

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACT ETHANOL MANGO ARUM MANIS SKIN (*Mangifera indica* L) ON *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Wulandari^{*}, Indah Sulistyarini

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi Semarang”

Jl. Letnan Jendral sarwo Edie Wibowo Km. 1, plamongansari, Pucanggading, Semarang

*email : wulwul001@gmail.com

Abstract

*Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is a strain of Staphylococcus aureus that has been resistant to the antibiotic activity of the β -lactam group, including the penicillinase-resistant penicillins (oxacillin, methicillin, nafcillin, cloxacillin, dicloxacillin), cephalosporin and carbapenem. Therefore, it is necessary to consider the use of alternative antibiotics, especially through the utilization of Indonesian medicinal plants. One of them is the use of mango arum manis skin (*Mangifera indica* L). The skin of mango contains phenolic compounds, carotenoids, flavonoids and anthocyanins. This research aims to determine whether mango arum manis skin extract has the ability to inhibit the growth of MRSA bacteria. Mango cultivar arum manis skin extract is made by remaceration method with 70% ethanol solvent. Test of Antibacterial activity of mango arum manis skin extract was undertaken by diffusion method at 5%, 10%, 15%, 20%, 25% concentration with positive control of ciprofloxacin and negative control of dimethylsulfoxide (DMSO). The results showed that mango arum manis skin extract has the ability to inhibit the growth of MRSA bacteria.*

Keywords: mango arum manis skin, extract, methicillin resistant Staphylococcus aureus

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan flora normal yang ditemukan pada saluran pernafasan dan saluran pencernaan. Ketika terjadi ketidakseimbangan flora normal dalam tubuh *S. aureus* dapat bersifat patogen dan menginfeksi manusia (Entjang, 2003). *S. aureus* menjadi masalah yang sangat serius karena peningkatan resistensi bakteri ini terhadap berbagai jenis antibiotik (*Multi Drug Resistance*) (Afifurrahman dkk, 2014)

Bakteri *S. aureus* dilaporkan telah resisten terhadap antibiotik methicillin dan dikenal sebagai *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Yuwono, 2010). *Methicillin resistant S. aureus* merupakan strain *S. aureus* yang telah resisten terhadap aktivitas antibiotik golongan β -laktam, termasuk golongan

penicillinase-resistant penicillins (oxacillin, methicillin, nafcillin, cloxacillin, dicloxacillin), cephalosporin dan carbapenem. Selain itu, resistensi silang juga terjadi pada antibiotik non- β -laktam seperti eritromisin, klindamisin, gentamisin, kotrimoksazol, dan siprofloksasin (Afifurrahman dkk, 2014)

Antibiotika glikopeptida vancomycin adalah obat pilihan (*drug of choice*) untuk terapi infeksi MRSA. Peningkatan penggunaan vancomycin dan pemberiannya yang tidak tepat untuk terapi MRSA memungkinkan terjadinya peningkatan resistensi *S. aureus* terhadap vancomycin. Karenanya perlu dilakukan pertimbangan terhadap pemakaian antibiotik alternatif, terutama melalui pemanfaatan tanaman obat Indonesia.

Salah satu bagian tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber obat alami adalah kulit buah mangga (*Mangiera indica*). Kulit mangga yang pada awalnya hanya menjadi bahan buangan setelah diteliti ternyata mengandung senyawa aktif penting seperti senyawa fenolik, karotenoid, flavonoid dan antosianin (Gondi, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol dari kulit mangga memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri MRSA.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, *waterbath*, cawan porselen, bejana kromatografi, botol penyemprot, dan lampu UV 254 nm, cawan petri, ose bulat, lampu spiritus, *cylinder cup*, inkubator, jangka sorong, otoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), mikropipet, spektrofotometer.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah mangga arum manis (*Mangifera indica* L), etanol 70%, serbuk Mg, HCl pekat, amil alkohol, aquadest, FeCl₃, HCl 10%, HCl 2%, Dragendorff, Meyer, Bouchardat, larutan gelatin, NaCl, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO_{4(p)}, media *Nutrient Broth*, *Nutrient Agar* dan *Mannitol Salt Agar*, bakteri *Methicillin resistant Staphylococcus aureus*, siprofloksasin dan Dimetilsulfoksida (DMSO).

Pembuatan ekstrak etanol kulit mangga

Serbuk kulit mangga arum manis ditimbang sebanyak 600 gram dan diremaserasi 3 x 24 jam menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan serbuk : pelarut (1:5) dalam bejana tertutup. Campuran didiamkan selama 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan. Campuran serbuk dan penyari disaring dengan kain kola sehingga didapatkan

maserat. Maserat yang diperoleh dijadikan satu lalu penyari diuapkan dengan bantuan *rotary evaporator*. Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan kembali di atas penangas air dengan suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan menambahkan asam asetat dan H₂SO₄ ke dalam ekstrak kental kulit mangga kemudian dipanaskan. Jika ekstrak masih mengandung etanol akan terbentuk bau pisang. Cara lain adalah dengan menambahkan asam sulfanilat, HCl, dan larutan NaNO₂ ke dalam sejumlah kecil ekstrak kental kulit mangga. Campuran tersebut ditambah larutan NaOH kemudian dipanaskan. Jika ekstrak masih mengandung etanol akan terbentuk warna merah frambos (Schoorl, 1988).

Uji Skrining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Sampel ditambah 0,1 mg serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Kemudian ditambah amil alkohol, kocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Sampel positif mengandung flavonoid bila terbentuk warna kuning, jingga atau merah pada lapisan amil alkohol (Hasan dkk, 2016).

b. Uji Tanin

Sampel ditambah dengan aquadest, lalu dididihkan selama 5 menit. Larutan kemudian disaring dan filtratnya ditambah larutan FeCl₃ sebanyak 1% (Setyowati dkk, 2014). Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan cara sampel dilarutkan dalam aquadest dan dipanaskan, kemudian ditambah larutan NaCl 10% dan gelatin 1% bila timbul endapan menunjukkan adanya tanin (Hanani, 2015).

c. Uji Steroid/ Triterpenoid

Sampel ditambahkan 5 ml kloroform kemudian disaring dan diuapkan. Filtrat ditambah asam asetat anhidrat

dan H_2SO_4 . Sampel positif mengandung steroid/triterpenoid apabila menghasilkan warna coklat kemerahan atau hijau (Setyowati dkk, 2014)

d. Uji Alkaloid

Sampel dicampurkan 1 ml HCl 2N dan 9 ml akuades panas. Larutan dipanaskan selama 2 menit, lalu didinginkan dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing ditambah dengan pereaksi Dragendorff, Mayer dan Bouchardat. Sampel positif mengandung alkaloid ditunjukkan dengan terdapat endapan merah bata untuk pereaksi Dragendorff, endapan putih atau kekuningan untuk pereaksi Mayer dan endapan coklat sampai hitam untuk pereaksi Bouchardat (Depkes RI, 1995)

e. Uji Saponin

Sampel ditambahkan dengan aquades kemudian dipanaskan selama 5 menit, kemudian dikocok. Adanya saponin ditunjukkan terbentuknya busa yang stabil selama 10 menit. Penambahan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Depkes RI, 1995).

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran

Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam cawan petri dan didiamkan, biarkan memadat. Cawan petri yang telah berisi media MSA diletakkan 7 buah *cylinder cup* steril untuk membuat lubang pada metode sumuran. Media MSA sebanyak 20 ml dalam keadaan cair suhu $40-50^{\circ}C$ dicampur dengan suspensi bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi $1,0 \times 10^8$ CFU/ml sebanyak 5 μ l. Media yang berisi bakteri dituang ke dalam cawan petri di atas lapisan dasar tanpa mengisi bagian dalam *cylinder cup*. Media dibiarkan memadat pada suhu kamar.

Masing-masing *cylinder cup* diangkat dan sumuran yang terbentuk

diberi 50 μ l ekstrak kulit mangga dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO, dan kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 0,005%. Media yang telah diberi perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$. Daya hambat berupa diameter zona bening yang tidak ditumbuhi bakteri diukur menggunakan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit mangga varietas arum manis pada konsentrasi 5%, 10%, 15, 20 dan 25% terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Pemilihan sampel kulit buah mangga karena selama ini masyarakat hanya mengkonsumsi daging buahnya saja sementara kulit buah dibuang begitu saja sebagai limbah. Padahal di dalam kulit buah mangga terkandung senyawa-senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan khususnya sebagai antibakteri.

Untuk mengetahui potensi kulit mangga sebagai antibakteri, kulit mangga perlu dibuat ekstrak terlebih dahulu untuk memudahkan pengujian. Sebelum dilakukan proses ekstraksi, kulit mangga dikeringkan untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam kulit mangga dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dan ditutup kain hitam. Proses pengeringan kulit mangga bertujuan untuk mencegah terjadinya reaksi enzimatik dan tumbuhnya jamur karena kadar air yang berlebihan yakni lebih dari 10% dapat menyebabkan sampel mudah ditumbuhi oleh jamur.

Sampel yang telah kering dihaluskan guna memperluas kontak dengan cairan penyari yaitu etanol 70%. Dengan demikian diharapkan rendemen yang diperoleh akan semakin besar. Dari 600 gram serbuk kering kulit mangga didapatkan rendemen ekstrak sebesar 37,41%.

Ekstrak yang diperoleh dilakukan uji bebas etanol untuk memastikan bahwa ekstrak sudah tidak mengandung etanol. Seperti yang telah diketahui bahwa etanol juga memiliki sifat sebagai antibakteri sehingga dengan adanya etanol di dalam sampel akan membuat rancu apakah yang

bekerja sebagai antibakteri etanol dalam sampel atau kandungan senyawa aktif di dalam sampel kulit mangga. Hasil pengujian bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak telah bebas dari etanol yang disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Uji Bebas Etanol Ekstrak Kulit Mangga Arum Manis

Pereaksi	Literatur (Hasil Positif)	Ekstrak Kulit Mangga Arum Manis
Asam Asetat + H ₂ SO ₄ → Dipanaskan	Bau pisang (Schoorl, 1988)	Tidak berbau pisang (bebas etanol)
Asam sulfanilat + HCl + NaNO ₂ + NaOH → Dipanaskan	Terbentuk warna merah frambos (Schoorl, 1988)	Terbentuk warna coklat (bebas etanol)

Ekstrak kulit mangga yang sudah bebas dari etanol diuji kandungan senyawa aktifnya meliputi uji flavonoid, tannin, steroid/triterpenoid, alkaloid dan saponin.

Hasil dari uji skrining fitokimia ekstrak kulit mangga arum manis disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Mangga Arum Manis

Senyawa	Pereaksi	Hasil Literatur	Hasil Uji
Flavonoid	Sampel + serbuk Mg + HCl (p) + amil alkohol	Positif jika terbentuk warna jingga sampai merah pada lapisan amil alcohol (Depkes RI, 1987)	Warna jingga (+)
Tannin	Sampel + 2-3 tetes FeCl ₃	Positif jika timbul warna hijau kecoklatan atau biru-hitam (Hanani, 2014)	Warna biru kehitaman (+)
	Sampel+larutan gelatin 1% dalam 10% NaCl	Positif jika menimbulkan endapan putih atau kekuningan (Hanani, 2014)	Endapan putih (+)
Steroid/ Triterpenoid	Sampel + 5 ml kloroform → saring lalu uapkan Filtrat + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ (p)	Positif: Warna coklat kemerahan adanya triterpenoid dan warna hijau adanya steroid (Setyowati dkk, 2014)	Warna coklat kemerahan (+)
Alkaloid	Sampel+ 1 ml HCl 2 N +9 ml aquadest panas, dinginkan, dan disaring + <i>Dragendorff</i>	Positif jika terbentuk endapan merah bata (Depkes RI, 1995)	Endapan merah bata (+)
	Sampel+ 1 ml HCl 2 N + 9 ml aquadest panas, dinginkan dan disaring+ <i>Mayer</i>	Positif jika timbul endapan putih atau kuning (Depkes RI, 1995)	Tidak ada endapan (-)
	Sampel+ 1 ml HCl 2 N +9 ml aquadest panas, dinginkan dan disaring+ <i>Bouchardat</i>	Positif jika terbentuk endapan coklat sampai hitam (Depkes RI, 1995)	Endapan coklat (+)
Saponin	Sampel + aquadest panas, dinginkan dan kocok hingga timbul busa/buih. Didiamkan 10'+ HCl 2 N	Positif jika terbentuk buih stabil (Depkes RI, 1995)	Buih stabil (+)

Uji flavonoid dilakukan untuk memastikan apakah dalam kulit mangga varietas arum manis mengandung senyawa ini. Logam Mg dan HCl pada uji ini mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga (Prashant, 2011). Uji tannin dilakukan dengan pereaksi FeCl_3 1% yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman karena tanin bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks (Harborne, 1987). Metode kedua dengan penambahan NaCl dan gelatin ditandai dengan timbulnya endapan putih kekuningan. Tanin bereaksi dengan gelatin membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air (Harborne, 1987).

Senyawa triterpenoid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna (Robinson, 1995). Hasil positif uji pendahuluan triterpenoid adalah terbentuknya larutan berwarna merah, jingga atau ungu. Penambahan asam asetat

anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil dari triterpenoid (Harborne, 1987). Pada uji alkaloid penambahan HCl bertujuan untuk meningkatkan kelarutan alkaloid dikarenakan alkaloid bersifat basa, ketika diekstrak dengan pelarut yang bersifat asam akan terbentuk alkaloid dalam bentuk garam yang lebih mudah larut dalam pelarut polar (Harborne, 1987).

Saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif pada permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa (Robinson, 1995).

Setelah diketahui senyawa aktif dalam ekstrak kulit mangga arum manis, maka uji dilanjutkan pada aktifitas antibakteri pada MRSA dengan menggunakan metode difusi sumuran. Hasil uji aktifitas antibakteri dari beberapa replikasi tersaji pada tabel 3.

Tabel 3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Mangga Arum Manis terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Replikasi	Diameter Zona Bening (Cm)						
	Ekstrak					Kontrol	
	5%	10%	15%	20%	25%	positif	negatif
1	0,790	0,931	1,113	1,296	1,439	2,681	0,000
2	0,774	0,900	1,141	1,286	1,415	2,693	0,000
3	0,781	0,908	1,125	1,284	1,418	2,688	0,000
4	0,793	0,926	1,130	1,294	1,411	2,698	0,000
5	0,782	0,906	1,114	1,287	1,429	2,696	0,000
X ± SD	0,784	0,914	1,125	1,289	1,422	2,691	0,000

Uji aktifitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan metode difusi sumuran metode ini memiliki beberapa keuntungan diantaranya adalah aktivitas antibakteri sampel dapat diamati ke segala arah baik di permukaan,

tengah maupun pada lapisan bawah dan dapat menampung sampel dengan jumlah lebih banyak. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mannitol Salt Agar* (MSA), yang mengandung NaCl yang sangat tinggi yaitu 7,5 % - 10%.

Bakteri *S. aureus* mampu beradaptasi dengan lingkungan dengan kadar garam yang tinggi sedangkan bakteri lain tidak mampu bertahan pada lingkungan dengan kadar garam tinggi. Selain itu MSA mengandung mannitol dan indikator *phenol red*. Adanya *S. aureus* akan menfermentasi mannitol menghasilkan asam yang mengubah warna media indikator *phenol red* dari warna merah menjadi kuning, sehingga MSA merupakan media selektif untuk pertumbuhan *S. aureus* (Hodges, 2000).

Penanaman suspensi bakteri MRSA menggunakan metode *pour plate* sehingga bakteri yang ditambahkan ke dalam media MSA dapat berdifusi merata pada seluruh media, mulai dari permukaan sampai kedalam media MSA. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak yang akan dilakukan uji antibakteri adalah *Dimetil Sulfoksida* (DMSO). Pelarut ini merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Pelarut ini juga tidak memberikan daya hambat terhadap bakteri pada hasil akhir sehingga dapat dipastikan zona hambat yang terbentuk dalam pengujian aktivitas antibakteri berasal dari senyawa-senyawa dalam ekstrak kulit mangga arum manis bukan dari pelarutnya. Oleh karena itu DMSO juga digunakan sebagai kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah siprofloksacin. Siprofloksacin memiliki aktivitas bakterisid pada fase pertumbuhan bakteri berdasarkan inhibisi enzim DNA bakteri, sehingga sintesis DNA bakteri dapat dihambat (Ganiswara, 2005). Ciprofloksacin efektif terhadap bakteri yang resisten terhadap antibiotika lain misalnya penisilin, aminoglikosida, sefalosporin dan tetrasiklin. Siprofloksacin efektif terhadap bakteri gram negatif dan positif (Yuwono, 2010).

Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak kulit mangga arum manis memiliki aktifitas antibakteri yang ditandai dengan

terbentuknya zona bening pada berbagai konsentrasi ekstrak. Zona bening yang terbentuk semakin besar dengan adanya peningkatan konsentrasi ekstrak. Dengan demikian senyawa-senyawa yang terkandung dalam kulit mangga arum manis seperti flavonoid, tannin, triterpenoid, alkaloid dan saponin dapat dikatakan aktif menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.

KESIMPULAN

Ekstrak kulit mangga arum manis memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

DAFTAR PUSTAKA

- Afifurrahman. 2014. *Pola Kepekaan Bakteri Staphylococcus aureus terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang*. Palembang: Majalah Kedokteran Sriwijaya, Th. 46, No. 4.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tanaman Obat cetakan I*. Jakarta : DepKes RI.
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta : DepKes RI
- Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Djambatan
- Entjang. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Perawat dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditia.
- Gondi, M & U. J. S. Prasada Rao. *Ethanol extract of mango (Mangifera indica L.) peel inhibits α -amylase and α -glucosidase activities, and ameliorates diabetes related biochemical parameters in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats*. J Food Sci Technol (December 2015) 52(12):7883–7893. India
- Ganiswara S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta : UI-Fakultas Kedokteran

- Gandjar, I.G. Rohman, G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Hanani, E.M.S. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi. Diterjemahkan oleh Padmawinata K. dan Soediro I. Edisi II. Bandung : ITB.
- Hodges, N. 2000. *Handbook Of Microbiological Quality Control*. Newyork : Taylor & Francis Inc
- Juliantina F., Dewa A. C. M., Bunga N., Titis N dan Endrawati T. B. 2010. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 1. (1).
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung
- Orwa C, A Mutua, Kindt R , Jamnadass R, S Anthony. 2009 *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0*
- Prashant. 2011. Phytochemical Screening and Extraction. *Internationale Pharmaceutica Scientia*.
- Schoorl. 1988. *Materi Pelengkap Kemurnian Cara Pemisahan Obat*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press
- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi., Mulyani, B., dan Rahmawati, C., P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*. ISSBN : 979363174-0
- Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta : Kanisius
- Yuwono. 2010. *Identifikasi Staphylococcal Cassette Chromosome Mec Methicillin Resistant Staphylococcus aureus dengan Polymerase Chain Reaction*. Palembang : Universitas Sriwijaya