
SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI EKSTRAK ETANOL KERNEL BIJI BUAH LIMUS (*Mangifera foetida* Lour.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Vera Nurviana*, Tresna Lestari, Putri Megasari

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

Jalan Cilolohan No. 36, Kota Tasikmalaya, 46115. Telpon/Fax: (0265)334740 / (0265)334740 - Fax.
(0265)327224.

*Email: veranurviana@stikes-bth.ac.id

Received: 20 January 2018; Revised: March 2018; Accepted: March 2018; Available online: April 2018

ABSTRAK

Limus (*Mangifera foetida* Lour.) merupakan salah satu buah lokal Indonesia dari famili *anacardiaceae*. Limus mengandung metabolit sekunder yang memiliki efek farmakologis, termasuk pada limbah kernel biji buahnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada fraksi-fraksi ekstrak etanol kernel biji buah limus secara invitro menggunakan metode difusi padat dengan kontrol positif Tetrasiklin HCl. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, kemudian dilakukan fraksinasi sehingga diperoleh fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air. Berdasarkan hasil penelitian, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol kernel biji buah limus mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh fraksi etil asetat dengan konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 5% dengan diameter sebesar 4.33 ± 1.17 mm setara 30, 27 $\mu\text{g/mL}$ Tetrasiklin HCl, serta nilai KBM terhadap *Escherichia coli*. 4% (7.60 ± 0.14) mm setara dengan 26, 04 $\mu\text{g/mL}$ Tetrasiklin HCl.

Kata Kunci: Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Kernel, *M. foetida*.

ABSTRACT

Limus (*Mangifera foetida* Lour.) Is one of the local Indonesian fruits of the *anacardiaceae* family. Limus contain secondary metabolites that have pharmacological effects, including the kernel waste of the seeds of the fruit. This study aims to determine the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on the fraction of kernel seed of limus fruits ethanolic extract in invitro using solid diffusion method with positive control Tetracycline HCl. The extraction process was carried out by maceration method, then fractionation was obtained to obtain the fraction of n-hexane, ethyl acetate fraction and water fraction. Based on the result of the research, the fraction of n-hexane, ethyl acetate fraction, and water fraction of kernel ethanol extract limus fruit seed have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The highest activity was shown by fraction of ethyl acetate with minimum killing concentration (KBM) to *Staphylococcus aureus* was 5% with diameter equal to 4.33 ± 1.17 mm equal to 30, 27 $\mu\text{g} / \text{mL}$ Tetracycline HCl, and KBM value to *Escherichia coli*. 4% (7.60 ± 0.14) mm equivalent to 26, 04 $\mu\text{g} / \text{mL}$ Tetracycline HCl.

Keywords: Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Kernel, *M. foetida*.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme merupakan penyakit yang banyak ditemukan di masyarakat. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan spesies bakteri yang paling sering menyebabkan terjadinya infeksi pada manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan infeksi yang berupa abses setempat (borok dan jerawat), bakterimia, endokarditis, faringitis, pneumonia (Willey, 2008), meningitis, dan empiema (Brooks, 2007). *Escherichia coli* adalah bakteri yang merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia (Kusuma, 2010). *E. coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus, menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare (Brooks et al., 2007).

Upaya penanggulangan penyakit infeksi dapat dilakukan dengan pemberian antibakteri. Resistensi yang terjadi pada beberapa antibakteri sintesis mendorong upaya pengembangan obat yang berasal dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang dapat dijadikan sebagai anti bakteri adalah dari genus *mangifera*. Limus merupakan buah lokal yang masih banyak tumbuh di wilayah Tasikmalaya, Jawa Barat. Limus memiliki kekerabatan dengan mangga yaitu satu genus *Mangifera* dengan famili *anacardiaceae*. Mangiferin merupakan senyawa aktif yang terkandung pada genus *mangifera*. Mangiferin memiliki beberapa efek farmakologi yaitu antitumor, antibakterial, antioksidan, antiinflamasi dan aktivasi makrofag. Diantara berbagai kultivar mangga, ditemukan bahwa *Mangifera foetida* Lour. mengandung kadar mangiferin terbesar, yaitu sebesar 2,56% (Pohan, dkk. 2013).

Berdasarkan penelitian sebelumnya (Nurviana, 2016), ekstrak etanol kernel biji limus menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, dengan kandungan metabolit sekunder flavonoid, tanin, polifenol, monoterpen, seskuiterpen, dan kuinon. Penelitian ini bertujuan selanjutnya dapat dikembangkan menjadi suatu penelitian yang lebih kompleks di bidang pengembangan obat tradisional Indonesia.

METODE PENELITIAN

Alat

Maserator, timbangan analitik, *rotary evaporator*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, inkubator, autoklaf, jangka sorong, corong pisah, cawan petri, cawan uap, Erlenmeyer, dan alat-alat laboratorium lainnya.

Bahan

Kernel biji buah limus, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, etanol 96%, n-heksana, etil asetat, aquadest, media Nutrient Agar (NA), dan Mueller-Hinton Agar (MHA), Tetrasiklin HCl, NaCl fisiologis, larutan standar Mc. Farland, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, asam klorida (HCl), amil alkohol, logam Mg, besi (III) klorida, gelatin 1%, eter, vanillin-sulfat, pereaksi Lieberman-Burchard, NaOH 2N, kloroform.

PROSEDUR

Pengolahan Bahan

Kernel buah limus dipisahkan dari bijinya kemudian dirajang dan dikeringkan. Proses pengeringan menggunakan oven dengan suhu sekitar 30-45°C hingga memperoleh simplisia kering, kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus.

Pembuatan Ekstrak Dan Fraksi Biji Buah Limus

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Sejumlah serbuk kernel biji buah limus ditimbang kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Proses ini berlangsung selama 3x24 jam dalam maserator dengan penggantian pelarut setiap 24 jam dan sesekali dilakukan pengadukan. Ekstrak ditampung kemudian dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi

Ekstrak kental difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair hingga diperoleh masing-masing fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian Ekstrak Etanol Dan Fraksi Biji Buah Limus Terhadap Bakteri

Suspensi bakteri sebanyak 0,2 mL dengan kepadatan bakteri 1×10^8 CFU/mL dimasukkan ke dalam cawan petri steril lalu ditambahkan 20 mL Mueller Hinton Agar yang steril. Cawan digerakan dengan gerakan memutar supaya bakteri dan agar tercampur secara homogen, kemudian dibiarkan mengeras dan dibuat lubang-lubang sebanyak 4 lubang tiap cawan petri dengan jarak antar lubang yang sama. Setelah itu ekstrak dan fraksi biji buah limus dengan variasi konsentrasi 0-100% dimasukkan ke dalam tiap lubang sebanyak 50 μ L. Cawan petri kemudian diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37^o C. Kemudian diukur diameter hambat yang terbentuk, yaitu berupa daerah bening disekitar lubang.

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak dan Fraksi Biji Buah Limus

Ekstrak etanol dan fraksi biji buah limus yang aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* di uji kembali aktivitasnya dengan deret konsentrasi yang lebih kecil berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri. Konsentrasi terkecil yang dapat membunuh bakteri merupakan konsentrasi bunuh minimum.

Penetapan Kesetaraan Aktivitas Antibakteri Dengan Antibakteri Pembanding

Penetapan kesetaraan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi biji buah limus dengan suatu antibiotik pembanding (Tetrasiklin HCl) diperoleh dengan membandingkan respon berupa hambatan pertumbuhan bakteri dari zat uji terhadap respon dari antibiotik pada kondisi yang sama. Hasil dari pengamatan dibuat kurva baku dengan logaritma konsentrasi pada sumbu x dan diameter hambat (mm) pada sumbu y. Kurva digunakan untuk menghitung konsentrasi zat uji yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara memasukan nilai diameter hambat zat uji terhadap persamaan garis

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Dan Fraksinasi Biji Buah Limus

Hasil Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Saat perendaman sampel tumbuhan, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Ekstraksi senyawa dapat dilakukan sampai sempurna dengan mengatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut yang sesuai akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Rendemen yang diperoleh yaitu 26,653%.

Hasil Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair berdasarkan perbedaan polaritas dan konstanta dielektrik. Hasil yang diperoleh dari proses fraksinasi berupa fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri masing-masing fraksi terhadap bakteri *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*, pada tabel 1 dan 2, fraksi etil asetat ekstrak etanol kernel biji buah limus merupakan fraksi yang paling berpotensi sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri yang baik dilihat dari besarnya zona bening yang terbentuk disekitar sumuran masing-masing sampel dengan konsentrasi yang sama pada setiap fraksi. Diameter yang terbentuk menjadi suatu tanda keberadaan suatu senyawa metabolit pada sampel yang memiliki efek antibakteri.

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Fraksi Etil Asetat Biji Buah Limus

Fraksi paling aktif yang memberikan aktivitas antibakteri dilanjutkan uji konsentrasi bunuh minimum (KBM). Uji KBM dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil yang dapat membunuh bakteri uji dengan menurunkan konsentrasi pada fraksi paling aktif yaitu etil asetat. Fraksi etil asetat

dibuat konsentrasi dari 0-10% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penentuan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dapat dilihat pada tabel 3.

Penetapan Kesetaraan Aktivitas Fraksi Etil Asetat Kernel Biji Buah Limus Dengan Antibakteri Pembanding

Tetrasiklin merupakan antibiotik spektrum luas yang bersifat bakteriostatik dengan menghambat sintesis protein. Golongan ini aktif terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Kesetaraan aktivitas diperoleh dengan cara membandingkan respon berupa hambatan pertumbuhan bakteri dari zat uji terhadap respon dari baku pembanding Tetrasiklin HCl.

Hasil penentuan kesetaraan antibiotik pembanding tetrasiklin HCl terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Biji Buah Limus terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			
		Ekstrak Etanol	Fraksi N-Heksana	Fraksi Etil asetat	Fraksi Air
1	10%	0 ± 0	3.295 ± 0.064	13.13 ± 0.53	3.00 ± 0.71
2	20%	7.62 ± 0.08	3.725 ± 0.290	15.43 ± 0.25	4.55 ± 0.07
3	30%	7.88 ± 0.53	4.190 ± 0.057	16.30 ± 0.07	5.01 ± 0.72
4	40%	9.74 ± 1.26	4.480 ± 0.028	17.38 ± 0.32	5.02 ± 0.69
5	50%	10.28 ± 1.31	4.870 ± 0.071	20.42 ± 0.15	6.42 ± 0.11
6	50%	11.45 ± 1.48	5.275 ± 0.318	21.18 ± 0.18	7.85 ± 0.49
7	70%	12.73 ± 1.51	6.330 ± 0.240	22.05 ± 0.64	6.43 ± 0.12
8	80%	13.47 ± 1.20	7.460 ± 0.156	23.38 ± 0.18	8.65 ± 0.21
9	90%	14.40 ± 1.56	8.340 ± 0.156	27.24 ± 0.12	9.85 ± 0.78
10	100%	16.08 ± 0.39	9.390 ± 0.198	28.75 ± 0.85	10.41 ± 0.13

Keterangan : Diameter lubang 6 mm

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Biji Buah Limus terhadap bakteri *Escherichia coli*

No	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			
		Ekstrak Etanol	Fraksi N-Heksana	Fraksi Etil asetat	Fraksi Air
1	10%	10.2 ± 0.63	4.28 ± 0.32	14.46 ± 0.06	4.58 ± 0.11
2	20%	12.03 ± 0.74	4.47 ± 0.05	18.33 ± 0.25	5.88 ± 0.54
3	30%	13.23 ± 0.81	5.20 ± 0.07	19.05 ± 0.78	6.49 ± 0.33
4	40%	14.55 ± 0.99	6.39 ± 0.20	20.38 ± 0.18	7.33 ± 0.25
5	50%	16.15 ± 0.92	7.54 ± 0.13	21.43 ± 0.39	7.50 ± 0.07
6	50%	17.18 ± 0.46	8.34 ± 0.01	22.31 ± 0.27	8.16 ± 0.06
7	70%	18.60 ± 0.14	9.25 ± 0.28	23.33 ± 0.25	8.65 ± 0.28
8	80%	19.10 ± 0.42	9.52 ± 0.25	24.60 ± 0.28	9.55 ± 0.28
9	90%	20.20 ± 0.57	10.45 ± 0.18	26.00 ± 2.12	10.43 ± 0.25
10	100%	21.12 ± 0.76	11.25 ± 0.28	26.50 ± 1.41	11.46 ± 0.15

Keterangan : Diameter lubang 6 mm

Tabel 3. Hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Fraksi Etil Asetat Kernel Kernel Buah Limus Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

No	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	1%	0 ± 0	0 ± 0
2	2%	0 ± 0	0 ± 0
3	3%	0 ± 0	0 ± 0
4	4%	0 ± 0	7.60 ± 0.14
5	5%	4.33 ± 1.17	9.53 ± 0.01
6	6%	6.50 ± 0.07	10.53 ± 0.02
7	7%	9.59 ± 0.09	11.57 ± 0.01
8	8%	10.45 ± 0.13	12.45 ± 0.21
9	9%	11.88 ± 0.88	13.35 ± 0.21
10	10%	12.43 ± 0.11	14.57 ± 0.01

Keterangan: Diameter Lubang 6 mm

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri Tetrasiklin HCl dengan metode difusi agar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Tetrasiklin HCl (µg/mL)	Diameter Hambat <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)
30	2.13 ± 0.014
40	3.27 ± 0.014
50	4.21 ± 0.007
60	5.45 ± 0.014
70	6.53 ± 0.007
80	7.40 ± 0.014
90	8.60 ± 0.007
100	9.70 ± 0.028

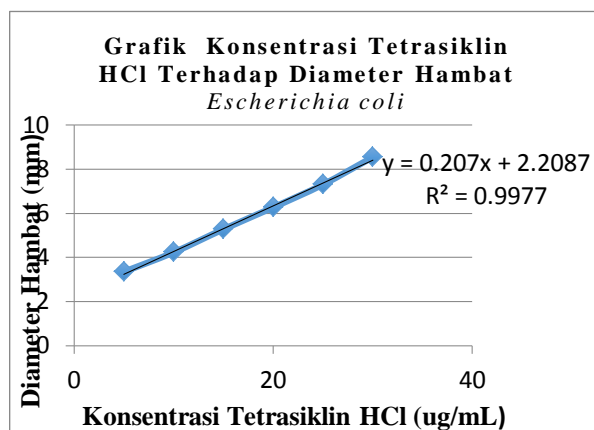
Keterangan: Diameter Lubang 6 mm

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri Tetrasiklin HCl dengan metode difusi agar terhadap bakteri *Escherichia coli*

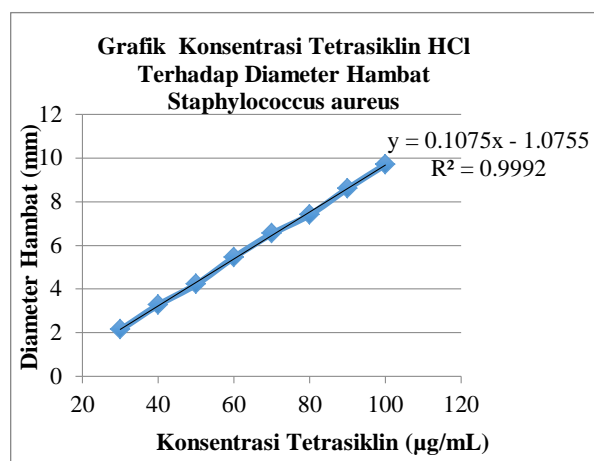
Konsentrasi Tetrasiklin HCl (µg/mL)	Diameter Hambat <i>Escherichia coli</i> (mm)
5	3.35 ± 0.028
10	4.23 ± 0.014
15	5.28 ± 0.042
20	6.27 ± 0.028
25	7.31 ± 0.028
30	8.55 ± 0.028

Keterangan: Diameter Lubang 6 mm

Untuk menentukan kesetaraan antibiotik pembanding Tetrasiklin HCl terhadap bakteri dibuat kurva baku dengan menempatkan data konsentrasi Tetrasiklin HCl (µg/mL) pada sumbu x dan diameter bunuh bakteri (mm) pada sumbu y dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Grafik Konsentrasi Tetrasiklin HCl Diameter Hambat *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. Grafik Konsentrasi Tetrasiklin HCl Diameter Hambat *Escherichia coli* serta nilai KBM terhadap *Escherichia coli*. 4% (7.60 ± 0.14) mm setara dengan 26, 04 ug/mL Tetrasiklin HCl.

Berdasarkan perhitungan tersebut dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 4% ekstrak etil asetat kernel limus mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang setara dengan konsentrasi baku Tetrasiklin HCl = 30,27 ug/ml dan pada konsentrasi 3% fraksi etil asetat ekstrak etanol kernel buah limus mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang setara dengan konsentrasi baku Tetrasiklin HCl = 26,04 ug/ml .

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol kernel buah limus mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh fraksi etil asetat dengan konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 5% dengan diameter sebesar 4.33 ± 1.17 mm setara 30, 27 ug/mL Tetrasiklin HCl,

DAFTAR PUSTAKA

Brooks, G.F., Butel, J.S., and Morse, 2007, *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg Edisi 23*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

- Kusuma, Sri Agung Fitri. 2010. *Escherichia coli*. Universitas Padjadjaran Fakultas Farmasi, Bandung.
- Nurviana, Vera., Lestari, Tresna., Megasari, Putri., 2016, Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kernel Kernel Buah Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Escherichia Coli.*, *PharmaXplore* Issn: 2527-5801, *Jurnal Sains dan Ilmu Farmasi* Vol. 1 No 2 November 2016
- Pohan, Anggi P.N. dkk. 2013. Efek kelasi ekstrak etanol daun *Mangifera foetida* pada feritin serum penderita talasemia di RS Cipto mangunkusumo, Tahun 2012. *Jurnal efek kelasi ekstrak etanol mangifera foetida*. Vol. 1, No.1.
- Willey, J.M., L.M. Sherwood. & C.J. Woolverton., 2008, *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, Seventh Edition, The McGraw-Hill Companies, Inc, New York.