk cincin	Terbentuk cincin	+	+
Tanin	Warna hijau kehitaman	Warna hijau kehitaman	+	+
Saponin	Terbentuk busa stabil	Terbentuk busa stabil	+	+

Tabel 7. Hasil identifikasi golongan senyawa pada fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi

Senyawa	Hasil Identifikasi			Implementasi		
	n-heksanaa	Etil Asetat	Air	n-heksanaa	Etil Asetat	Air
Flavonoid	Warna hijau kehitaman	Terbentuk warna coklat	Terbentuk warna mereah	-	+	-
Triterpenoid	Terbentuk cincin	Terbentuk cincin	Terbentuk cincin	+	+	+
Tanin	Warna hitam	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	-	+	+
Saponin	Tidak terbentuk busa	Terbentuk busa stabil	Busa tidak stabil	-	-	+

Menurut hasil yang tertera pada tabel 6 dan tabel 7, hasil identifikasi secara kualitatif memberikan kesimpulan bahwa kandungan senyawa kimia yang

terdapat pada serbuk dan ekstrak metanolik adalah flavonoid, triterpenoid, tannin, dan saponin. Senyawa yang terdapat dalam fraksi n-heksana yaitu triterpenoid, pada fraksi etil asetat yaitu flavonoid, triterpenoid, dan tanin, sementara dalam fraksi air senyawa yang terkandung yaitu triterpenoid, tanin, dan saponin. Fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dinyatakan tidak mengandung saponin karena pada saat pengujian busa yang terdapat tidak stabil. Identifikasi kandungan senyawa dalam penelitian ini menggunakan tabung reaksi, sehingga perlunya identifikasi menggunakan metode lebih lanjut agar mendapatkan hasil yang lebih presisi.

7. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

7.1 Identifikasi bakteri secara makroskopis. Hasil identifikasi menunjukkan adanya beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasika manitol, yaitu asam yang dihasilkan menyebabkan perubahan fenol red pada agar berubah dari warna merah menjadi bewarna kuning dan mereduksi tellurit disekitar koloni hitam. (Jawetz dkk 2012). Hasil identifikasi secara makroskopis dapat dilihat pada Lampiran 7.

7.2 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Hasil identifikasi pewarnaan Gram menunjukkan bakteri uji adalah benar bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Dinyatakan positif karena pada saat pengamatan bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskopik dengan perbesaran 100x. Identifikasi *Staphylcoccus aureus* ATCC 25923 dapat dengan pewarnaan Gram, dimana Gram positif akan mempertahankan warna ungu dari kristal violet sedangkan Gram negatif tidak mempertahankan warna ungu kristal violet, tetapi zat warna safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskopis akan berwarna merahHasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 7.

7.3 Metode uji biokimia. Identifikasi bakteri uji secara biokimia ada dua yaitu uji katalase dan uji koagulase. Hasil uji katalase setelah penambahan setetes larutan hidrogen peroksida 3% pada kaca objek dan sejumlah kecil pertumbuhan bakteri diletakkan pada larutan. Hasil menunjukkan pembentukan gelembung

udara disekitar koloni, hal ini disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki enzim katalase.

Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan plasma darah kelinci (atau manusia) yang ditambah dengan sitrat yang telah diencerkan 1:5 pada tabung uji, kemudian diinkubasi selama 1-4 jam pada suhu 37°C. Hasilnya positif karena terbentuknya gumpalan plasma pada tabung uji (Jawetz dkk 2012). Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 7.

8. Uji aktivitas antibakteri bahan uji terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Uji yang telah dilakukan dengan metode difusi kertas cakram. Uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan yaitu meliputi ekstrak metanolik, DMSO 1%, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan amoxicillin. Metode difusi menggunakan cawan petri steril yang telah diisi dengan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) sebanyak 30 ml. Larutan stok ekstrak dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dibuat konsentrasi 25% dengan menggunakan pelarut DMSO 1%. Secara aseptis bakteri digoreskan pada cawan petri yang telah memadat dengan menggunakan kapas lidi steril. Setelah itu dipipet 30 µl larutan stok ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air kemudian diteteskan pada kertas cakram yang telah disterilkan dan didiamkan pada suhu kamar selama 10-20 menit. Kertas cakram yang telah dijenuhkan dari konsentrasi kemudian diletakkan diatas media, sebagai pembanding diletakkan pula kertas cakram amoxicillin dan sebagai kontrol negatif diletakan pula kertas cakram yang telah ditetesi DMSO 1%. Hasil pengujian dapat dilihat pada table 8 dan Lampiran 8.

Tabel 8. Hasil uji antibakteri metode difusi

Sediaan Uji	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)					Rata-rata (mm) ± SD
		1	2	3	4	5	
n-heksana	25%	12	11,3	14,3	11,3	12,3	12,24±1,23
Etil asetat	25%	21	20	20,5	23	23	21,5±1,41
Air	25%	16,3	12	12	13	11,3	12,92±1,98
Ekstrak	25%	19,6	15,6	20	16,3	17	17,7±1,98
Amoxicillin	25µg	25	21,6	20,3	22,6	22,3	22,36±1,72
DMSO	1%	0	0	0	0	0	0±0

Hasil dari tabel 7 menunjukan bahwa pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dilakukan dengan metode difusi sediaan uji etil asetat memiliki rata-rata daya hambat yang paling besar diantara sediaan uji fraksi lainnya,tetapi tidak melebihi rata-rata dari daya hambat Amoxicillin yaitu 22,36 mm pada antibiotik dan 21,5 mm pada etil asetat.Perbedaan signifikan pada perhitungan statistik ANOVA pada etil asetat dengan fraksi lainnya menunjukkan bahwa fraksi etil asetat adalah fraksi teraktif. Hal ini karena mungkin pada fraksi etil asetat mampu menarik senyawa yang paling kuat sebagai antibakteri, etil asetat merupakan senyawa semi polar sehingga senyawa yang terlarut juga bersifat semi polar yaitu senyawa flavonoid dan tanin.

Pengujian daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tidak dapat hanya menggunakan metode difusi karena bahan uji yang digunakan berwarna gelap, sehingga pengujian dilanjutkan dengan metode dilusi. Metode difusi dilakukan dengan menggunakan 12 rangkaian tabung reaksi termasuk kontrol positif dan negatif. Seri konsentrasi yang dibuat untuk pengujian adalah 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781; 0,391%; 0,196%; 0,098%; 0,049%, sebagai kontrol negatif adalah bahan uji fraksi etil asetat dan kontrol positif adalah bakteri uji dalam media *Brain Heart Infusion* (BHI). Menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan melihat kekeruhan tidak dapat ditentukan karena bahan uji yang digunakan berwarna gelap, sehingga kekeruhan pada tabung tidak dapat diamati oleh karena itu semua pengenceran dilakukan pengujian inokulasi dengan cara memindahkan bakteri ke medium yang baru dengan teknik penggoresan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan perlakuan tersebut dilakukan kepada fraksi teraktif yaitu fraksi etil asetat dan amoxicillin sebagai kontrol pembanding. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 9 dan Lampiran 9.

Tabel 9. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan amoxicillin

No	Konsentrasi (% b/v)	Fraksi Etil Asetat			Konsentrasi (% b/v)	Amoxicillin		
		I	II	III		I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-	Kontrol (-)	-	-	-
2	25	-	-	-	2,5	-	-	-
3	12,5	-	-	-	1,25	-	-	-
4	6,25	-	-	-	0,625	-	-	-
5	3,125	-	-	-	0,312	-	-	-
6	1,5625	-	-	-	0,156	-	-	-
7	0,781	+	+	+	0,078	-	-	-
8	0,391	+	+	+	0,039	-	-	-
9	0,196	+	+	+	0,019	-	-	-
10	0,098	+	+	+	0,0097	-	-	-
11	0,049	+	+	+	0,0049	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Larutan stok (fraksi/antibiotik)

Kontrol (+) : Suspensi bakteri

Penelitian ini menggunakan metode dilusi atau uji pengenceran. Metode ini bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal dari obat yang bersifat bakteriostatik dan bakterisid. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat diketahui dari konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri uji pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA). Hasil dari pengujian ini menunjukkan fraksi etil asetat memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi 1,5625 %. Hal ini berkaitan dengan senyawa yang terlarut dalam fraksi etil asetat, diantaranya flavonoid. Menurut Nuria dkk (2009) mekanisme Flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA topoisomase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria dkk 2009). Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk mengaktifkan adhesin sel mikroba, juga mengaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan 1999).

Amoxicillin didalam penelitian ini berperan sebagai kontrol pembanding, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) amoxicilillin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 0,0097%. Amoxicillin merupakan antibiotik berspektrum luas yang bersifat bakterisid, amoxicillin dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara merusak lapisan peptidoglikan yang memiliki mekanisme kerja dengan mencegah ikatan silang peptidoglikan pada tahap akhir sintesis dinding sel, yaitu dengan cara menghambat protein pengikat penisilin, protein ini merupakan enzim dalam membran plasma sel bakteri yang secara normal terlibat dalam penambahan asam amino yang berikatan silang dengan peptidoglikan dinding sel bakteri, dan memblok antivitas enzim transpeptidase yang membungkus ikatan silang polimer-polimer gula panjang yang membentuk dinding sel bakteri sehingga dinding sel menjadi rapuh dan mudah lisis (Pratiwi 2008). Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa aktivitas amoxicillin lebih efektif dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan dengan fraksi etil asetat dari daun mangga kasturi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan, bahwa:

Pertama, ekstrak metanolik, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun mangga kasturi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, yang paling efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat yang memiliki diameter hambat sebesar 21,5mm.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) fraksi etil asetat tidak dapat ditentukan karena bahan uji yang digunakan berwarna gelap. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat dari daun mangga kasturi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 1,562 %.

B. Saran

Pertama, melakukan identifikasi senyawa yang terkandung dalam daun mangga kasturi dengan KLT.

Kedua, melakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap daun mangga kasturi dengan konsentrasi yang lebih rendah.

Ketiga, melakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap tanaman mangga kasturi dengan menggunakan bagian tanaman yang lain.

Keempat, perlunya penelitian lebih lanjut tentang senyawa kimia yang terkandung dalam daung mangga kasturi atau bagian tanaman yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustrina, G. 2011. Potensi propolis lebah madu *Apis malifera spp* sebagai bahan antibakteri. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Hlm 1-2.
- Akbar, HR. 2010. Isolasi dan identifikasi golongan flavonoid daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) berpotensi sebagai antioksidan [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Hlm 2
- Andriyani, S. 2013. *Upaya konservasi kasturi (Mangifera casturi)*. Badan penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Bogor. <http://forplan.or.id/image/File/Apforgen/flyer/2010/kasturi.pdf> [15 Agustus 2016].
- [Anonim]. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm 135
- [Anonim]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cetakan;Pertama. Jakarta. Hlm 3-12.
- [Anonim]. 2009. *Mangifera casturi*. KPR-Gardener Club Indonesia. <http://www.botanix.kpr.eu/id/index.php?text=2-mangga-kalimantan-kasturi-mangifera-casturi> [20 Agustus 2016].
- [Anonim]¹. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Suplemen 3. Edisi 1. Hlm XX, 103.
- [Anonim]². 2013. *Farmakope Indonesia*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Edisi 5. Jakarta. Hlm 34.
- Arifianti, L. Oktarina, RD. Kusumawati, I. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengekstrasi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*. Vol 2. No 1. Hlm 3-4.
- Apriyantono, A. Fardiaz, D. Puspitasari, Ni Luh. Sedarnawati. Budiyanto, S. 1989. *Analisis pangan*. Penelaah: Deddy Muctadi. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
- Ayala-Silva, T. Gubruk, H. Urbina, C. Physico-chemical Evaluation of ‘Casturi’ Mango. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* Hlm 17.
- 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*.

- Cowan, MM. 1999. Plant procut as antimicrobial agent. *Clinical Microbioloy Review*. Edisi 12. Hlm 571-572.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat*. Jakarta. Trubus Agriwidya. Jilid 1. Hlm XIV.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta. Salemba Medika
- Darmawan, ARB. 2015. Usaha peningkatan kualitas mangga kasturi (*Mangifera casturi*) dengan modifikasi budi daya tanaman:review. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. Hlm 895-896.
- Dewi, AK. 2013. Isolasi, identifikasi dan uji selektivitas *Staphylococcus aureus* terhadap amoxicillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE) penderita masitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. Hlm 140.
- Evans, CW. 2009. *Pharmacognosy Trease and Evans*. 16th Ed. London : Saunders Elsavier. P. Hlm 263-356
- Fakhrudin, N. Putri, PS. Sutomo. Wahyuno, S. 2013. Aktivitas antiinflamasi ekstrak metanolik buah mangga kasturi (*Mangifera casturi*) melalui penghambatan migrasi leukosit pada mencit yang diinduksi thiiglikolat. *Traditional Medicine Journal*. UGM Hlm. 155-156.
- Garrity, GM., Lilburn, TG. Coles, JR. Harisson, SH. Euzeby, J. Tindall, BJ. 2007. *Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea*. Release 7.7 Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. Hlm 6-31.
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah Kokasih, P. & Iwang, S. Bandung: Penerbit ITB. Hlm 77-88, 127-129.
- Harborne, JB. 1996. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah kosasih, P. & Iwang. S. Bandung. Penerbit ITB. Hlm 29-31.
- Harti, AS. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan*. Surakarta. Penerbit Andi. Hlm 198-199.
- Hermawan, A. Hana, W. dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. *Artikel Ilmiah*. Hlm 2.

- Jawetz, E. Melnick, J, L. and Adelberg, E, A. 2012. *Mikrobiologi kedokteran*. Aryandito Widhi Mugroho, penerjemah. Jakarta:EGC. Vol 25. Hlm 190-210. 369-372.
- Jones, WP. dan Kinghorn, AD. 2006.Extraction of Plant Secondary Metabolies. In: Sarker, S, D., Latif, Z., dan Gray, A.I., eds. *Natural Products Isolation*. 2nd Ed. New Jersey: Humana Press. P. Hlm 341-342.
- Kusmiyati. Agustini, NWR. 2007. Uji Aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*. Vol 8. No 1. Hlm 48-49.
- Latief, A. 2012. *Obat Tradisional*. Jakarta:EGC. Hlm 1-2.
- Leon. LD. Lopez, MR. Moujir, L. 2009. Antibacterial properties of *Zeylasterone* a triterpenoid isolater from *Maytenus blepharacles* againts *Staphylococcus aureus*. *Microbacterial Reserch*. Hlm 620-625.
- Moore, LM.. 2004. *Mango (Mangifera indica L.)*. Plant Guide, USDA, National Resource Conservation Services, National Plant Data Team, <http://material.nrcs.usda.gov> [21 Agustus 2016].
- Mustikasari, K. Ariyani, D. 2008. Studi potensi binjai (*Mangifera caesia*) dan kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai antidiabetes melalui skrining fitokimia pada akar dan batang. *Sains dan Terapan Kimia*. Hlm 67-72.
- Mulyadi, AF. Maligan, JM. Wignyanto. Hermansyah, R. 2013. Karakteristik organoleptik serbuk perisa alami dari cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*): Kajian konsentrasi dekstrin dan suhu pengeringan. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol 14. No 3. Hlm 185
- Neal, MJ. 2005. *Medical Pharmacology at a Glance*. Penerjemah: Penerbit Erlangga. 2006. Hlm 82.
- Nuria, MC. Faizatun, A. Sumantri. 2009. Uji antibakteri ekstrak metanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *E. Coili* dan *Salmonela Typhi*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. Hlm 35-36.
- Nuria, MC. Astuti, EP. Sumantri. 2010. Antibacterial activities of ethyl acetate fractination of metanol extract from Sosor Bebek leaves (*Kalanchoe pinnata* Pers.).*Jurnal Ilmi-Ilmu Pertanian*. Vol. 6. No. 2. Hlm 54.
- Pengov, A. And Ceru, S. 2003. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. *J. Diary Sci*, 86:3157-3163.

- Pratiwi, ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Penerbit Erlangga. Hlm 154-161, 190-195.
- Praeparandi. 2006. *Card system Analisa kima farmasi kualitatif*. Bandung: Seksi Diklat Sten. Hlm 9.
- Putri, HL. Retnowati, R. Suratmo. 2015. Fraksi n-heksana dari ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dan uji fitokimia. *Kimia Student Journal*. Vol 1. Hlm 774-775.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: . Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Hlm 191.
- Rosyidah, K. Nurmuhaimina, SA. Komari, N. Astuti, MD. 2010. Aktivitas antibakteri ekstrak saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). *Alchemy*. Hlm 66-67.
- Saepudin. Sulistiawan, RY. Hanifah, S. 2007. Perbandingan penggunaan antibiotika pada pengobatan pasien infeksi salauran kemih yang menjalani rawat inap di salah satu RSUD di yogyakarta tahun 2004 dan 2006. [Skripsi]. Fakultas Mipa Jurusan Farmasi. Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Hlm 57-58.
- Setyowati, WAE. Ariani, SRD. Ashadi. Mulyanoi, B. Rahmawati, CP. 2014. Skrining fitokimia identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia IV*. Proceeding, ISBN:979363174-0. Hlm 273
- Soekiman, S. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Universitas Widya Kusuma Surabaya. Sagung Seto. Hlm 5, 198-199.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta. Papas Sinar Sinanti.
- Syarifuddin, NI. Badruzsaufari. Ni'mah, M. 2014. Perbandingan daya hambat antibakteri ekstrak kulit batang kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* 2302-Unr secara *In Vitro*. *Jurnal Pharmascience*. Hlm 48-52
- Tanaya, V. Retnowati, R. Suratmo. 2015. Fraksi semi polar dari daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm). *Kimia Student Journal*. Vol 1. Hlm 780-781.
- Tiwari, P. Kumar, B. Kaur, M. Kaur, G. Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scienca*. Vol 1. Issue 1. Hlm 99-103.

- Waluyo, L. 2008. *Tehnik dan Metode Dasar Mikrobiologi*. Malang. UMM:Press.
- Warsa, UC. 1993. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta. Binarupa Aksara. Hlm 103
- Werckenthin, C. Cardoso, M. Martel, JL. Schwarz, S. 2001. Antimicrobial resistance in *Staphylococci* from animal with particular reference to bovine *S. aureus*, porcine *S. hyicus* and *Camine. S. intermedius*. *J. Vet. Res.* 32:341-363.

L
A
M
P
J
R
A
R

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



Nomor : 66/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Andri Adi Pradana
NIM : 19133854A
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, ikat 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, taju 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 Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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



Lampiran 2. Foto tanaman daun mangga kasturi**Daun mangga kasturi****Pohon mangga kasturi**

Lampiran 3. Foto alat-alat**Timbangan elektrik****Autoclave****Oven****Botol untuk maserasi**

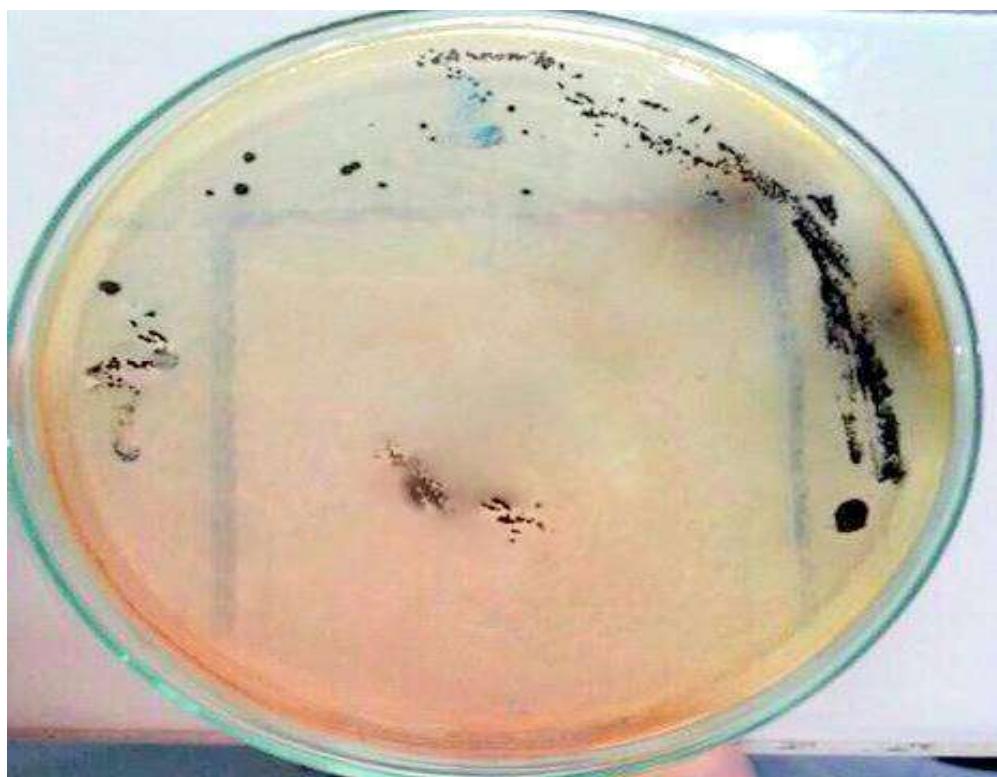
Lampiran 4. Foto rangkaian alat *Sterling-bidwell* dan alat evaporator**Rangkaian alat *sterling-bidwell*****Evaporator**

Lampiran 5. Foto fraksinasi dan hasil fraksinasi daun mangga kasturi**Fraksinasi ekstrak metanolik daun mangga kasturi****Fraksi air****Fraksi etil asetat****Fraksi n-heksana**

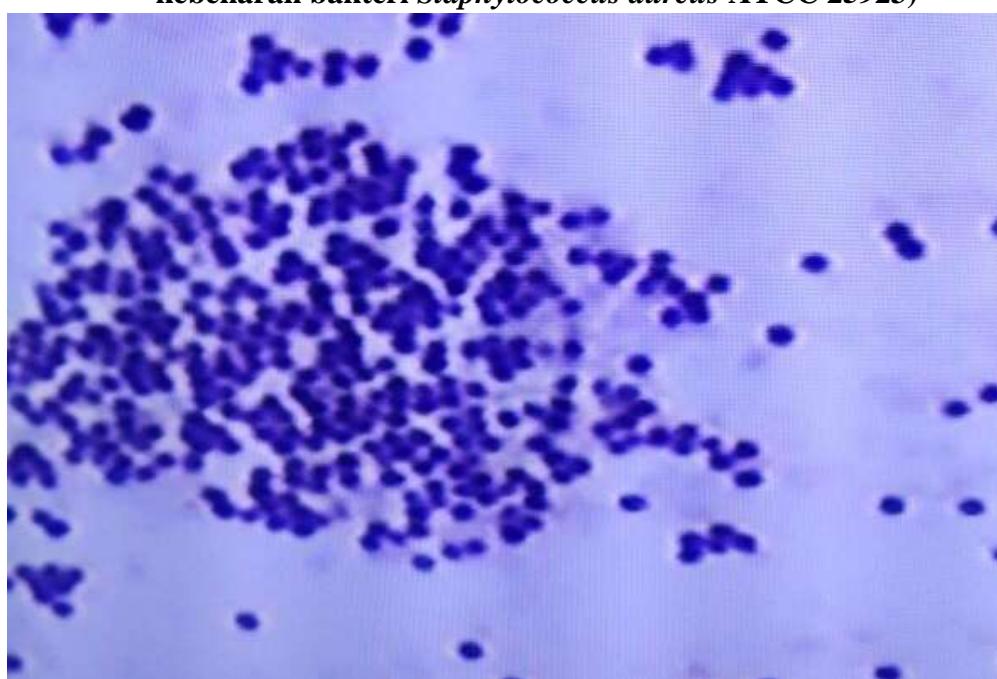
Lampiran 6. Foto hasil identifikasi senyawa serbuk, ekstrak metanolik, fraksi n-heksana, air, dan fraksi etil asetat daun mangga kasturi

Senyawa	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid		
Triterpenoid		
Tanin		
Saponin		

Senyawa	n-heksana	Etil Asetat	Air
Flavonoid			
Triterpenoid			
Tanin			
Sapomin			

Lampiran 7. Foto hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pengamatan makroskopis (adanya koloni berwarna hitam menunjukkan kebenaran bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923)



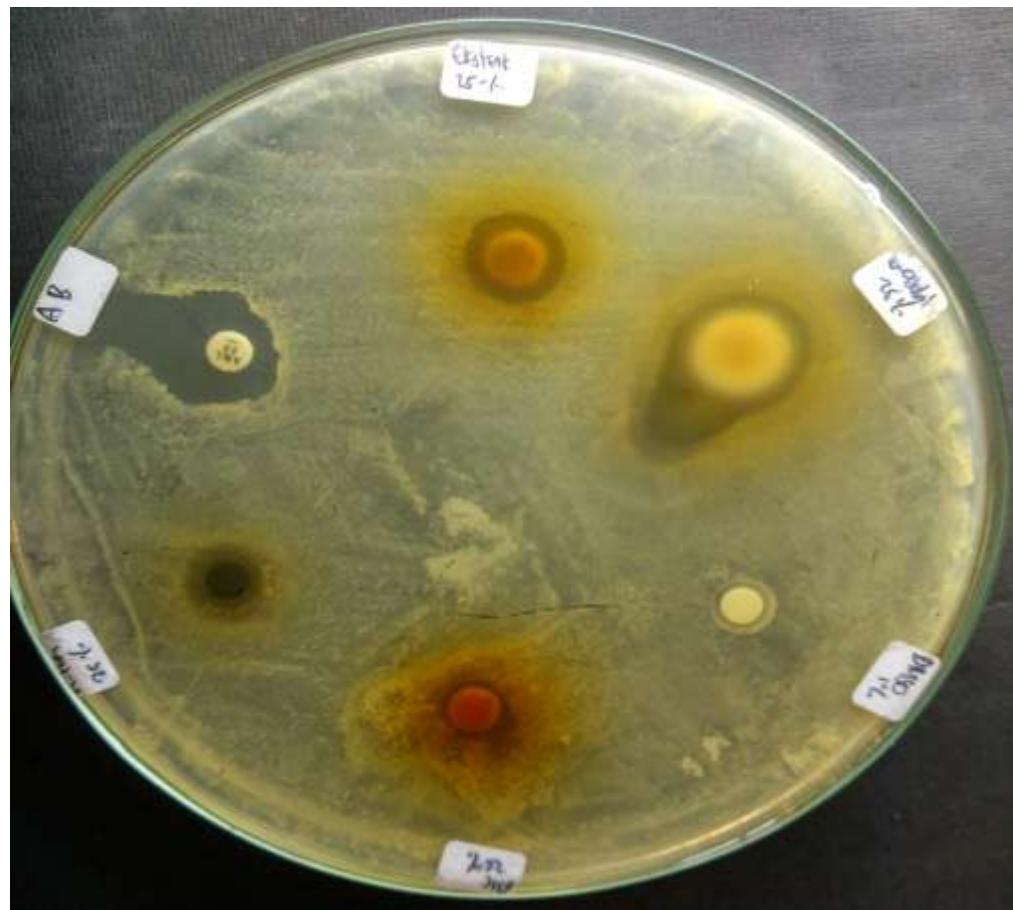
Pengamatan mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah perbesaran 100x bakteri berbentuk bulat dan bergerombol



Uji katalase terhadap
Staphylococcus aureus
ATCC 25923



Uji koagulase terhadap
Staphylococcus aureus
ATCC 25923

Lampiran 8. Foto hasil pengujian secara difusi cakram**Hasil uji secara difusi cakram**

Keterangan : Uji secara difusi dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari ekstrak metanolik, fraksi n-heksana, fraksi air, fraksi etil asetat, kontrol pembanding, dan DMSO 1%

Lampiran 9. Foto hasil uji dilusi dan inokulasi fraksi teraktif daun mangga kasturi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Foto hasil uji dilusi fraksi etil asetat

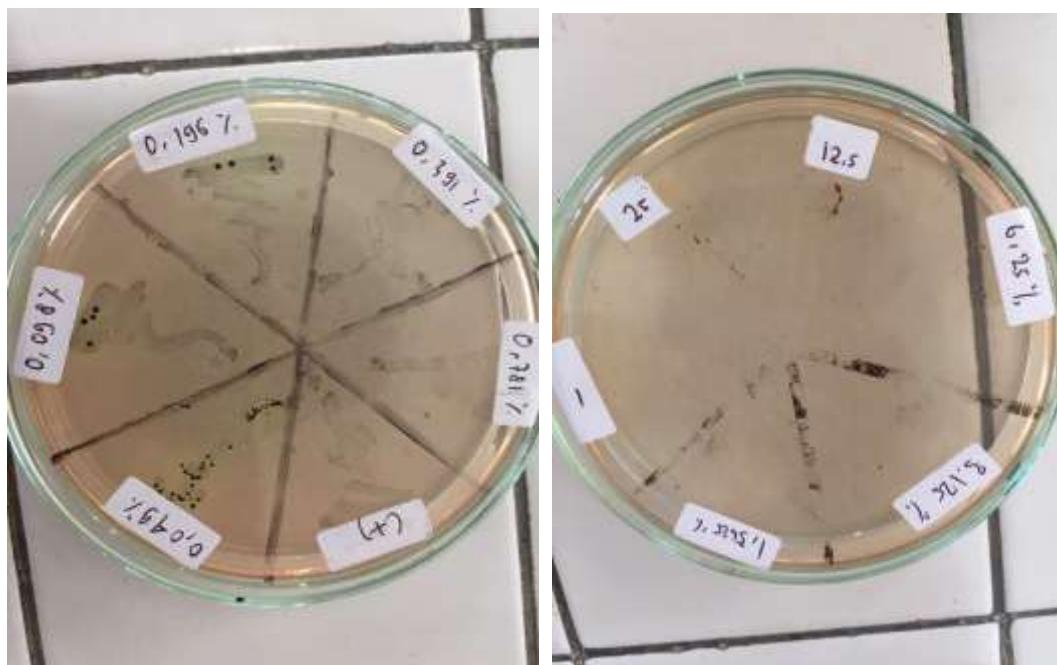


Foto hasil inokulasi fraksi etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 10. Foto hasil uji dilusi dan inokulasi kontrol pembanding terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

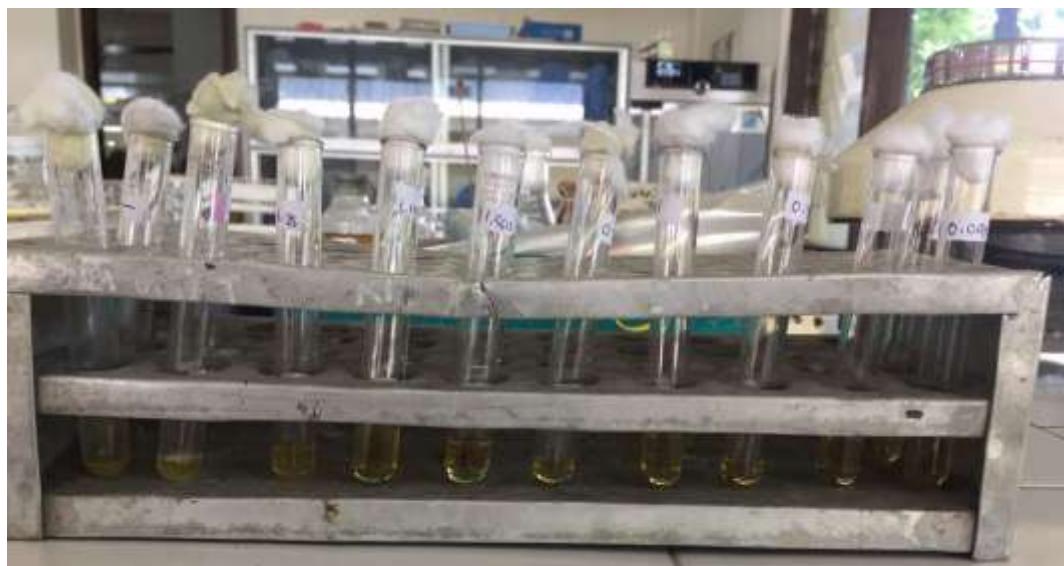


Foto hasil uji dilusi amoxicillin

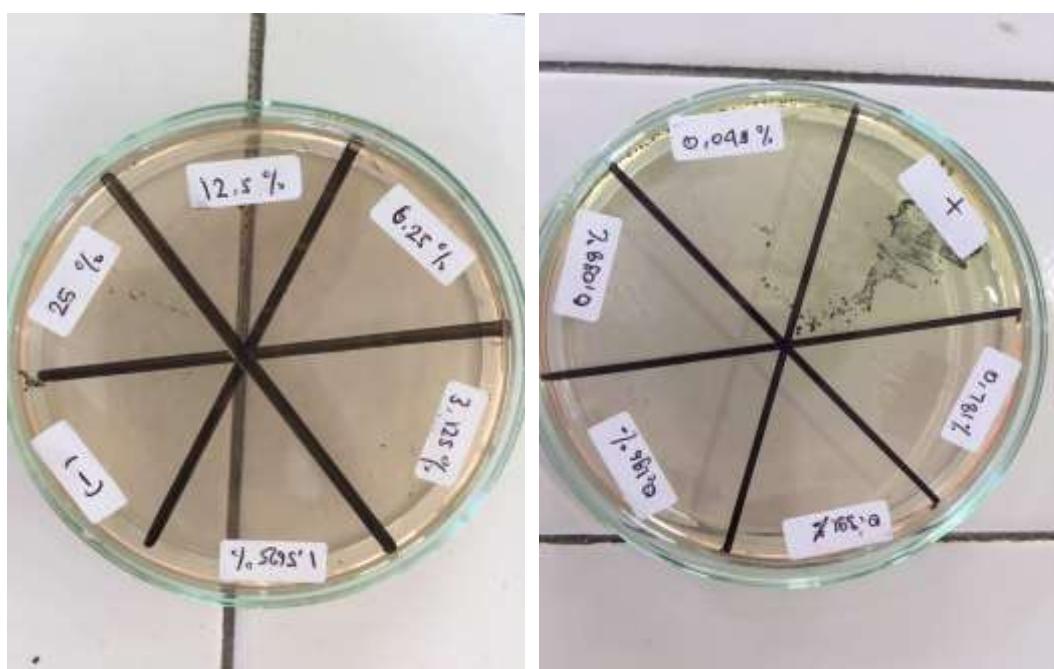


Foto hasil inokulasi kontrol pembanding terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 11. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun mangga kasturi

Bobot basah	Bobot kering	Rendemen
10 kg	3,25 kg	32,5 %

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

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

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

Lampiran 12. Perhitungan prodrntase penetapan kadar air daun mangga kasturi

Bobot serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
20	2,0	10,0 %
20	1,7	8,50 %
20	1,6	8,00 %
Rata-rata		8,84 %

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

$$\text{Kadar air 1} = \frac{2,0}{20} \times 100\% = 10,0 \%$$

$$\text{Kadar air 2} = \frac{1,7}{20} \times 100\% = 8,50 \%$$

$$\text{Kadar air 3} = \frac{1,6}{20} \times 100\% = 8,00 \%$$

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

Lampiran 13. Perhitungan rendemen ekstrak metanolik daun mangga kasturi

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

$$\text{Rata-rata kadar air} = \frac{10\% + 8,5\% + 8\%}{3} = 8,83\%$$

$$1) \% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ = \frac{167,8}{1000} \times 100\% = 16,78 \%$$

$$2) \% \text{ Rendemen} = \frac{197,5}{1300} \times 100\% = 15,19\%$$

Lampiran 14. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air metode dilusi

1. Konsentrasi 50%

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

2. Konsentrasi 25%

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$V1. 50\% = 1\text{ml}.25\%$$

$$V1.50\% = 25\%$$

$$V1 = 25\%/50\%$$

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

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

Lampiran 15. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi fraksi etil asetat metode dilusi.

Menimbang 3 gram fraksi etil asetat dalam vial, larutkan dengan 6ml DMSO 1%, kemudian diambil 3ml lalu dimasukan dalam vial tersendiri dan ditambahkan lagi DMSO 1% 3ml

No	Konsetrasi (%)	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	1,5625	0,5	3,125	1	1,5625	0,5 ml tab, 5 + BHI ad 1 ml
7	0,781	0,5	1,5625	1	0,781	0,5 ml tab, 6 + BHI ad 1 ml
8	0,391	0,5	0,781	1	0,391	0,5 ml tab, 7 + BHI ad 1 ml
9	0,196	0,5	0,391	1	0,196	0,5 ml tab, 8 + BHI ad 1 ml
10	0,098	0,5	0,196	1	0,098	0,5 ml tab, 9 + BHI ad 1 ml
11	0,049	0,5	0,098	1	0,49	0,5 ml tab, 10 + BHI ad 1 ml
12	-	-	-	-	-	1 ml suspense jamur

Keterangan : :

Tabung 1 = kontrol negatif

Tabung 3 = konsentrasi 12,5%

V1.N1 = V2.N2

V1.12,5% = 1 ml.6,25%

V1 = 0,5 ml

Tabung 11 diperoleh dari 0,5 ml tabung 10 ditambah BHI 0,5 ml kemudian dihomogenkan dan dibuang 0,5 ml

Tabung 12 yaitu kontrol positif suspense bakteri 1 ml

Tabung 2-11 ditambahkan 0,5 ml suspense bakteri

Lampiran 16. Perhitungan pengujian seri dosis antibiotik amoxicillin metode dilusi

Dosis amoksisilin	: 125 mg/5 ml = 25 mg/ml.
	: 2,5 g/100 ml = 2,5% b/v.
Konsentrasi 1	: 2,5 g/100 ml
Konsentrasi 2	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 2,5% = 1 x C_2 C_2 = 1,25%
Konsentrasi 3	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 1,25% = 1 x C_2 C_2 = 0,625%
Konsentrasi 4	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 0,625% = 1 x C_2 C_2 = 0,312%
Konsentrasi 5	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 0,312% = 1 x C_2 C_2 = 0,156%
Konsentrasi 6	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 0,156% = 1 x C_2 C_2 = 0,078%
Konsentrasi 7	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 0,078% = 1 x C_2 C_2 = 0,039%
Konsentrasi 8	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 0,039% = 1 x C_2 C_2 = 0,019%
Konsentrasi 9	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 0,019% = 1 x C_2 C_2 = 0,0097%
Konsentrasi 10	: $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ 0,5 x 0,0097% = 1 x C_2 C_2 = 0,0048%

Kontrol negatif (-) berisi 1 ml antibiotik amoksisilin

Kontrol positif (+) bersisi 1 ml suspense bakteri.

Lampiran 17. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi dan pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Beef, dehydrated infusion	300g
Casie hydrolysate	17,5g
Strach	1,5g
Agar-Agar	17g

Suspensikan 38g bahan diatas dalam 1000ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit

2. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

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

Suspensikan 37g bahan diatas dalam 1000ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit

3. Formulasi dan pembuatan *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Peptone from casein	10g
Yeast extract	5g
di-potassium hydrogen phosphate	10g
Glycine	10g
Phenol red	0,025g
Agar	13g

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam 1000ml aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri Ph 7,4

Lampiran 18. Hasil pengujian dengan SPSS

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
zonahambat	30	14.4533	7.77204	.00	25.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zonahamb at
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	14.4533
	Std. Deviation	7.77204
Terlaut	Absolute	.176
	Positive	.135
	Negative	-.176
Kolmogorov-Smirnov Z		.963
Asymp. Sig. (2-tailed)		.312

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Descriptives

Zonahambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
n-heksana	5	12.2400	1.23207	.55100	10.7102	13.7698	11.30	14.30
etil asetat	5	21.5000	1.41421	.63246	19.7440	23.2560	20.00	23.00
air	5	12.9200	1.98419	.88736	10.4563	15.3837	11.30	16.30
Ekstrak	5	17.7000	1.98494	.88769	15.2354	20.1646	15.60	20.00
K+	5	22.3600	1.72134	.76981	20.2227	24.4973	20.30	25.00
DMSO	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	30	14.4533	7.77204	1.41897	11.5512	17.3555	.00	25.00

Test of Homogeneity of Variances

Zonahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.478	5	24	.060

ANOVA

Zonahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1694.303	5	338.861	141.605	.000
Within Groups	57.432	24	2.393		
Total	1751.735	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Zonahambat

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana	etil asetat	-9.26000	.97837	.000	-12.2850	-6.2350
	air	-.68000	.97837	.981	-3.7050	2.3450
	Ekstrak	-5.46000	.97837	.000	-8.4850	-2.4350
	K+	-10.12000	.97837	.000	-13.1450	-7.0950
	DMSO	12.24000	.97837	.000	9.2150	15.2650
etil asetat	n-heksana	9.26000	.97837	.000	6.2350	12.2850
	air	8.58000	.97837	.000	5.5550	11.6050
	Ekstrak	3.80000	.97837	.008	.7750	6.8250
	K+	-.86000	.97837	.948	-3.8850	2.1650
	DMSO	21.50000	.97837	.000	18.4750	24.5250
air	n-heksana	.68000	.97837	.981	-2.3450	3.7050
	etil asetat	-8.58000	.97837	.000	-11.6050	-5.5550
	Ekstrak	-4.78000	.97837	.001	-7.8050	-1.7550
	K+	-9.44000	.97837	.000	-12.4650	-6.4150
	DMSO	12.92000	.97837	.000	9.8950	15.9450
Ekstrak	n-heksana	5.46000	.97837	.000	2.4350	8.4850
	etil asetat	-3.80000	.97837	.008	-6.8250	-.7750
	Air	4.78000	.97837	.001	1.7550	7.8050
	K+	-4.66000	.97837	.001	-7.6850	-1.6350
	DMSO	17.70000	.97837	.000	14.6750	20.7250
K+	n-heksana	10.12000	.97837	.000	7.0950	13.1450
	etil asetat	.86000	.97837	.948	-2.1650	3.8850
	Air	9.44000	.97837	.000	6.4150	12.4650

	Ekstrak	4.66000*	.97837	.001	1.6350	7.6850
	DMSO	22.36000*	.97837	.000	19.3350	25.3850
DMSO	n-heksana	-12.24000*	.97837	.000	-15.2650	-9.2150
	etil asetat	-21.50000*	.97837	.000	-24.5250	-18.4750
	Air	-12.92000*	.97837	.000	-15.9450	-9.8950
	Ekstrak	-17.70000*	.97837	.000	-20.7250	-14.6750
	K+	-22.36000*	.97837	.000	-25.3850	-19.3350

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

Homogeneous Subsets

Zonahambat

Tukey HSD^a

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
DMSO	5	.0000			
n-heksana	5		12.2400		
air	5		12.9200		
Ekstrak	5			17.7000	
etil asetat	5				21.5000
K+	5				22.3600
Sig.		1.000	.981	1.000	.948

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.