

AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK METANOL BIJI MANGGA HARUM MANIS (*Mangifera indica* L. Varietas Arumanis 143) TERHADAP *Bacillus subtilis* dan *Shigella flexneri*

Tiah Rachmatiah¹; Masniari Poeloengan² dan Helgario Pratama³

^{1,3}Program Studi Farmasi, FMIPA-ISTN, Jl. Moh. Kahfi II, Jagakarsa 12620, Jakarta

²BBALITVET (Balai Besar Penelitian Veteriner), Bogor

tiahrachmatiah@yahoo.com

ABSTRACT

Antimicrobial activity of methanol extract from harum manis mango seeds (Mangifera indica L.varietas Arumanis 143) has been investigated against Bacillus subtilis and Shigella flexneri. Harum manis mango seeds powder were extracted with methanol by maceration method Phytochemical screening of the extract indicated that the extract contained flavonoids, saponins and tannins. Antimicrobial activity of the extracts were tested against Bacillus subtilis and Shigella flexneri with amoxicillin as a positive control. Diffusion and dilution methods by using Mueller-Hinton medium.were used in this test. The results exhibited the zone diameters of inhibition of 50% extract solution in water against B.subtilis and S.flexneri were respectively 18 mm and 17 mm. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values against B. subtilis and S. flexneri were showed respectively at 0.3% and 3% extract solutions of harum manis mango seeds.

Kata kunci: Antimikroba, harum manis, mango seeds, mangifera

1. PENDAHULUAN

Tanaman mangga merupakan salah satu jenis tanaman buah-buahan yang tertua dan sangat penting di daerah tropik, konon tanaman ini sudah dibudidayakan sejak lebih dari 4000 tahun yang lalu. Secara taksonomi tanaman mangga termasuk dalam suku *Anacardiaceae*. Diperkirakan berasal dari India, yakni di daerah sekitar Bombay dan sekeliling kaki pegunungan Himalaya. Marga *Mangifera* mempunyai ±40 jenis, dan yang banyak dikembangkan di Indonesia yaitu jenis *Mangifera indica* L.⁽¹⁾Salah satu jenis tanaman mangga yang banyak ditanam di Indonesia adalah mangga harum manis yaitu, *M.indica* varietas Arumanis 143.⁽¹⁾

Buah mangga merupakan sumber vitamin yang baik bagi tubuh terutama vitamin C, vitamin A, B₁ dan B₂. Disamping itu buah mangga juga

dapat memberikan pasokan beberapa jenis mineral yang dibutuhkan oleh tubuh seperti kalsium, fosfor dan zat besi. Kandungan vitamin C, karoten dan flavonoid yang tinggi pada buah mangga dapat berfungsi sebagai antioksidan, sehingga bermanfaat bagi pencegahan kanker. Buah mangga mengandung sejumlah asam galat yang baik bagi saluran pencernaan. Mangga juga berefek desinfektan di dalam tubuh, sehingga melindungi tubuh dari serangan infeksi. Buah mangga juga dapat membantu membersihkan darah dan mengurangi kelebihan panas tubuh. Selain itu, buah mangga juga berkhasiat untuk menghilangkan bau badan, membantu pengobatan asma, bronkitis, sesak nafas, dan influenza.⁽²⁾

Selain daging buah, biji mangga pun dapat diolah menjadi makanan awetan, yaitu dibuat tepung biji yang dapat diolah menjadi dodol yang disebut jenang pelok. Di India, biji mangga juga

dimanfaatkan sebagai pangan pada masa pakeklik. Biji mangga mempunyai rasa pahit dan sepat, mengandung 70% karbohidrat, 10% lemak dan 6% protein. Biji ini atau berupa tepung biji dapat dimakan sebagai obat mencret-mencret, asma, obat cacung dan melancarkan menstruasi, perebusan biji mangga digunakan sebagai obat pengelat (adstringent) dalam pengobatan tradisional.⁽³⁾

Christina Engels peneliti dari Universitas Alberta menemukan manfaat pada biji mangga (*M.indica* L.). Bagian yang sering dibuang itu dapat mencegah wabah *Listeriosis* seperti yang menimpa warga Kanada pada tahun 2008 lalu. Menurutnya temuan tersebut juga dapat diterapkan pada buah-buahan lainnya seperti anggur. Tanin murni diekstraksi oleh Engels dari mangga. Zat itu terbukti dapat menghalangi efek buruk dari berbagai jenis bakteri termasuk *Listeria*, sejenis bakteri mematikan yang biasa menginfeksi dan menyebabkan wabah penyakit di Kanada pada 2008 lalu.⁽⁴⁾

Banyak infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram(+) jenis *Bacillus*, terutama oleh *B.subtilis*, bakteri ini terjangkit pada manusia yang di dapat melalui kontaminasi makanan. *B.subtilis* jarang menginfeksi manusia, tetapi jika menginfeksi manusia efek yang ditimbulkan lebih parah dibandingkan dari jenis *Bacillus* yang lain. Kasus tentang *B.subtilis* jarang ditemukan di Indonesia, tetapi dengan adanya kasus yang terjadi, bukan tidak mungkin menjadi wabah yang dapat menyerang masyarakat Indonesia. Jenis bakteri yang dapat menimbulkan penyakit selain dari jenis bakteri Gram(+) yaitu bakteri Gram(-), jenis bakterinya adalah *Shigella* dari spesies *Shigella flexneri* yang dapat menimbulkan penyakit *Shigellosis*. Bakteri ini disebarkan dari satu orang ke orang lain melalui makanan dan air yang sudah dikotori/ yang disebar oleh lalat. Obat yang biasa diberikan untuk infeksi bakteri adalah antibiotika, seperti Amoksisilin. Karena berspektrum luas, sangat efektif terhadap bakteri Gram(+) dan Gram(-). Dengan demikian Amoksisilin dapat digunakan sebagai kontrol positif untuk menentukan aktivitas ekstrak metanol biji mangga harum manis terhadap pertumbuhan bakteri *B.subtilis* dan *S.flexneri*.⁽¹⁷⁾

Di Indonesia pemanfaatan tanaman mangga hanya pada buahnya saja, sedangkan pada bijinya belum. Merujuk pada penelitian Christina Engels maka biji mangga harum manis yang tumbuh di Indonesia dapat dimanfaatkan dan diteliti sebagai bahan obat. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antimikroba dari ekstrak metanol biji mangga harum manis. Metanol merupakan pelarut yang lazim digunakan, mudah dalam pengerjaannya dan efektif untuk menyari. Dengan menggunakan pelarut metanol maka banyak senyawa dari simplisia terutama yang bersifat polar akan tersari. Pengujian antimikroba dilakukan terhadap bakteri *B.subtilis* dan *S.flexneri* menggunakan metode difusi untuk mengukur diameter zona hambat dan metode dilusi untuk penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), sebagai kontrol positif digunakan amoksisilin.

2. METODOLOGI

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Balai Besar Penelitian Veteriner (BBALITVET), Bogor, Jawa Barat dan Laboratorium Kimia Farmasi FMIPA-ISTN

Bahan uji adalah ekstrak metanol biji mangga harum manis (*Mangifera indica* L. Varietas Arumanis 143). Bakteri untuk pengujian antimikroba adalah *B.subtilis* dan *S.flexneri*, agar *Muller-Hinton* (MH) (pH 7,4), disc Amoksisilin 25 µg (kontrol positif), air suling steril, asam klorida pekat, etanol 96%, aluminium foil, kapas, kertas cakram.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Otoklaf (Aesculap), batang pengaduk, cawan petri, corong, gelas ukur, inkubator (WTE Binder), jangka sorong, jarum ose, kertas cakram steril, kertas saring *Watman*, labu, Erlenmeyer 100 ml, *Laminar Air Flow* (Oliphant), lemari pendingin (Sanyo), mikroskop (Carton), mikropipet (Ependorff Socorex), neraca analitik (Precisa. 303 A), Oven listrik, pembakar bunsen, pinset, pipet tetes, refluks, spatel logam, tabung reaksi, rak tabung, tangas air (Memmert).

Tahap pertama dilakukan pengujian kandungan kimia dari ekstrak metanol biji mangga harum manis untuk mengetahui adanya alkaloida, flavonoid, saponin dan tanin⁽²⁵⁾.

Ekstrak metanol biji mangga harum manis diuji aktivitasnya terhadap pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Shigella flexneri* dengan amoksisilin sebagai kontrol positif menggunakan dua metode yaitu difusi cara silinder menggunakan cakram kertas untuk mengetahui diameter zona hambat di sekeliling silinder dan metode dilusi cara penipisan lempeng agar untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Pada pengujian dengan metode difusi, ekstrak dibuat larutan dalam air suling steril dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%. Masing-masing larutan sebanyak 15 µl ditetaskan pada kertas cakram, kemudian kertas diletakan pada media MH dalam cawan petri, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Sebagai kontrol positif digunakan kertas cakram yang mengandung amoksisilin 25 µg. Zone hambat yang terbentuk diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Pada pengujian untuk menentukan KHM dilakukan menggunakan larutan ekstrak dalam air dengan konsentrasi 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2% dan 0,1%. Larutan ekstrak dari setiap konsentrasi diambil 1 ml dan dituangkan ke dalam 19 ml medium MH lalu dihomogenkan. Setelah medium memadat pada permukaannya ditambahkan 500 µl inokulum bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penapisan kandungan kimia terhadap serbuk biji mangga harum manis dan ekstrak metanol biji mangga harum manis tidak mengandung alkaloida karena dengan larutan Bouchardat tidak terbentuk endapan coklat hitam dan dengan larutan Meyer tidak terbentuk endapan putih. Pada pengujian saponin terbentuk buih yang stabil, dan pada pengujian flavonoid terbentuk warna merah, dan tanin terbentuk warna biru kehitaman menunjukkan adanya tanin galat. Telah diketahui bahwa senyawa alkaloida,

saponin, flavonoid dan tanin dapat bersifat antibakteri, sehingga ekstrak dapat diprediksi mempunyai aktivitas karena mengandung senyawa-senyawa tersebut.

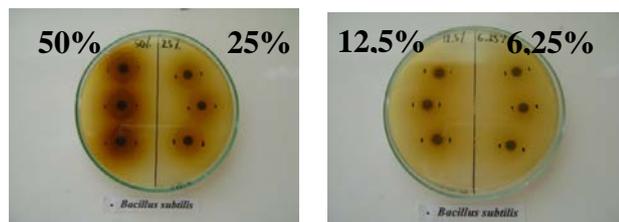
Pada penelitian ini uji daya antimikroba yang dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi. Metode difusi yang digunakan adalah cara cakram kertas untuk menentukan besarnya diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling cakram kertas. Sedangkan metode dilusi yang digunakan adalah cara penipisan lempeng agar, dan bukan pengenceran serial tabung, karena ekstrak biji mangga harum manis yang diperoleh berwarna pekat dan keruh, sehingga pengamatan yang didasarkan pada kekeruhan tidak dapat dilakukan.

Untuk metode difusi cara cakram larutan uji ekstrak konsentrasi yang digunakan 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%, dimaksudkan agar dapat diketahui lebar diameter zona hambat yang didapat dari konsentrasi 6,25% hingga konsentrasi tinggi 50%. Sedangkan antibiotik amoksisilin konsentrasi yang digunakan adalah 25 µg. Hasil uji daya hambat ekstrak dengan metode ini dapat dilihat pada gambar 1 dan hasil pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel 1. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa pada konsentrasi terbesar sampai konsentrasi terkecil terhadap *B. subtilis* memperlihatkan zona hambat total berkisar antara 12-18 mm dan terhadap *S. flexneri* antara 7-17 mm. Dengan demikian ekstrak mempunyai potensi yang lebih kuat terhadap *B. subtilis*. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etanol biji mangga harum manis pada kadar 50% untuk *B. subtilis* menunjukkan zona hambat total yang lebih besar dengan zona hambat rata-rata 18,0 mm sedangkan untuk *Shigella flexneri* menunjukkan zona hambat total yang kecil dengan diameter zona hambat rata-rata 17,0 mm. David Stout mengemukakan bahwa ketentuan antibakteri untuk ekstrak adalah bila daerah hambatan 20 mm atau lebih dikatakan sangat kuat, 10-20 mm dikatakan kuat, 5 mm-10 mm dikatakan sedang dan kurang dari 5 mm dikatakan lemah. Jika dikaitkan dengan ketentuan tersebut maka ekstrak biji mangga harum manis yang diuji pada konsentrasi 50% mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat.

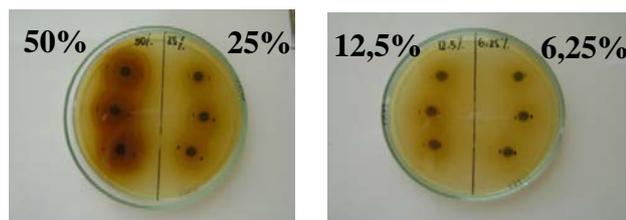
Konsentrasi ekstrak metanol biji mangga harum manis yang digunakan untuk metode dilusi cara penipisan lempeng agar adalah 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3% dan 0,2% dimaksudkan agar diketahui konsentrasi terendah dari larutan ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dimana pada konsentrasi tersebut tidak ada lagi pertumbuhan mikroba. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zone hambat ekstrak metanol biji mangga harum manis (*M. indica* L)

Bakteri Uji	Konsentrasi larutan uji (%)	Diameter Zone Hambat (mm)			
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
<i>Bacillus subtilis</i>	50	18,0	18,0	18,0	18,0
	25	16,0	16,0	16,0	16,0
	12,5	14,0	14,0	14,0	14,0
	6,25	12,0	12,0	12,0	12,0
<i>Shigella flexneri</i>	50	17,0	17,0	17,0	17,0
	25	12,0	12,0	12,0	12,0
	12,5	10,0	10,0	10,0	10,0
	6,25	7,0	7,0	7,0	7,0



B. subtilis



S. flexneri

Gambar 1. Hasil uji daya hambat ekstrak metanol biji mangga harum manis (*M.indica* L) terhadap *B.subtilis* dan *S.flexneri*.

Tabel 2. Data hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol biji mangga harum manis (*M. indica* L) terhadap *B. subtilis*

No.	Konsentrasi Larutan Ekstrak (%)	Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>
1.	5	-
2.	4	-
3.	3	-
4.	2	-
5.	1	-
6.	0,9	-
7.	0,8	-
8.	0,7	-
9.	0,6	-
10.	0,5	-
11.	0,4	-
12.	0,3	-
13.	0,2	+

Keterangan :

(+) = ada pertumbuhan bakteri

(-) = tidak ada pertumbuhan bakteri

Tabel 3. Data hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol biji mangga marum manis (*M. indica* L) terhadap *S. flexneri*

No.	Konsentrasi Larutan Ekstrak (%)	Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella flexneri</i>
1.	5	-
2.	4	-
3.	3	-
4.	2	+

Keterangan :

(+) = ada pertumbuhan bakteri

(-) = tidak ada pertumbuhan bakteri

Hasil uji daya antimikroba pada ekstrak metanol biji mangga harum manis tersebut menunjukkan bahwa aktivitas terhadap *B. subtilis* lebih besar dibandingkan terhadap *S. flexneri*. Untuk dapat membunuh mikroorganisme, bahan

uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Kedua jenis mikroorganisme uji tersebut memiliki komposisi dinding sel yang berbeda. Dinding sel *B. subtilis* yang merupakan kelompok bakteri Gram(+) memiliki struktur dengan banyak kandungan peptidoglikan dan relatif sedikit lipid, sedangkan pada bakteri Gram(-) relatif banyak mengandung lipid (20%).⁽²⁸⁾ Ekstrak metanol biji mangga harum manis bersifat polar sehingga senyawa yang tersari relatif bersifat polar. Kandungan peptidoglikan di dalam dinding sel bakteri Gram(+) juga bersifat polar, kepolaran senyawa inilah yang mengakibatkan ekstrak metanol lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram(+) hal ini terlihat pada pengukuran diameter zona hambat rata-rata pada *B. subtilis* lebih besar dibandingkan pada bakteri *S. flexneri*.

4. SIMPULAN

1. Ekstrak metanol biji mangga harum manis mempunyai daya hambat terhadap *B. subtilis* dan *S. flexneri*, dengan diameter zona hambat berturut-turut yaitu 18 mm dan 17 mm pada konsentrasi 50% ekstrak.
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol biji mangga harum manis terhadap *B. subtilis* dan *S. flexneri*, yaitu 0,3% dan 3%.

DAFTAR PUSTAKA

1. DitJen BPH (Bina Produksi Hortikultura)., Buku Tahunan Hortikultura Seri Tanaman Buah, Departemen Pertanian RI, Jakarta, 2004, hal. 75.
2. DitJen BPH (Bina Produksi Hortikultura)., Hidup Sehat dengan Produk Hortikultura Nusantara, Ed. V, Departemen Pertanian RI, Jakarta, 2002, hal. 1, 2.
3. Engels C., Mango Seeds May Protect Against Deadly Food Bacteria, Journal Agriculture, Vol. 2, University of Alberta, Canada, 2008.
4. Anonim, Pengelolaan Tanaman Terpadu Mangga, DitJen Bina Produksi Hortikultura, Departemen Pertanian RI, Jakarta 2003, hal.41.
5. Anonim, Katalog Buah Tropika Nusantara, DitJen Hortikultura, Departemen Pertanian RI, Jakarta 2006, hal. 13.
6. Anonim, Budidaya Tanaman Pedoman Bertanam Mangga, C.V. Yrama Widya, Bandung 2008, hal 35,37,39.
7. DitJen POM., Farmakope Indonesia, Ed. IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1995, hal. 7, 11, 21, 95, 1036.
8. DitJen POM., Sediaan Galenik, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1996, Hal. 1 – 27.
9. Ramstad, E., Modern Pharmacognosy, Blackiston Division, McGraw Hill Book Co, Inc., London, 1959, hal. 103, 213 – 215.
10. Buchanan, R.E., Celbons, N. W., Bergey Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., The Williams and Wilkins company, Baltimore, 1975.
11. Volks, W.A , Wheeler, M.F., Mikrobiologi Dasar. Tremahkan markham, Erlangga, Jakarta, 1998, hal. 44,104.
12. Jawets, E, Malnick, J.L and Adelberg. E.A. 1974, Review of Medical Publications, California. Hal 79-80.
13. Jawets, Melnick Adelberg's. Mikrobiologi Kedokteran, Penerbit Salemba Medika, Jakarta. 2001. hal , 73-75,87-95,224-228,235,362-364.
14. Ganiswara, S. G. dkk., Farmakologi dan Terapi, Ed IV, Bagian Farmakologi Kedokteran fakultas Kedokteran , Universitas Indonesia, Jakarta, 1995, hal. 571 – 573, 622, 625.
15. Wanger, H. and Horhammer, L., Pharmacognosy and Phytochemistry, Springer-Verlag, Heidelberg, NewYork, 1971, hal. 274 – 275.
16. Robinson, T., Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Terjemahan Padmawinata, K., penerbit ITB, Bandung, 1991, hal. 71 – 72.
17. Lorian , V., Antibiotic in Laboratory Medicine, 2nd Ed, The William and Wilkins Co., Baltimore, 1980, hal. 6 – 22.
18. Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A., Review of Medical Microbiology, 12th edition Lange Medical Publication, California, 1989, hal. 169 – 172.

19. Barry, A. L. Thornsnsberry, C., Manual of Clinical Microbiology, 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington DC, 1980, hal. 463.
20. Dwijoseputro, D., Dasar-Dasar Mikrobiologi. Ed 2, IKIP, Malang, 1989, hal. 29 – 35, 118 – 135.
21. Buchanan, R. E. and Celbbosons, N. E., Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Ed, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1975, hal. 290 – 293.
22. Lorian, V., Antibiotics and Laboratory Medicine, 2th Edition., The William and Wilkins Co., Baltimore, 1980, hal. 1-128.
23. Ristuccia, A.M., Cunha, B.A., Antimicrobial Susceptibility Test, Antimicrobial Therapy, Raven Press, New York 1984, hal.138.
24. Renee, A., Watase, M., and Thomas, S., Antimicrobial Susceptibility Testing, Technical Bulletins.
25. DitJen POM., Materi Medika Indonesia, Jilid VI, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1995, hal. 333-337.
26. Winarno, M., Tinjauan Hasil Penelitian Tanaman Obat II, Balitbang Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, hal. 69-71.
27. Olivia, F., Alam, S., Hadibroto, I., Seluk Beluk Food Supplement, Penerbit PT. Gramedia, Jakarta, 2004, hal 49.
28. Staff Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran, Binarupa Aksara, Jakarta, 1994. hal. 15-16, 103-110, 154-173.
29. Hasim., Mengembangkan Potensi Antibakteri Babandotan. Dikutipdari: <http://group.yahoo.com/group/mmaipb/message/6121>.
30. Morin RB Gorman M., *Kimia dan Biologi Antibiotik β -Lactam (Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics)*. Ed III. Diterjemahkan oleh Mulyani S. IKIP Semarang Press, Semarang, 1995.