



Antibacterial Activity of Mangosteen Leaf and Bark Fraction Against *Salmonella spp* Causes Diabetic Ulcers

Salmah Wilujeng Angraini^{1*}, Susanti Erikania¹, Vevi Maritha¹

¹Bachelor of Pharmacy study program, STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun, East Java, Indonesia

Submitted 08 June 2021; Accepted 02 September 2021; Published 31 October 2022

*Corresponding author: wilujengsalma76@gmail.com

Abstract

Diabetes mellitus is a degenerative disease due to impaired cell function β -pancreas in insulin production causing hyperglycemics accompanied by microvascular complications such as diabetic ulcers. This condition is aggravated by bacterial contamination, one of which is *Salmonella spp*. The use of natural ingredients that have the potential for the treatment of diabetic ulcers is the mangosteen plant (*Garcinia mangostana* L.), so the identification of *Salmonella spp* in diabetic ulcers and testing the antibacterial activity of ethyl acetate and n-hexane leaves and mangosteen stem skins is carried out. The method started from the stage of bacterial identification using selective media, gram staining, biochemical testing, and antibacterial activity tests by diffusion of discs. Results showed that *Salmonella spp* was positive in SSA-specific media, biochemical tests, red bacteria, rod-shaped. Antibiotic sensitivity tests obtained by ciprofloxacin had the strongest activity of 30.20 ± 1.37 mm. The largest antibacterial activity result at a concentration of 100% obtained the ethyl acetate fraction of mangosteen leaves is 17.30 ± 0.5 mm compared to the fraction of n-hexane leaves of 8.81 ± 0.32 mm, ethyl acetate fraction and n-hexane mangosteen stem skin of 13.28 ± 0.95 mm, 7.42 ± 0.45 mm.

Keywords: Antibacterial, *Garcinia mangostana*, Diabetic Ulcer, *Salmonella spp*.

Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Dan Kulit Batang Manggis Terhadap *Salmonella spp* Penyebab Ulkus Diabetik

Abstrak

Diabetes mellitus merupakan penyakit degeneratif karena gangguan fungsi sel β -pankreas dalam produksi insulin menyebabkan hiperglikemik disertai komplikasi mikrovaskuler seperti ulkus diabetik. Kondisi ini dapat diperparah oleh kontaminasi bakteri salah satunya *Salmonella spp*. Penggunaan bahan alam yang berpotensi untuk pengobatan ulkus diabetik adalah tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.), sehingga dilakukan identifikasi dan isolasi *Salmonella spp* pada ulkus diabetik. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan n-heksan daun dan kulit batang manggis. metode pengujian dimulai dari ekstraksi dan fraksinasi daun dan kulit batang manggis, isolasi bakteri pada ulkus diabetik, identifikasi bakteri menggunakan media selektif, pewarnaan gram, uji biokimia dan uji aktivitas antibakteri secara difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ulkus diabetik positif mengandung *Salmonella spp* pada media spesifik Salmonella-Shigella Agar (SSA), uji biokimia, bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Uji sensitivitas antibiotik diperoleh ciprofloxacin memiliki aktivitas paling kuat yaitu $30,20 \pm 1,37$ mm. Hasil aktivitas antibakteri yang terbesar pada konsentrasi 100% diperoleh fraksi etil asetat daun manggis yaitu $17,30 \pm 0,5$ mm dibandingkan fraksi n-heksan daun sebesar $8,81 \pm 0,32$ mm, fraksi etil asetat dan n-heksan kulit batang manggis berturut-turut $13,28 \pm 0,95$ mm, $7,42 \pm 0,45$ mm.

1. Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit yang disebabkan karena adanya gangguan fungsi sel β pankreas dalam memproduksi insulin sehingga kadar glukosa dalam darah meningkat dan terjadi hiperglikemik. Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit dengan jumlah prevalensi yang mengalami peningkatan setiap tahunnya baik di negara maju maupun berkembang. Hasil Riset Kesehatan Dasar Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2018) melaporkan bahwa rata – rata prevalensi diabetes mellitus dengan umur ≥ 15 tahun mengalami peningkatan pada tahun 2018 mencapai 2%. Penyakit ini dapat meningkatkan resiko komplikasi makrovaskuler seperti penyakit jantung, infark miokard (serangan jantung), stroke, hipertensi, penyakit vaskuler. Sedangkan mikrovaskular meliputi kerusakan pada retina mata (retinopati), kerusakan ginjal (nefropati), kelainan bintik hitam pada kulit (dermopati) dan neuropati perifer yang mengakibatkan ulkus diabetik. Ulkus diabetik terjadi karena kadar gula yang tinggi mengakibatkan penyumbatan pembuluh darah sehingga terjadi neuropati perifer akibatnya pasien tidak merasakan adanya luka, dan luka tersebut menjadi parah dengan adanya kontaminasi bakteri patogen^{1,2}.

Berdasarkan pada penelitian Nurwahidah dkk. (2014) menemukan bahwa bakteri patogen yang menginfeksi ulkus diabetik yaitu *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella spp*, dan *Staphylococcus aureus*. *Salmonella spp* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri Gram negatif, bersifat anaerob, memiliki bentuk batang hingga spiral dengan ukuran 0,2 – 2 μm dan memiliki flagel. Bakteri *Salmonella spp* dilaporkan terdapat dalam kultur pus penderita diabetes³.

Berdasarkan Lipsky dkk, (2013), pengobatan pada ulkus diabetik dapat menggunakan antibiotik dan perawatan luka⁴. Berdasarkan pada penelitian Kurniawan dkk. (2011) menyatakan bahwa uji kepekaan antibiotik terhadap ulkus diabetik banyak yang mengalami resistensi bakteri, hal ini dapat

disebabkan karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan pengobatan jangka panjang⁵. Penelitian tersebut juga diperkuat oleh penelitian dari Wulansari dkk. (2018) yang melaporkan uji sensitivitas antibiotik mengalami resistensi terhadap kelompok bakteri *Enterobacteriaceae* penyebab ulkus diabetik seperti *Salmonella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Shigella*, *E. coli* dan *Yersinia*^{6,7}.

Saat ini penggunaan bahan alam dapat menjadi alternatif pengobatan diabetes mellitus salah satunya adalah tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.). Tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri sehingga mampu mengurangi tingkat keparahan ulkus diabetik. Menurut penelitian Turahman taufik dan Ghani NFS (2018) fraksi air daun manggis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi tertinggi 50% dengan rata – rata zona hambat 10 mm⁸. Pada penelitian Dimas dkk. (2014) kombinasi ekstrak etanol kulit batang dan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 6,25% daya hambat 5,66 mm. Pada penelitian Salim dkk. (2019) ekstrak metanol daun manggis mengandung antrakuinon, karbohidrat, terpenoid, saponin, flavonoid, glikosida, tanin dan polifenol¹⁰. Penelitian Dimas dkk. (2014) melaporkan senyawa yang terdapat pada kulit batang manggis adalah fenolik, flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, tanin, dan steroid. Sedangkan penelitian tentang aktivitas daun dan kulit batang manggis pada salah satu bakteri penyebab ulkus diabetik belum pernah dilakukan⁹.

Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi bakteri *Salmonella spp* pada ulkus diabetik dan mengetahui adanya aktivitas antibakteri paling kuat antara fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dari daun dan kulit batang manggis terhadap *Salmonella spp* hasil isolasi ulkus diabetik menggunakan metode difusi cakram.

2. Metode

2.1. Alat

Corong pisah, beaker glass 100, 250 dan 500 ml. batang pengaduk, *rotary evaporator*,

oven, cawan petri, ose bulat, *cotton swab sterile*, *incubator*, *hot plate*, *beaker glass*, corong, gelas ukur dan Erlenmeyer (pyrex), pipet tetes, batang pengaduk, rotary evaporator (*Heldolph* tipe Hei-VAP), oven (*Memmert* tipe UP 400), *waterbath* (*Memmert* tipe WNB14), timbangan analitik (*Precisa* tipe XB 4200C dan BEL tipe M254Ai), aluminium foil, bejana maserasi.

2.2. Bahan

Daun dan kulit batang manggis, metanol teknis Merck, etil asetat teknis Merck, n-heksan teknis Merck, *Nutrient Agar* Merck, *Mac Conkey Agar* Merck, cakram disk kosong Oxoid, H₂SO₄ Merck, besi (III) klorida, asam asetat glasial Merck, serbuk magnesium, larutan amonia 10% Merck, etanol teknis Merck, kloroform Merck, HCl pekat Merck, pereaksi dragendorf, cakram disk Oxoid amoxicillin, ampicillin, ciprofloxacin, cefotaxim, gentamicin, erytromicin, doxycycline, ulkus diabetik, NaCl 0.9% RL, DMSO 10%, aquadestilata, larutan gram A, larutan gram B, larutan gram C, larutan gram D, *Salmonella – shigellae* Agar Oxoid, TSIA Oxoid, SIM Oxoid, MR-VP Oxoid, Sitrat Oxoid, Reagen *Ehrlich Oxoid*, dan Reagen *Methyl Red* Merck.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Penyiapan Sampel

Sampel berupa daun manggis dikumpulkan sebanyak 6 kg dan kulit batang sebanyak 3 kg disortasi kering dan sortasi basah, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari ditutupi dengan kain hitam. Setelah kering diblender untuk mendapatkan serbuk halus¹¹.

2.3.2. Ekstraksi

Serbuk daun manggis sebanyak 1,4 kg dan kulit batang sebanyak 1,25 kg diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:10 selama 3 x 24 jam sambil diaduk. Selanjutnya filtrat disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C¹¹.

2.3.3. Fraksinasi secara ECC

Fraksinasi dilakukan dengan metode ECC (Ekstraksi Cair-Cair) menggunakan

pelarut n-heksan, etil asetat, metanol. Ekstrak kental 30 gram dilarutkan dalam metanol, dimasukkan ke dalam labu pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:1, dikocok secara perlahan, didiamkan akan terjadi pemisahan pelarut akan menghasilkan fraksi n-heksan dan fraksi metanol. Fraksi n-heksan dipisahkan, kemudian diulangi dengan cara yang sama sampai larutan berwarna bening. Fraksinasi dilanjutkan menggunakan etil asetat dengan proses yang sama. Fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental¹¹.

2.3.4. Uji Bebas Pelarut Organik

Fraksi kental ditambahkan asam sulfat encer dalam tabung reaksi dan dipanaskan. Fraksi dikatakan bebas etil asetat jika tidak tercium bau asetat (cuka). Pengujian juga dilakukan pada fraksi n-heksan.

2.3.5. Skrining Fitokimia

Masing – masing fraksi dilakukan pengujian fitokimia meliputi uji flavonoid, uji polifenol, uji alkaloid, uji tanin, uji saponin, uji terpenoid/steroid untuk mengetahui kandungan senyawa dalam fraksi daun dan kulit batang manggis¹².

2.3.6. Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi dilakukan secara sterilisasi kering menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.3.7. Penyiapan Sampel Ulkus Diabetik

Sampel ulkus diabetik diperoleh dari Puskesmas Klecorejo Caruban, Madiun. Kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Farmasi STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun pada hari yang sama untuk dilakukan preparasi sampel. Spesimen ulkus diambil dengan *cotton swab* steril kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang sudah diberi NaCl 0,9% b/v. Kemudian dilakukan pengenceran spesimen dengan cara diambil 1 mL suspensi dimasukkan dalam 9 mL NaCl 0,9% b/v sebanyak 7 kali untuk mendapatkan suspensi bakteri 10⁻⁷ CFU/mL (*Colony-forming Unit*).

2.3.8. Pembuatan Media

Ditimbang 10 gram *Nutrient Agar*, dilarutkan dengan 500 ml aquadest. Ditimbang 7.5 gram *Mac Conkey Agar* dilarutkan

dengan 300 ml aquadest. Ditimbang 12 gram *Salmonella-Shigella* Agar (SSA) dilarutkan 200 ml aquadest, lalu dipanaskan hingga mendidih. Selanjutnya dituang ke dalam cawan petri steril didinginkan dan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.3.9. Identifikasi Bakteri Ulkus Diabetikum

a. Penanaman Sampel Ulkus

Hasil suspensi bakteri 10^{-7} CFU/mL diambil 0,1 mL ditanam pada media Nutrient Agar (NA) diratakan secara zig-zag dengan media SSA dengan cara yang sama lalu diinkubasi 1 x 24 jam dengan suhu 37°C. Bakteri yang tumbuh pada media SSA dilanjutkan ke pewarnaan gram, uji TSIA dan uji biokimia.

b. Pewarnaan gram

Satu koloni diambil dari media SSA menggunakan jarum ose bulat dan digoreskan diatas kaca preparat fiksasi kembali. Kemudian ditetesi dengan larutan gram A selama 1-3 menit buang tanpa dicuci, selanjutnya ditetesi dengan larutan gram B selama 1 menit cuci dengan aquades. Tetesi dengan larutan gram C diamkan 30 detik sampai warna cat hilang/luntur. Tetesi kembali dengan larutan gram D diamkan selama 1-2 menit bilas kembali dengan aquadest. Setelah itu kaca preparat ditetesi dengan minyak imersi untuk memperjelas pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x. Apabila Bakteri gram negatif akan berwarna merah sedangkan bakteri gram positif akan berwarna ungu¹³.

c. Uji Biokimia

Pengujian biokimia dilakukan menggunakan media *Triple Iron Sugar* Agar (TSIA), Uji *Sulfide Indol Motility* (SIM), Uji *Citrate*, Uji *Methyl Red* diinkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C^{14,15}.

2.4.1. Uji aktivitas Antibakteri

a. Peremajaan Bakteri *Salmonella spp*

Satu ose biakan bakteri *Salmonella spp* dari media SSA diinokulasi pada media miring NA dengan cara digores dan ditusuk, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam¹⁶.

b. Uji Resistensi Antibiotik

Uji sensitivitas dilakukan pada

antibiotik yaitu Amoxicillin 25 µg/disk, Ampicillin 10 µg/disk, Ciprofloxacin 5 µg/disk, Cefotaxim 30 µg/disk, Gentamicin 10 µg/disk, Doxycyclin 30 µg/disk, dan Erytromicin 15 µg/disk secara difusi cakram. 1 biakan bakteri hasil isolasi diambil menggunakan ose bulat lalu digoreskan pada media NA padat diinkubasi 1 x 24 jam untuk menentukan daya hambat yang paling besar.

c. Pembuatan Larutan Uji

Konsentrasi fraksi daun manggis yang akan digunakan masing – masing adalah 25% b/v, 50% b/v dan 100% b/v. Konsentrasi larutan tersebut dibuat dengan cara menimbang fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan masing-masing sebanyak 250 mg, 500 mg, dan 1 gram kemudian masing-masing konsentrasi diencerkan dengan menggunakan pelarut DMSO 10% sebanyak 1 ml.

d. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Bakteri *Salmonella spp* hasil isolasi digoreskan pada media NA padat menggunakan jarum ose lurus. Cakram disk kosong direndam pada masing – masing konsentrasi perlakuan dan DMSO 10 % sebagai kontrol negatif selama 30 menit kemudian diletakan di atas media yang berisi bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah hasil uji resistensi antibiotik. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam dan diukur zona hambat (mm) (replikasi 3x).

e. Analisis Data

Data yang diperoleh dengan mengukur diameter daya hambatnya dan analisis One Way Anova menggunakan SPSS versi 25 (*License Amerika Serikat*) dengan membandingkan diameter daya hambat kontrol positif dengan semua perlakuan terhadap bakteri *Salmonella spp* hasil isolasi ulkus diabetik.

3. Hasil

Data yang diperoleh dengan mengukur diameter daya hambatnya dan analisis One Way Anova menggunakan SPSS versi 25 (*License Amerika Serikat*) dengan membandingkan diameter daya hambat kontrol positif dengan semua perlakuan terhadap bakteri *Salmonella spp* hasil isolasi ulkus diabetik.

3.1. Fraksinasi

Sebelum proses fraksinasi dilakukan,

Daun dan kulit batang manggis dimaserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 hari. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Hasil ekstrak kental daun manggis diperoleh sebanyak 303,9 gram dari bobot serbuk 1,4 kg, sedangkan bobot ekstrak kental kulit batang manggis 70,2 gram dari bobot serbuk 1,25 kg. Rendemen fraksi etil asetat, fraksi n-heksan daun dan kulit batang manggis didapatkan berturut – turut 9,3 gram, 6 gram, 6,7 gram, dan 5,1 gram.

Kadar air mempengaruhi hasil dari besarnya rendemen ekstrak yang diperoleh. Banyaknya rendemen bergantung kepada sifat kelarutan komponen bioaktifnya. Hal ini dikarenakan kelarutan zat pada suatu pelarut sangat ditentukan oleh kemampuan zat tersebut membentuk ikatan hidrogen¹⁷. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil rendemen adalah waktu ekstraksi, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran sampel, penyimpanan, dan perbandingan jumlah sampel dengan jumlah pelarut. Nilai rendemen dapat diartikan dengan banyaknya kandungan senyawa aktif¹⁸.

3.2. Identifikasi Fitokimia

Identifikasi secara kimia bertujuan untuk mengetahui kandungan zat aktif atau metabolit sekundernya seperti alkaloid,

flavonoid, steroid, saponin dan tanin. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder pada fraksi masing-masing sampel menunjukkan kesamaan jenis kandungan senyawa kimia. Ekstrak daun manggis menunjukkan hasil positif pada semua senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, terpenoid dan polifenol. Sedangkan pada kulit batang manggis menunjukkan hasil positif terhadap senyawa alkaloid dan tanin.

3.3. Identifikasi *Salmonella Spp* pada Ulkus diabetik

Hasil identifikasi Bakteri *Salmonella Spp* menunjukkan hasil positif pada media *Salmonella-shigella* Agar, media TSIA, Uji Sulfide, Uji Motility, Uji Sitrat, Uji *Methyl Red* ditandai adanya perubahan warna pada masing – masing media uji.

3.4. Uji Resistensi Antibakteri

Hasil pengujian sensitivitas antibiotik didapatkan ciprofloxacin memiliki rata – rata zona hambat sangat kuat yaitu $30,20 \pm 1,37$ mm diikuti dengan cefotaxim $23,04 \pm 1,80$ mm, doxycycline $22,24 \pm 0,97$ mm dan gentamycin $16,32 \pm 0,92$ mm dengan kategori kuat.

Tabel 1. Skrining Fitokimia

No	Nama sampel	Flavonoid	Alkaloid	Saponin	Polifenol	Tanin	Steroid	Terpenoid
1	FEAD	+	+	-	+	-	-	-
2	FNHD	-	-	-	-	-	+	-
3	FEAKB	+	+	-	+	-	-	-
4	FNHKB	-	-	-	-	-	-	+

Ket. (+) Terdapat metabolit sekunder, (-) Tidak terdapat metabolit sekunder

FEAD = Fraksi Etil Asetat Daun Manggis

FNHD = Fraksi N-Heksan Daun Manggis

FEAKB = Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Manggis

FNHKB = Fraksi N-Heksan Kulit Batang Manggis

Tabel 2. Hasil Media Selektif dan Uji Biokimia

No.	Pengujian	Hasil	Keterangan
1	Media SSA	Koloni membentuk warna hitam	+
2	Media TSIA	Alkalis/Asam	+
3	Uji Sulfide (H ₂ S)	Adanya warna hitam	+
4	Uji Indol	Tidak terdapat cincin indol	-
5	Uji Motility	Adanya pergerakan	+
6	Uji Sitrat	Perubahan warna hijau ke biru	+
7	Uji <i>Methyl Red</i>	Perubahan warna ungu ke merah	+

Ket. (+) Terdapat perubahan, (-) Tidak terdapat perubahan

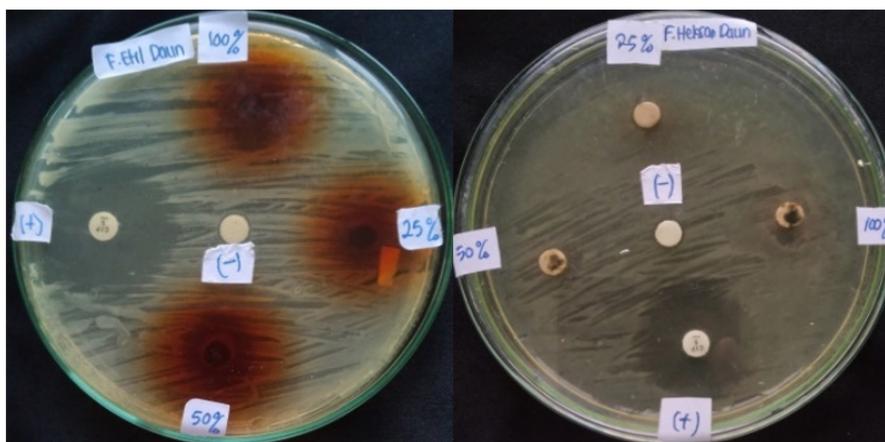
Tabel 3. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri *Salmonella spp*

Antibiotik	$\mu\text{g} / \text{disk}$	Diameter Daya Hambat (mm)				Rata – rata \pm SD (mm)	Respon Hambatan
		I	II	III	IV		
Amoxicillin	25	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00 \pm 0	Rendah
Ampicilin	10	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00 \pm 0	Rendah
Ciprofloxacin	5	31,10	30,10	28,30	31,30	30,20 \pm 1,37	Sangat Kuat
Cefotaxim	30	25,22	20,87	23,46	22,63	23,04 \pm 1,80	Sangat Kuat
Gentamicin	10	15,05	17,23	16,35	16,66	16,32 \pm 0,92	Kuat
Doxycyclin	30	21,17	23,21	21,67	22,91	22,24 \pm 0,97	Sangat Kuat
Erytromicin	15	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00 \pm 0	Rendah

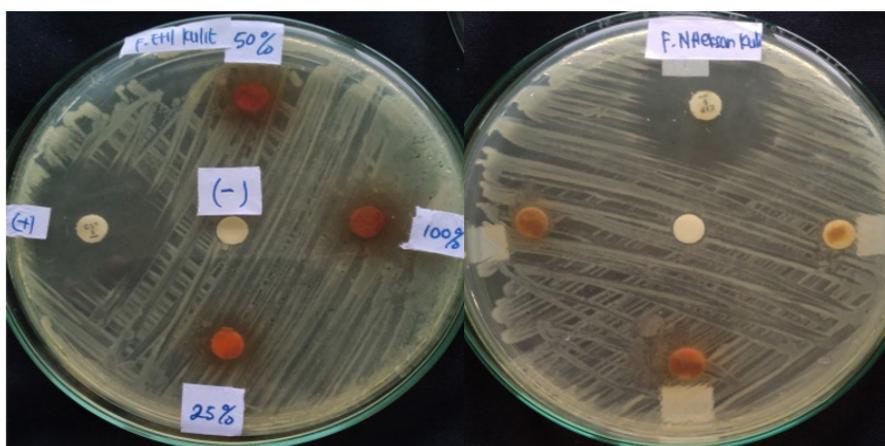
Tabel 4. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri *Salmonella spp*

Antibiotik	mg / disk	Diameter Daya Hambat (mm)				Rata – rata \pm SD (mm)	Respon Hambatan
		I	II	III	IV		
Kontrol (+)	5 $\mu\text{g}/\text{disk}$	30,1	28,5	28,96	29,14	29,17 \pm 0,67	Sangat Kuat
Kontrol (-)	-	0	0	0	0	0 \pm 0	-
FEAD 25%	250	12,1	11,14	12,55	10,78	11,64 \pm 0,82	Kuat
FEAD 50%	500	13,05	14,45	13,31	12,68	13,37 \pm 0,76	Kuat
FEAD 100%	1000	17,2	17,32	16,66	18,05	17,30 \pm 0,57	Kuat
FNHD 25%	250	6,65	7,02	6,5	5,89	6,51 \pm 0,47	Sedang
FNHD 50%	500	6,56	7,30	7,56	8,00	7,35 \pm 0,60	Sedang
FNHD 100%	1000	8,34	9,05	9,00	8,86	8,81 \pm 0,32	Sedang
FEAKB 25%	250	5,90	6,56	6,33	7,00	6,44 \pm 0,45	Sedang
FEAKB 50%	500	9,44	7,90	8,60	8,5	8,61 \pm 0,63	Sedang
FEAKB 100%	1000	12,05	14,32	13,12	13,66	13,28 \pm 0,95	Kuat
FNHKB 25%	250	6,10	5,78	5,65	7,00	6,13 \pm 0,60	Sedang
FNHKB 50%	500	6,50	5,89	6,36	7,21	6,48 \pm 0,54	Sedang
FNHKB 100%	1000	7,31	7,50	8,00	6,90	7,42 \pm 0,45	Sedang

Ket. (+) Kontrol positif diberi perlakuan Ciprofloxacin 5 $\mu\text{g}/\text{disk}$, (-) Kontrol negatif diberi perlakuan DMSO 10%,



Gambar 1. Fraksi Etil Asetat dan Fraksi n-Heksan Daun Manggis



Gambar 2. Fraksi Etil Asetat dan Fraksi n-Heksan Kulit Batang Manggis

3.5. Hasil uji aktivitas antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri didapatkan konsentrasi fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun dan kulit batang manggis yang memiliki zona hambat paling baik adalah konsentrasi 100%. Hasil analisis One-way Anova menunjukkan terdapat perbedaan signifikan dari ketiga konsentrasi dari masing – masing fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun dan kulit batang manggis dengan kontrol negatif dan kontrol positif ciprofloxacin 5 μ g/disk.

4. Pembahasan

Pada hasil identifikasi fitokimia fraksinasi daun dan kulit batang manggis **Tabel 1**. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yang berbeda. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri salah satunya yaitu dengan menghambat fungsi sel dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan

terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler¹⁹. Mekanisme kerja saponin yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip dengan detergen, sehingga saponin menggunakan tegangan permukaan dinding sel dan merusak permeabilitas membrane, dimana rusaknya membran sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Mekanisme kerja tanin yaitu mempunyai daya antibakteri dengan cara memprepitasi protein, yaitu menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk¹⁹. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membrane lipid dan

sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. Sedangkan mekanisme kerja triterpenoid sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan porin (protein trans membran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin¹⁹.

Hasil Identifikasi bakteri *Salmonella spp* pada ulkus diabetic pada **Tabel 2.** dilakukan dengan penanaman pada media *Mac Conkey Agar* bertujuan untuk menekan pertumbuhan bakteri gram positif dan menumbuhkan bakteri gram negatif. Selanjutnya dilakukan penanaman pada media *Salmonella Shigella Agar*. Pada penelitian ini didapatkan bakteri *Salmonella spp* yang mampu memproduksi H₂S dengan mengubah koloninya menjadi warna hitam. Bakteri ini tidak dapat memfermentasi laktosa dan akan mengubah kandungan Na-Tiosulfit sebagai sumber sulfur untuk memproduksi H₂S. Langkah selanjutnya adalah pewarnaan gram pada hasil penelitian ini didapatkan bakteri gram negatif yang mampu mempertahankan zat warna merah (safranin) dan berbentuk batang. Hasil identifikasi *Salmonella spp* menandakan positifnya uji motilitas adanya pergerakan dari tempat tusukan menyebar ke permukaan agar, positif memproduksi H₂S karena mampu mendesulfurasi asam amino dan methion ditandai dengan permukaan media yang berwarna hitam, positif uji *Methyl Red* menandakan bakteri mampu memfermentasi glukosa, positif uji citrat bakteri mampu memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbonnya, positif uji TSIA mampu memfermentasi glukosa dan fruktosa ditandai dengan warna merah pada bagian slant bersifat alkalis (K) dan warna kuning pada bagian butt bersifat asam (A). Penelitian tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dewi, I.D.A.D.Y. dkk, (2013) yang melaporkan koloni *Salmonella spp* pada media SSA berwarna hitam dan positif pada uji biokimia²⁰.

Hasil pengujian sensitivitas antibiotic pada **Tabel 3.** didapatkan ciprofloxacin memiliki rata – rata zona hambat sangat kuat yaitu $30,20 \pm 1,37$ mm diikuti dengan

cefotaxim $23,04 \pm 1,80$ mm, doxycycline $22,24 \pm 0,97$ mm dan gentamycin $16,32 \pm 0,92$ mm dengan kategori kuat. Berdasarkan hasil uji sensitivitas tersebut maka Ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif. Hasil uji sensitivitas antibiotik tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Vebiola dkk., (2020) dan Purwanitingsih dkk., (2020) yang memperoleh antibiotik ciprofloxacin memiliki zona hambat yang sangat baik terhadap bakteri *Salmonella*^{21,22}. Sedangkan untuk antibiotik amoxycillin, ampicillin, dan erytromicin memiliki sensitivitas paling rendah, hal ini sesuai dengan penelitian Nyoman dkk., (2019) dan Kartika dkk., (2019) yang melaporkan bahwa bahwa ketiga antibiotik tersebut memiliki sensitivitas yang rendah terhadap bakteri *Salmonella spp*^{23,24}.

Fraksi etil asetat daun manggis pada **Tabel 4.** menunjukkan aktivitas antibakteri kuat pada semua konsentrasi uji dibandingkan fraksi n-heksan pada daun, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan kulit batang manggis. Pada penelitian Anggraini, dkk (2021) juga menyatakan bahwa fraksi kulit batang manggis terhadap bakteri *Salmonella Thypi* ATCC 13311 menghasilkan daya hambat antibakteri yang cukup, hal ini menunjukkan adanya senyawa kimia potensial yang lebih banyak terkandung dalam daun manggis dibandingkan kulit batang manggis²⁵. Besarnya senyawa kimia dalam daun manggis juga ditunjukkan pada persentase rendemen fraksi, dimana fraksi etil asetat daun manggis yang memiliki nilai rendemen tertinggi dibandingkan fraksi n-heksan daun, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan kulit batang manggis. Nilai rendemen menunjukkan besarnya kandungan senyawa kimia. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Ghani dkk, (2018) yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang mengandung flavonoid daun manggis memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dari pada ekstrak dan fraksi n-heksan^{26,27}. Keterbatasan dalam penelitian ini adalah peneliti tidak dapat menghitung jumlah koloni yang tumbuh dalam setiap cawan, mengidentifikasi bakteri apa saja yang terdapat pada isolasi ulkus diabetik selain *Salmonella spp*, dan mengidentifikasi

senyawa pada kedua fraksi yang paling besar aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

5. Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ditemukan bakteri *Salmonella spp* pada ulkus diabetik. Fraksi etil asetat daun manggis memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada *Salmonella spp* hasil isolasi ulkus diabetik dengan zona hambat sebesar $17,30 \pm 0,57$ mm pada konsentrasi 100%. Hasil analisis One-way Anova menunjukkan terdapat perbedaan signifikan dari semua konsentrasi kelompok uji dengan kontrol positif ciprofloxacin $5\mu\text{g/disk}$ dan kontrol negative DMSO.

Daftar Pustaka

1. Hasil Riset Kesehatan Dasar. Diabetes Mellitus. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI; 2018.
2. Bayu, M. Z. H., dkk.. Diabetic Foot Infection (Infeksi Kaki Diabetik): Diagnosis dan Tatalaksana. Jurnal CDK. 2019;46(6).
3. Nurwahidah, Dkk. Identifikasi Jenis Bakteri Pada Luka Kaki Diabetik Berdasarkan Penyebab Luka Di Rumah Perawatan Luka Dan Poliklinik Luka Di Kota Makassar. Jurnal Kesehatan Manarang. 2018;4(2).
4. Lipsky dkk. Guidelines for Diabetic Foot Infections. Texas: Clinical Infections Diseases. 2013;39.
5. Kurniawan, L. B., T. Esa, dan N. Sennang. Pola Kuman Aerob dan Kepekaan Antimikroba Pada Ulkus Diabetik. Journal Of Clinical Pathology and Medical Laboratory. 2011;18(1):1-3.
6. Wulansari dkk. Uji Sensitivitas Bakteri Pada Penderita Ulkus Diabetikum Di RSUD Sidoarjo. Jurnal Analisis Kesehatan. 2018;7(1):533–537.
7. Umidayati. dkk. Identifikasi *Salmonella sp* Pada cacing Sutra (*Tubifex sp.*) Tangkapan Dari alam dan hasil Budidaya. Journal of Aquaculture and fish Health. 2020;9(2).
8. Turahman, Taufik. Ghani NFS. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi daun Manggis Terhadap *Staphylococcus aureus*. Jurnal Farmasi Indonesia. 2018, 15(2):115-122.
9. Dimas, P., Derwis, W., Astuti, Sri. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Kulit Batang dan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn) Terhadap *Shigella dysenteriae*. Jurnal ilmu lingkungan. 2014;12(2):83-91.
10. Salim, E., Yogi Afritunando, Nindi Antika Febriana, Mai Efdi. Studi Optimasi Ekstraksi Kandungan Senyawa Polifenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Daun Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.). Jurnal Riset Kimia. 2019;10(1).
11. Wulandari, Sekar. Susanti Erikania. Vevi Maritha. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Journal of Vocational Health Studies. 2021;Vol. 5.
12. Yuliani. N. N., J. Sambara, dan M.A. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Dengan Metode DPPH (1,1-Dyphenyl-2-Picrylhydrazyl). Jurnal Info Kesehatan. 2016;14(1).
13. Ningsih, D.R. Zufahair, dan Mantari, D. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida Albicans* Dan Identifikasi Golongan Senyawanya. Jurnal Kimia Riset. 2017;2(1).
14. Isnaeni, D., dan Rahmawati. Isolasi Dan Karakterisasi Mikrosimbion Dari Spons *Callyspongia vaginalis* Dan Uji Daya Hambat Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Salmonella Thypi*. Jurnal Farmasi. 2016;13(2).
15. Yusriana, S. C., Budi, Setya Chrismawan., Dewi Trisna. “Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*”. Jurnal Permata Indonesia. 2014;5(2).
16. Savitri. I., L. Suhendra, N. M. Wartini. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Metode Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak

- Sargassum polycystum. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. 2017, 5(3):93-101.
17. Fadhly. E., D. Kusriani, E. Fachriyah. Isolasi Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Daun Rivina Humilis L. Serta Uji Sitotoksik Menggunakan Metode BLST (Brine Shrimp Lethality Test). Journal of Scientific and Applied Chemistry. 2015, 18(2):67-72.
 18. Prabowo, dkk. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder yang Terdapat pada Daun Mangrove Xylocarpus granatum dengan Pelarut yang Berbeda. Jurnal ResearchGate 2014.
 19. Bobbarala V. Antimicrobial Agents. Croatia: Intech. 2012.
 20. Dewi, I.D.A.D.Y. dkk. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Kulit Buah Manggis. Jurnal Farmasi Udayana. 2013.
 21. Vebiola, Vanessa K., Simbala H. M. I., Karla L. R. M. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sesewanua (Clerodendron Squamatum Vahl.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Escherichia coli, dan Salmonella typhi. Jurnal Mipa. 2020, 9(2):86 – 90.
 22. Purwanitiningih, E., D. Lestari. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Cocor Bebek (Kalanchoe Pinnata (Lam)) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella Typhi Dengan Metode Kirby Bauer. Jurnal Ilmiah Kesehatan. 2020, 2(2):142 -148.
 23. Nyoman, Ni R., Indriani, Syamsuddin, A. R. Razak. Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Kloroform, Etil Asetat Bunga Kamboja (Plumeria Alba) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Salmonella Typhi. Jurnal Riset Kimia Kovalen. 2019, 5(2):173-181.
 24. Kartika Devy H., Erina, Rinidar, Fakhurrazi, Rosmaidar, A. Sayuthi. Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (Morinda Citrifolia L.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella Sp. Dan Escherichia Coli. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner. 2019, 3(2):87-97
 25. Anggraini, S.W., S. Erikania, V. Maritha. 2022. Aktivitas Antibakteri Fraksi Kulit Batang Manggis (Garcinia Mangostana L.) terhadap Salmonella Thypi ATCC 13311. Journal of Vocational Health Studies. 2022;Vol. 5(3).
 26. Ghani, N. F. S., dan T. Turahman. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Manggis (Garcinia mangostana) terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa. Prosiding Seminar Nasional Unimus; 2018(1)
 27. Nitima Tatiya-aphiradee, et al. In vivo antibacterial activity of Garcinia mangostana pericarp extract against methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a mouse superficial skin infection model. Journal Pharmaceutical Biology. 2016, 54(11):2606–2615.