

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
DAUN JAMBU MONYET (*Anacardium occidentale* L.) DAN
TETRASIKLIN TERHADAP *Staphylococcus aureus* SENSITIF
DAN MULTIRESISTEN ANTIBIOTIK**

NASKAH PUBLIKASI



**Oleh :
MUH. ISNAINI ZUHRI
K 100 090 152**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
JAMBU MONYET (*Anacardium occidentale* L.) DAN TETRASIKLIN
TERHADAP *Staphylococcus aureus* SENSITIF
DAN MULTIRESISTEN ANTIBIOTIK**

Oleh :

MUH. ISNAINI ZUHRI
K 100 090 152

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : Jumat

Tanggal : 18 Januari 2013

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,


Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

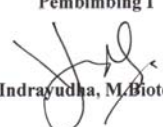
Penguji I


Ratna Yuliani, M.Biotech.St

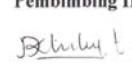
Penguji II


Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

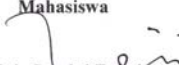
Pembimbing I


Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Pembimbing II


Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Mahasiswa


Muh. Isnaini Zuhri

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU
MONYET (*Anacardium occidentale* L.) DAN TETRASIKLIN TERHADAP
Staphylococcus aureus SENSITIF DAN MULTIRESISTEN ANTIBIOTIK**

***ANTIBACTERIAL ACTIVITIES ETHANOL EXTRACT COMBINATION LEAF
CASHEW (*Anacardium occidentale* L.) and tetracycline SENSITIVE TO *Staphylococcus
aureus* ANTIBIOTICS AND MULTIRESISTEN***

**Muh Isnaini Zuhri, Ika Trisharyanti Dian Kusumowati, Peni Indrayudha
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Ahmad Yani, Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102 Telp. (0271) 717417
Email: iisna31@yahoo.com**

ABSTRAK

Penyakit infeksi masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang. Tetrasiklin merupakan salah satu antibiotik spektrum luas yang mempunyai efek baik pada Gram positif dan Gram negatif. Daun jambu monyet mempunyai aktivitas antibakteri. Alternatif yang bisa dilakukan untuk meminimalkan efek samping penggunaan antibiotik adalah dengan mengkombinasikan zat aktif di dalam tanaman yang berkhasiat antibakteri tersebut dengan antibiotik. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efek kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* sensitif dan *Staphylococcus aureus* multiresisten.

Ekstraksi daun jambu monyet menggunakan penyari etanol 96% dengan metode maserasi. Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk menentukan diameter zona hambat dengan metode difusi (Kirby Bauer). Ekstrak etanol daun jambu monyet dibuat dengan kadar 10% dengan pelarut DMSO 20%. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet: tetrasiklin dibuat tiga perbandingan yaitu: 25:75 ; 50:50 ; dan 75:25 dengan volume total 10 µL. Pengambilan berturut-turut 2,5µL:7,5µL ; 5µL:5µL ; dan 7,5µL:2,5µL yang dimasukkan ke dalam disk antibiotik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin menunjukkan efek tidak sinergis pada semua perbandingan dalam menghambat *Staphylococcus aureus* sensitif dan *Staphylococcus aureus* multiresisten. Diameter zona hambat berturut-turut sebesar 16 mm (25:75), 15 mm (50:50) dan 9 mm (75:25) pada *Staphylococcus aureus* sensitif, dan 13 mm (25:75), 13 mm (50:50) dan 11 mm (75:25) pada *Staphylococcus aureus* multiresisten.

Kata kunci : Antibakteri, *Staphylococcus aureus* sensitif, *Staphylococcus aureus* multiresisten, *Anacardium occidentale* L, Tetrasiklin.

ABSTRACT

One of the plants can be used as medicine is cashew (*Anacardium occidentale* L.). Cashew leaves efficacious as anti-inflammatory, high blood pressure, antidiabetic, cancer sores, rheumatism, antifungal, antimicrobial, and have antioxidant activity. One study shows that cashew leaves have power resistor and can be used as an antibacterial material. Alternatives can be done to minimize the side effects of antibiotic use is to combine the active substance in the plant are efficacious antibiotics with antibacterial. The purpose of this study to determine the effect of the combination of ethanol extract of guava leaf and tetracycline against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus aureus* sensitive multiresisten.

Extraction of cashew leaves using 96% ethanol penyari by maceration method. Antibacterial activity test performed to determine the diameter of inhibition zone by diffusion method (Kirby Bauer). The ethanol extract of guava leaf monkey made with levels of 10% to 20% solvent DMSO. The combination of ethanol extract of guava leaf: tetracycline made three comparisons, namely: 25:75; 50:50, and 75:25 with a total volume of 10 mL. Taking successively 2.5 mL: 7.5 mL; 5 μ L: 5 μ L, and 7.5 mL: 2.5 mL were incorporated into the antibiotic disk.

The results showed that the combination showed antagonistic effect on all the comparisons to inhibit *Staphylococcus aureus* sensitive and *Staphylococcus aureus* multiresisten. Inhibition zone diameter, respectively for 16 mm (25:75), 15 mm (50:50) and 9 mm (75:25) on the sensitive *Staphylococcus aureus*, 13 mm (25:75), 13 mm (50:50) and 11 mm (75:25) in *Staphylococcus aureus* multiresisten.

Keywords: Antibacterial, *Staphylococcus aureus* sensitive, *Staphylococcus aureus* multiresisten, *Anacardium occidentale* L, Tetracyclines.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Penyebab utama sakit infeksi di daerah tropis seperti Indonesia adalah karena keadaan udara yang berdebu, temperatur yang hangat dan lembab sehingga mikroba dapat tumbuh subur. Hal tersebut mendorong pentingnya penggalan sumber obat-obatan antimikroba dari bahan alam (Hertiani *et al.*, 2003). Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, contoh bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi adalah *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al.*, 2005).

S. aureus merupakan patogen utama bagi manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi ini (Neal, 2006). Infeksi tersebut bervariasi mulai dari infeksi kulit ringan sampai infeksi berat yang mengakibatkan kematian. *S. aureus* juga dapat menyebabkan diare dan sering menimbulkan penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses, pneumonia, endokarditis, dan septikemia (Setiabudy & Gan, 2008).

Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menggunakan obat ideal yang merupakan zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi yang disebut antibiotik

(Setiabudy & Gan, 2008). Salah satu contoh antibiotik ialah tetrasiklin. Tetrasiklin adalah senyawa bakteriostatik yang mempunyai 4 cincin hidrokarbon dan mampu menghilangkan ion-ion logam yang penting bagi kehidupan bakteri (Siswandono & Soekardjo, 1995). Tetrasiklin dihasilkan secara semisintetik dari klortetrasiklin yang memiliki kerja spektrum luas karena aktif terhadap sejumlah besar bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, aerob maupun anaerob (Goodman & Gilman, 2008). Tetrasiklin berperan menghambat sintesis protein bakteri dengan cara berikatan pada bagian 16S ribosom dan subunit 30S, sehingga mencegah aminoasil-tRNA terikat pada situs A (situs aktif) pada ribosom. Tetapi masalah yang sering muncul pada antibiotik adalah terjadinya resistensi. Resistensi bakteri terhadap antibiotik yang sering dipergunakan membawa masalah yang dapat menggagalkan terapi antibiotik (Pratiwi, 2008).

Meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut, memacu adanya penemuan obat baru untuk menemukan produk alternatif pengganti yang lebih poten, murah, memiliki efek samping yang kecil. Alternatif yang dapat mengatasi masalah resistensi antibiotik terhadap bakteri *S. aureus* yaitu kombinasi antibiotik konvensional dengan tanaman-tanaman yang mempunyai aktivitas antibakteri. Kombinasi antibiotik bertujuan untuk mendapatkan efek sinergis, mengurangi terjadinya resistensi antibiotik, dan untuk infeksi berat seperti infeksi polimikrobial (Pratiwi, 2008). Adwan dan Mhanna (2008) melakukan penelitian tentang kombinasi dengan ekstrak dari beberapa tumbuhan *Laurus nobilis*, *Psidium guajava*, *Salvia fruticosa*, *Majorana sryaca*, *Syzygum aromaticum* dan *Rosa damascena* dengan antibiotik seperti oksitetrasiklin, penisilin, sulfadimetoksin, gentamisin, dan enrofloksasin dengan tujuan mengurangi adanya resistensi bakteri. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya efek sinergis dari kombinasi antibiotik dan ekstrak dari tumbuh-tumbuhan tersebut terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Pada penelitian ekstrak etanol *Salvadora persica* yang dikombinasikan dengan antibiotik (penisilin dan tetrasiklin) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan efek sinergis antara ekstrak tanaman dengan antibiotik (Ahmed *et al.*, 2010).

Salah satu tanaman yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah jambu monyet (*Anacardium occidentale* L.). Penelitian yang dilakukan oleh Doss dan Thangavel (2011) yang melakukan uji daun dan kulit biji jambu monyet menggunakan ekstrak air, aseton dan etanol terhadap dua Gram-positif patogen manusia seperti bakteri *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, empat bakteri Gram-negatif patogen *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit biji *Anacardium occidentale* L. yang paling efektif terhadap semua

organisme uji dengan zona penghambatan berkisar 12,0-34,0 mm, dan ekstrak aseton daun *Anacardium occidentale* L. juga aktif terhadap semua tes organisme dengan zona penghambatan berkisar 12,0-28,0 mm. Penelitian itu menunjukkan bahwa ekstrak tanaman jambu monyet dapat dikombinasikan dengan antibiotik dan memiliki khasiat yang cukup kuat sebagai antibakteri. Daun jambu monyet diketahui mengandung tanin, alkaloid, saponin, terpenin, flavonoid, polifenol, asam anakardat, tatrol, flavonolol, asam anakardiol, kardol, dan metil kardol (Dalimartha, 2003). Asam anakardat yang terkandung dalam getah biji jambu monyet juga memiliki aktivitas sebagai moluskisida, antitumor, antibiotika, dan inhibitor enzim tirosinase (Budiati, 2003).

Berdasarkan uraian tersebut dilakukan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sensitif dan multiresisten antibiotik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan aktivitas yang lebih baik dibandingkan aktivitas tunggal tetrasiklin atau ekstrak etanol daun jambu monyet terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sensitif dan multiresisten antibiotik.

KATEGORI DAN METODE PENELITIAN

A. Kategori penelitian

Jenis penelitian : penelitian eksperimental.

B. Bahan dan alat

1. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian, yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, sedangkan yang multiresisten diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Daun jambu monyet yang digunakan berasal dari desa Gatak Malangan, Sukoharjo. Etanol 96%, Mueller Hinton (MH), media Brain Heart Infusion (BHI), standar McFarland 10^8 CFU/ml, aquades, *Manitol Salt Agar* (MSA), cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D, *Dimethylsulfoxide* (DMSO), etanol 70%, *disk* antibiotik tetrasiklin, dan *paper disk*.

2. Alat-alat yang digunakan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, blender, alat timbang (Precisa), pengaduk kayu, bejana *stainless steel*, *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Memmert), cawan porselin, autoklaf (My Life), mikroskop (Olympus), *Laminar Air Flow* (Astari Niagara International), inkubator (Memmert), lampu spritus

(Bunsen), mikropipet (Socorex), *blue tips*, *yellow tips*, lampu UV254, bejana pengembangan, *shaker incubator* (New Brunswick), dan termasuk alat-alat gelas.

C. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman jambu monyet dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, yaitu dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi daun, batang dan bunga dengan pustaka.

2. Penyiapan Bahan

Daun jambu monyet diambil dari salah satu pohon di desa Gatak Malang Sukoharjo, sudah dipisahkan dari daun yang rusak kemudian dicuci dengan air sampai bersih. Daun jambu monyet yang telah bersih, dikeringkan, kemudian diserbuk dengan blender. Serbuk yang sudah jadi digunakan untuk ekstraksi.

3. Ekstraksi

Serbuk simplisia 1 kg direndam dengan 7,5 L etanol 96% dalam bejana maserasi. Simplisia dimaserasi selama 5 hari dan terlindung dari cahaya matahari. Maserat yang telah jadi disaring kemudian dievaporasi dan selanjutnya diuapkan di atas *waterbath*. Ampas dari maserasi pertama, kemudian diremaserasi.

4. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat gelas berupa cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, pipet volume, dan labu takar dicuci bersih dibungkus kertas, dimasukkan ke dalam oven (pemanasan kering) pada pemanasan 175°C selama 90-120 menit. Alat dan bahan yang tidak tahan pemanasan kering seperti media, pipet tetes, *yellow tips*, dan *blue tips* dimasukkan dalam autoklaf (pemanasan basah) pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang telah disterilkan dapat langsung dipakai atau disimpan dalam keadaan tertutup rapat, sedangkan untuk media yang tidak segera digunakan harus disimpan pada suhu 4°C (di dalam almari es).

5. Pembuatan Media

Media tersedia dalam kemasan, sehingga pembuatannya dengan cara melarutkan serbuk dalam *aquadest* sesuai dengan cara kerja yang terdapat pada kemasan.

6. Identifikasi bakteri

a. Pengecatan Gram

Suspensi bakteri diambil 1 ujung mata ose dan diratakan pada gelas obyek yang telah dibebaslemakkan dengan dipanasi di atas nyala Bunsen hingga kering kemudian ditetesi formalin 1% ditunggu 5 menit kemudian dikeringkan lagi dan preparat siap dicat. Preparat yang telah siap dicat digenangi dengan cat gram A selama 1–3 menit kemudian digenangi cat

gram B selama 0,5–1 menit, setelah itu cat dibuang dan dicuci dengan air. Preparat kemudian ditetesi cat gram C sampai warna cat dilunturkan. Setelah itu preparat digenangi cat gram D selama 1–2 menit kemudian dicuci dan dikeringkan dalam udara kamar. Preparat siap diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali (Gambar 1).

b. Uji Biokimiawi

Bakteri digoreskan pada *Manitol Salt Agar* (MSA), kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam.

7. Uji mikrobiologi

a. Pembuatan stok bakteri

Bakteri induk diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta diambil dengan mata ose, kemudian dilakukan kultur dengan digoreskan pada media Mueller Hinton (MH), diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Bakteri tersebut disimpan pada suhu 4°C dan digunakan sebagai stok bakteri.

b. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri diambil dari stok sebanyak 3-4 koloni, dimasukkan pada media Brain Heart Infusion yang telah tersedia kemudian diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Hasil tersebut diambil sebesar 100 µL, disuspensikan dalam 1 mL Brain Heart Infusion kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-5 jam. Suspensi bakteri yang digunakan untuk pengujian konsentrasinya disamakan standar Mc Farland 10^8 CFU/mL.

c. Pembuatan stok ekstrak etanol daun jambu monyet.

Ekstrak etanol daun jambu monyet dibuat dengan konsentrasi sebesar 20%. Ekstrak etanol daun jambu monyet ditimbang 2 gram kemudian dilarutkan dengan DMSO 2% sampai 10 mL. Larutan stok 20% ekstrak etanol daun jambu monyet diambil dengan volume pengambilan berturut-turut 750µL ; 500µL ; dan 250µL, masing-masing dilarutkan dengan DMSO 20% sampai 1 mL. Sehingga didapatkan seri konsentrasi ekstrak etanol daun jambu monyet 20% ; 15% ; dan 10%.

d. Pembuatan Stok Tetrasiklin.

Tetrasiklin dibuat seri konsentrasi dengan menimbang masing-masing 250 mg dan 500 mg, kemudian dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 5 mL, sehingga konsentrasi akhir menjadi 5% dan 10%.

e. Uji pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi dari tetrasiklin dan ekstrak etanol daun jambu monyet yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri. Konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi tetrasiklin dan ekstrak etanol daun jambu monyet yang

mampu menghambat *Staphylococcus aureus* sensitif dan multiresisten antibiotik dengan zona hambat dari 10-20 mm, karena dianggap sebagai zona intermediet . Konsentrasi awal ekstrak jambu monyet dan tetrasiklin yang digunakan untuk uji pendahuluan adalah 15% dan 0,0025%.

f. Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol jambu monyet dan tetrasiklin

Kombinasi ekstrak etanol jambu monyet dan tetrasiklin dibuat tiga perbandingan, yaitu: 25:75 ; 50:50 ; dan 75:25. Volume total kombinasi ekstrak etanol dan tetrasiklin dalam disk sebesar 10 μ L. Pengambilan ekstrak etanol jambu monyet dan tetrasiklin berturut-turut adalah 2,5 μ L:7,5 μ L ; 5 μ L: 5 μ L ; 7,5 μ L: 2,5 μ L. Suspensi bakteri 10^8 CFU/mL sebanyak 300 μ L dituang ke dalam media MH dalam cawan petri dan diratakan dengan *spreader glass* steril. Sepuluh mikroliter dari tiga seri perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin serta kontrol (kontrol negatif hanya mengandung pelarut DMSO 20% dan kontrol positif berupa tetrasiklin dan ekstrak etanol daun jambu monyet) diteteskan pada disk kosong 6 mm yang telah diletakkan diatas media. Preinkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 20-30 menit kemudian diinkubasi selama 24 jam pada 37°C

D. Teknik Analisis

Teknik analisis yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sensitif dan multiresisten antibiotik yaitu dengan mengamati zona hambatan yang terbentuk di sekitar disk yang diuji, dibandingkan dengan kontrol dan dianalisis dengan statistik *oneway anova*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Tahap awal penelitian adalah determinasi tanaman yang akan digunakan dalam penelitian. Determinasi tanaman dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi dengan pustaka yaitu “Flora of Java” karangan Backer dan van den Brink (1965). Determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang diidentifikasi adalah *Anacardium occidentale* L.

B. Ekstraksi

Serbuk kering daun jambu monyet diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Metode ini memiliki beberapa keuntungan antara lain cara kerja yang sederhana dan menggunakan alat yang sederhana, sementara kerugian dari metode ini adalah membutuhkan cairan penyari yang banyak dan waktu yang lama untuk mendapatkan ekstrak kental. Larutan penyari yang digunakan dalam maserasi adalah etanol 96%. Etanol merupakan penyari

universal, yaitu dapat menyari hampir semua senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman baik polar maupun nonpolar. Hasil maserasi diperoleh berat ekstrak 197,21 g

C. Identifikasi Bakteri

Pengecatan Gram merupakan pengecatan diferensial yang bertujuan untuk memberi warna kontras pada bakteri agar terlihat jelas dan untuk membedakan bakteri Gram positif dan negatif. Umumnya bakteri sukar diamati di bawah mikroskop karena sel bakteri tidak berwarna. Tetapi dengan teknik pengecatan Gram dapat diperoleh perbedaan antara sel bakteri sehingga sel-sel bakteri yang merupakan bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat diamati lebih jelas.

Berdasarkan hasil pengecatan Gram setelah diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali, bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, bergerombol dan berwarna ungu (Gambar 1). Pada bakteri Gram positif dinding selnya mengalami denaturasi protein oleh pencucian alkohol sehingga protein menjadi mengeras dan membeku serta pori-pori mengecil sehingga kompleks ungu dipertahankan dan bakteri tetap berwarna ungu. Sedangkan pada Gram negatif pencucian dengan alkohol akan menyebabkan terekstraksinya lapisan lipid dan membesarnya permeabilitas dinding sel dan bakteri menjadi tidak berwarna lagi, sehingga bakteri tersebut akan mengikat cat Gram D dan bakteri akan berwarna merah. Dari hasil pengecatan Gram menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan merupakan bakteri Gram positif ditunjukkan dengan warna ungu dengan bentuk kokus.

Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri dengan teknik pengecatan Gram

Bakteri	Pengamatan		Pustaka (Jawetz dkk, 2005)	
	Bentuk	Warna	Bentuk	Warna
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bulat, Bergerombol	Ungu	Bulat, Bergerombol	Biru keunguan
<i>Staphylococcus aureus</i> multiresisten	Bulat, Bergerombol	Ungu	Bulat, Bergerombol	Biru keunguan

Identifikasi selanjutnya secara biokimia dengan media MSA. Pada hasil uji bakteri *S. aureus* yang ditanam di media MSA, terjadi perubahan warna media MSA dari merah menjadi kuning, sebab *S. aureus* dapat memfermentasi manitol dalam keadaan anaerob (Pratiwi, 2008).

D. Hasil Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui tingkat sensitivitas dan adanya resistensi bakteri yang diuji terhadap antibiotik. Uji sensitivitas dilakukan dengan menggunakan beberapa disk antibiotik dan media agar Mueller Hinton (MH) dengan jumlah bakteri 10^8 CFU/mL sebanyak 300 μ L. Antibiotik yang digunakan pada uji sensitivitas adalah, ampicilin

(AMP), tetrasiklin (TE), kloramfenikol (C), dan vankomisin (VA). Uji sensitivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditemukan zona hambat pada setiap antibiotik, yaitu pada kloramfenikol, ampisilin, vankomisin dan tetrasiklin, masing-masing sebesar 20 mm, 18 mm, 22 mm dan 30 mm. Dari hasil uji tersebut dapat dikatakan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* yang diuji bersifat sensitif terhadap antibiotik (Gambar 3). Uji sensitivitas terhadap *Staphylococcus aureus* multiresisten menunjukkan tidak adanya zona hambatan pada tiga disk antibiotik. Sementara pada antibiotik tetrasiklin ditemukan adanya diameter zona hambat sebesar 27 mm. Dari hasil uji tersebut menunjukkan *Staphylococcus aureus* multiresisten yang diuji resisten terhadap antibiotik.

Tabel 2. Hasil uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* sensitif dan multiresisten

Antibiotik	<i>Staphylococcus aureus</i> sensitif			<i>Staphylococcus aureus</i> Multiresisten		
	Diameter Zona Hambat (mm)	Keterangan	Hasil	Diameter Zona Hambat (mm)	Keterangan	Hasil
Ampisilin 10 µg (AMP)	18	Sensitif	sensitif	-	Resisten (irradikal)	Multiresisten
Kloramfenikol 30 µg (C)	20	Sensitif		-	Resisten (irradikal)	
Vankomisin 30 µg (VA)	22	Sensitif		-	Resisten (irradikal)	
Tetrasiklin 30 µg (TE)	30	Sensitif		27	Sensitif	

E. Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun jambu monyet dan tetrasiklin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi tersebut digunakan untuk mengetahui efek kombinasi dengan antibiotik. Uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan metode difusi dengan menggunakan *disk blank* yang sudah diberi antibiotik dan ekstrak dengan konsentrasi masing-masing. Hasil uji pendahuluan diperoleh dengan mengamati zona hambat yang terbentuk di sekitar disk setelah diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37° C.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol jambu monyet pada konsentrasi 15% dan 10% diperoleh diameter zona hambat berturut-turut 13 mm dan 12 mm (Tabel 3). Dari hasil tersebut maka konsentrasi ekstrak etanol jambu monyet yang digunakan adalah 15%, karena konsentrasi tersebut telah menunjukkan zona hambat dari 10-20 mm dan diharapkan bisa menunjukkan diameter zona hambat lebih besar ketika dikombinasikan dengan ekstrak, dibandingkan dengan konsentrasi 10%. Konsentrasi tetrasiklin yang digunakan untuk uji kombinasi adalah 0,025% karena telah menunjukkan adanya zona hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter sebesar 20 mm (Natalie & Cappuccino, 1983). Sebagai kontrol negatif DMSO

menunjukkan adanya pertumbuhan di sekitar disk, hal ini menunjukkan DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Tabel 3. Hasil uji pendahuluan

Bahan uji	Diameter zona hambat (mm)
Tetrasiklin 0,005% (0,5 µg/disk)	23
Tetrasiklin 0,0025% (0,25 µg/disk)	20
Jambu Monyet 15% (1,5 mg/disk)	13
Jambu Monyet 10% (1 mg/disk)	12
DMSO 20%	-
Akuades	-

F. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet dan Tetrasiklin

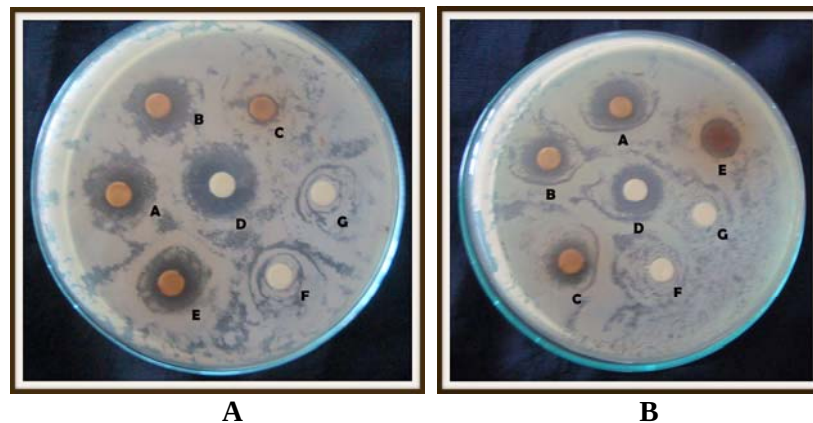
Uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin bertujuan untuk mengetahui efek yang dihasilkan setelah dikombinasi dengan tetrasiklin. Hasil yang dapat dicapai dengan kombinasi ini bervariasi antara kombinasi yang satu terhadap yang lain seperti; indifferen, yakni aksi gabungan tidak lebih baik dari pada agen yang lebih efektif jika digunakan sendiri; adisi, yakni aksi kombinasi ekuivalen terhadap jumlah aksi pada masing-masing obat jika digunakan sendiri; sinergisme, yakni aksi kombinasi lebih besar dari pada jumlah aksi kedua agen yang digunakan sendiri; dan efek antagonisme, yaitu di mana antibiotik yang satu bersifat mengurangi atau meniadakan efek dari antibiotik yang lain (Jawetz, 2005).

Uji kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar yakni metode Kirby & Bauer dengan menggunakan disk antibiotik. Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian adalah DMSO 20%. Kontrol negatif DMSO (dimetil sulfoksida) tidak menunjukkan adanya zona hambat yang berarti DMSO tidak mempunyai aktivitas antibakteri. Hasil uji kombinasi terhadap *Staphylococcus aureus* sensitif secara berturut-turut adalah 9 mm, 16 mm dan 16 mm, sedangkan diameter zona hambat ekstrak jambu monyet dan tetrasiklin tunggal adalah 20 mm dan 16 mm. Hasil uji kombinasi terhadap *Staphylococcus aureus* multiresisten berturut-turut adalah 11 mm, 13 mm dan 13 mm, sedangkan zona hambat tetrasiklin dan ekstrak jambu monyet secara berturut-turut adalah 18 mm dan 15 mm (Tabel 4).

Setelah dikombinasikan diameter zona hambat tetrasiklin mengalami penurunan. Hal ini juga terjadi pada percobaan yang dilakukan oleh Ahmed *et al* (2010), diameter zona hambat penisilin mengalami penurunan setelah dikombinasikan dengan ekstrak daun *Salvadora persica* dari 18,0 mm menjadi 16,0 mm.

Hasil pada kedua uji kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin menunjukkan diameter zona hambat yang berbeda-beda pada kedua bakteri uji. Zona hambat *Staphylococcus aureus* sensitif lebih besar dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk

pada *Staphylococcus aureus* multiresisten. Perbedaan ini dapat dikarenakan adanya sifat resisten pada bakteri uji, yang dapat menghasilkan membran sitoplasma yang berbeda (bentuk perubahan) dan mencegah ikatan tetrasiklin pada subunit 30S ribosom, sehingga sintesis protein dapat terus berlangsung. Selain itu adanya mutasi pada bakteri yang resisten juga dapat menyebabkan dihasilkannya protein *efflux* tetrasiklin yang didasarkan atas transpor tetrasiklin keluar sel secara cepat, sehingga mencegah akumulasi tetrasiklin pada dosis toksik, sehingga sintesis protein bakteri tidak terhambat (Pratiwi, 2008).



Gambar 1. Hasil uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L.) dan tetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* sensitif (A) dan multiresisten antibiotik (B).

Keterangan : A : 2,5 μ L ekstrak etanol jambu monyet : 7,5 μ L tetrasiklin
 B : 5,0 μ L ekstrak etanol jambu monyet : 5,0 μ L tetrasiklin
 C : 7,5 μ L ekstrak etanol jambu monyet : 2,5 μ L tetrasiklin
 D : Tetrasiklin 0,0025% (0,25 μ g/disk)
 E : Ekstrak etanol daun jambu monyet 15% (1,5 mg/disk)
 F : DMSO
 G : Akuades

Tabel 4. Hasil kombinasi ekstrak etanol jambu monyet dan tetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* sensitif dan *Staphylococcus aureus* multiresisten

Bahan Uji	<i>Staphylococcus aureus</i> sensitif (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i> multiresisten (mm)
Ekstrak : Tetra (25:75)	13,00 $\pm$ 3,00	11,66 $\pm$ 1,52
Ekstrak : Tetra (50:50)	12,66 $\pm$ 2,08	12,66 $\pm$ 1,52
Ekstrak : Tetra (75:25)	9,00 $\pm$ 2,00	10,33 $\pm$,57
Tetrasiklin 0,0025% (0,25 μ g/disk)	13,33 $\pm$ 5,77	13,00 $\pm$ 4,35
Ekstrak jambu monyet 15% (1,5 mg/disk)	14,66 $\pm$ 1,52	14,66 $\pm$ 3,51
DMSO	-	-
Akuades	-	-

Keterangan :

25:75 = 2,5 μ L ekstrak etanol jambu monyet : 7,5 μ L tetrasiklin

50:50 = 5,0 μ L ekstrak etanol jambu monyet : 5,0 μ L tetrasiklin

75:25 = 7,5 μ L ekstrak etanol jambu monyet : 2,5 μ L tetrasiklin

Penelitian Agedah *et al.*, (2010) membuktikan bahwa daun jambu monyet diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid, gula, fenolik, dan minyak atsiri yang terdiri atas pinen, felandren, borneol, dan karvakrol (Sudarsono *et al.*, 2002) yang diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian lain juga dilakukan oleh Novitasari (2012) dengan uji bioautografi membuktikan bahwa daun jambu monyet mengandung senyawa fenol dan minyak atsiri. Senyawa fenol bekerja dengan mengendapkan protein dan menonaktifkan enzim, dan minyak atsiri bekerja dengan menghambat pembentukan dinding sel oleh bakteri, sehingga senyawa ini bersifat bakterisid, yaitu senyawa yang dapat membunuh bakteri (Katzung, 2004). Berbeda dengan tetrasiklin yang bersifat sebagai bakteriostatik. Senyawa bakteriostatik bekerja dengan menghambat sintesis protein, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak membunuh bakteri. Adanya perbedaan mekanisme antara ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin tersebut menyebabkan timbulnya efek tidak sinergis setelah dilakukan kombinasi, karena senyawa yang bersifat bakterisid apabila dikombinasikan dengan senyawa bakteriostatik, maka efek bakteriostatik akan menghentikan pertumbuhan sel bakteri, sehingga senyawa bakterisidal menjadi tidak aktif terhadap bakteri, karena senyawa bakterisidal dalam mekanisme aksinya memerlukan adanya pertumbuhan mikroorganisme (Siswandono & Soekardjo, 1995).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Adwan dan Mhanna (2008) yang melakukan uji kombinasi enrofloxacin dan ekstrak air *P. Guajava* terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), serta membandingkan metode mikrodilusi dan metode difusi. Penelitian tersebut membuktikan bahwa metode mikrodilusi lebih efektif dibandingkan dengan metode difusi.

Penurunan diameter zona hambat tetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dikarenakan tetrasiklin mengalami penurunan aktivitas ketika dikombinasikan dengan ekstrak etanol daun jambu monyet yang menggunakan pelarut DMSO 20%. Tetrasiklin merupakan antibiotik yang dapat mengalami penurunan aktivitas pada pH 7 atau lebih, sedangkan DMSO yang digunakan sebagai pelarut ekstrak bersifat basa dengan pH 9. Hal ini terlihat bahwa semakin besar volume ekstrak yang dikombinasikan dengan tetrasiklin, maka semakin kecil diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*.

Hasil perhitungan dengan uji anova menunjukkan bahwa kombinasi antara ekstrak etanol daun jambu monyet dengan tetrasiklin pada kedua bakteri uji tidak signifikan, yaitu dengan signifikansi 0,345 ($> 0,05$) dan 0,421 ($>0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada masing-

masing konsentrasi bahan uji, baik yang kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin maupun konsentrasi tunggal ekstrak atau antibiotik.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

1. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan tetrasiklin pada perbandingan 25:75; 50:50; dan 75:25 memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* sensitif dengan diameter zona hambat berturut-turut adalah 9 mm, 16 mm dan 16 mm, sementara diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* multiresisten berturut-turut 11 mm, 13 mm dan 13 mm.
2. Kombinasi ekstrak etanol jambu monyet dan tetrasiklin menunjukkan efek tidak sinergis dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sensitif dan multiresisten antibiotik.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L) dan tetrasiklin menggunakan metode dilusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abulude, Ogunkoya, & Adebote, 2009, Phytochemical And Antibacterial Investigation Of Crude Extracts Of Leaves And Stem Barks Of *Anacardium occidentale*, *Continental J. Biological Sciences* 2, 12 – 16.
- Adwan, G., & Mhanna, M., 2008, Synergistic Effects of Plant Extracts and Antibiotics on *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Clinical Specimens, *Middle-East Journal of Scientific Research* 3 (3), 134-139.
- Agedah, C. E., Bawo, D. D. S., & Nyananyo, B. L., 2010, Identification of antimicrobial properties of cashew, *Anacardium occidentale* L. (Family Anacardiaceae), *J. Appl. Sci. Environ. Manage.*, 14 (3)
- Ahmed, Z., Khan, S. S., Khan, M., Tanveer, A., Lone, Z. A., 2010, Synergistic Effect of *Salvadora persica* Extracts, Tetracycline and Penicillin Against *Staphylococcus aureus*, *African Journal of Basic & Applied Sciences*, Vol. 2 (1-2).
- Backer, C. A. & Van den Brink, R.C. B., 1968, *Flora Of Java*, volume 3, 71-72, WoltersNoordhof, N. V., Groningen
- Budiati, T, 2003, Pola Hambatan Asam Anakardat Terhadap Aktivitas Thiol Protease, *Majalah Farmasi Airlangga.*, 3(1).

- Cappuccino, J. G., & Natalie, S., 1983, *Microbiology : A Laboratory Manual*, Addison-Wesley Publishing Company, Sydney, Hal. 243-245.
- Croinqvist, A., 1981, *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, 477, New York, Columbia University Press.
- Dahake, A. P., Joshi, V. D., & Joshi, A. B., 2009, Antimicrobial Screening of Different Extract of *Anacardium occidentale* Linn. Leaves, *International Journal of ChemTech Research*, 1 (4), 856-858
- Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 7, 170-172, Puspa Swara, Jakarta.
- Doss, V. A., & Thangavel, K. P., 2011, Antioxidant And Antimicrobial Activity Using Different Extracts Of *Anacardium occidentale* L., *International Journal Of Applied Biology And Pharmaceutical Technology*, 2 (3), 436-443.
- Entjang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi*, 192, Penerbit PT. Citra Aditya Bakti, Bandung
- Goodman & Gilman., 2008, *Dasar Farmakologi Terapi*, Edisi 10, 121-124, diterjemahkan oleh tim alih bahasa Sekolah Farmasi ITB, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Gould, D., Brooker, C., 2003, *Mikrobiologi Terapan Untuk Perawat*, 63-64, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hertiani T., Palupi, I. S., Sanliferianti, Nurwindasari, H. D., 2003, Uji Potensi Antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Candida albicans* dari Beberapa Tanaman Obat Tradisional untuk Penyakit Infeksi, *Pharmacon*, vol. 4 No. 2, UMS, Surakarta.
- Hariana, A., 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Seri 3, 138-141, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid III, 43, Yayasan Sarana WanaJaya, Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, 205, 209-223, 317-326, 362-363, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Kannan, V. R., Sumanthi, C.S., Balasubramanian, V., & Ramesh, N., 2009, Elementary Chemical Profiling and Antifungal Properties of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts, *Botany Research International* 2 (4), 253-257.
- Katzung, B. G., 2004, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi 3, 497, Salemba Medika, Jakarta.

- Kusrini, D. & Ismardiyanto, M., 2003, Asam Anakardat dari Kulit Biji Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) yang Mempunyai Aktivitas Sitotoksik, *JKSA*, 6 (1).
- Muljohardjo, M., 1990, *Jambu Mete dan Teknologi Pengolahannya (Anacardium occidentale)*, 33, Yogyakarta, Penerbit Liberty.
- Neal, M. J., 2006, *At a Glance Farmakologis Medis*, Edisi 5, 73, diterjemahkan oleh Safitri, A., Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Novitasari, F. 2012. Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Shigella sonnei*, Surakarta, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Parasa, L. S., Tumati, S. R., Kumar, C. A., Prasad, C., & Rao, G.S., 2011, Invitro – Antimicrobial Activity Of Cashew (*Anacardium occidentale*, L.) Nuts Shell Liquid Against Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (*MRSA*) Clinical Isolates, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3 (4), 436-440.
- Pratiwi, S., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 154, 156, 157, 159, 160, 164,169, Jakarta, Erlangga.
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, 107, 118, 201-203, 297, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Salle, A. J., 1961, *Fundamental Principle of Bacteriology*, 5th Edition, 719, 738, New York, Mc Graw Hill Company Inc.
- Setiabudy, R dan Gan V. N. S., 2008, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, 585-598, Jakarta, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Siswandono & Soekardjo, B., 2000, *Kimia Medisinal*, 216-220, Surabaya, Airlangga University Press.
- Sudarsono, P., Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I. A., & Purnomo, 2002, *Tumbuhan Obat II, Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaan*, 6, 7, Yogyakarta, Pusat Studi Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada.
- Wilson & Gisvold., 2012, *Kimia Medisinal Organik dan Kimia Farmasi*, Edisi 11, 214-216, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Yurahmen, Y., Eryanti, dan Nurbalatif, 2002, Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*), *Jurnal Nature Indonesia*, 4 (2), 178-183