

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
DAUN JAMBU MONYET (*Anacardium occidentale* L.) DAN  
VANKOMISIN TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN  
*Staphylococcus epidermidis***

**NASKAH PUBLIKASI**



Oleh :  
**DWI PUSPITA AYU**  
**K 100 090 178**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2013**

**PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
DAUN JAMBU MONYET (*Anacardium occidentale* L.) DAN  
VANKOMISIN TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN  
*Staphylococcus epidermidis***

Oleh :  
DWI PUSPITA AYU  
K100090178


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

  
Dr. Haryoto, M.Sc

Penguji II

  
Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

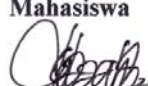
Pembimbing Utama

  
Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Pembimbing Pendamping

  
Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Mahasiswa

  
Dwi Puspita Ayu

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU  
MONYET (*Anacardium occidentale* L.) DAN VANKOMISIN TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN *Staphylococcus epidermidis***

***ANTIBACTERIAL ACTIVITY COMBINATION ETHANOLIC EXTRACT OF CHASEW  
APPLE LEAVES (Anacardium occidentale L.) AND VANCOMYCIN AGAINST  
Staphylococcus aureus AND Staphylococcus epidermidis***

**Dwi Puspita Ayu, Peni Indrayudha, dan Ika Trisharyanti D.K.  
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Jl. A Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102**

**ABSTRAK**

Kombinasi antara ekstrak tanaman dan antibiotik memiliki peran untuk mengurangi resistensi suatu bakteri terhadap antibiotik. Selain itu efek samping dari antibiotik juga dapat dikurangi. Kombinasi antara ekstrak suatu tanaman dan antibiotik belum banyak dikembangkan sampai saat ini. Ekstrak etanol daun jambu monyet merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas terhadap beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek sinergis antara kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Pengujian ini dilakukan dengan metode difusi Kirbey Bauer. Media yang digunakan adalah MH (*Mueller Hinton*). Konsentrasi ekstrak etanol daun jambu monyet yang digunakan adalah 15 % sedangkan konsentrasi vankomisin yang digunakan adalah 0,01% untuk *Staphylococcus aureus* dan 0,005% untuk *Staphylococcus epidermidis*. Uji dilakukan dengan mengkombinasi ekstrak dan vankomisin dengan perbandingan 25:75, 50:50, dan 75:25. Hasil uji dapat diketahui dengan mengukur diameter zona hambat masing-masing perbandingan yang kemudian dibandingkan dengan hasil uji tunggal masing-masing ekstrak dan vankomisin. Hasil dikatakan sinergis apabila hasil kombinasi memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan pemakaian tunggal antibiotik.

Nilai rerata diameter zona hambat untuk *S. aureus* adalah 10 mm (ekstrak 2,5 µL : vankomisin 7,5 µL), 9 mm (ekstrak 5,0 µL : vankomisin 5,0 µL), dan 8 mm (ekstrak 7,5 µL : vankomisin 2,5 µL), sedangkan pada *S. epidermidis* 13 mm (ekstrak 2,5 µL : vankomisin 7,5 µL), 12 mm (ekstrak 5,0 µL : vankomisin 5,0 µL), dan 11,5 mm (ekstrak 7,5 µL : vankomisin 2,5 µL). Hasil uji tersebut bersifat antagonis karena nilai kombinasi tersebut lebih kecil dibandingkan dengan nilai tunggal vankomisin yaitu 13 mm (*S. aureus*) dan 15 mm (*S. epidermidis*).

Kata kunci : *Anacardium occidentale* L., vankomisin, efek kombinasi, bakteri.

**ABSTRACT**

*Combination of plant's extract and antibiotic have a function of decrease resistention bacteria against antibiotic. The adverse reaction of antibiotic also decreasure. Combination of extract of plants and antiobiotic not more developing. Ethanol extract of leaves ofcashewis one of theplants thathave activity against some bacteria such as Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. The need to*

test the activity of the combination of ethanol leaf extract of cashew and vancomycin to investigate the synergistic effect of the two against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*.

The test is performed by solid diffusion method Kirby Bauer. Media used were MH (Mueller Hinton). The concentration of ethanol extract of guava leaf monkeys used was 15%, while vancomycin concentration used was 0.01% for *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* to 0.005%. Tests done by combining extracts and comparison of vancomycin with 25:75, 50:50, and 75:25. Has it est can be determined by measuring the inhibition zone diameter of each ratio is then compared with the results of a single test each extract and vancomycin.

The result is said if the results of the combination have synergistic inhibition zone diameter greater than the single use of antibiotics. The mean diameter hamabat zone for *S. aureus* is 10 mm (extract 25: vancomycin 75), 9 mm (extracts 50:50 vancomycin), and 8 (extract 75: vancomycin25), whereas in *S. epidermidis* 13 mm (extract 25: vancomycin 75), 12 mm (extracts 50:50 vancomycin), and 11.5 mm (extract 75: vancomycin 25). The test results are antagonistic because the value of the combination is smaller than a single value vancomycinat 13 mm (*S. aureus*) and 15 mm (*S. epidermidis*).

Key words : *Anacardium occidentale* L., Vancomycin, combination effect, *bacteria*.

## PENDAHULUAN

Infeksi adalah suatu jenis penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme. Jenis penyakit ini sering diderita oleh penduduk negara berkembang, seperti Indonesia (Radji, 2011; Pelczar & Chan, 2007). Salah satu mikroorganisme penyebab infeksi adalah bakteri. Antibakteri biasanya digunakan untuk mengobati infeksi tersebut. Hal ini menyebabkan penggunaan antibakteri banyak digunakan dalam pelayanan kesehatan (Priyanto, 2008).

Beberapa bakteri penyebab infeksi adalah *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi dari *S. aureus*, infeksi tersebut bervariasi mulai dari infeksi kulit ringan sampai infeksi berat yang mengakibatkan kematian. *S. epidermidis* merupakan salah satu flora normal pada manusia yang juga dapat menyebabkan infeksi (Brooks *et al.*, 2001).

Antibiotik yang dapat digunakan dalam terapi infeksi *S. aureus* dan *S. epidermidis* adalah vankomisin (Vermeluen, 2000). Akan tetapi penggunaan vankomisin dalam terapi ini dapat menimbulkan resistensi bakteri. *Vancomycin intermediate Staphylococcus aureus* merupakan salah satu contoh *strain* bakteri yang telah mengalami resistensi terhadap vankomisin (Adwan & Mhanna, 2008). Vankomisin juga mempunyai efek samping tromboflebitis, ruam kulit, dan tuli saraf (Brookset *al.*, 2001). Efek samping dan resistensi bakteri terhadap vankomisin dapat

dikurangi dengan terapi kombinasi. Menurut penelitian dari Jaffar *et al.* (2011) bahwa kombinasi antara vankomisin dengan ekstrak *Quercus infectoria* berguna sebagai alternatif dalam infeksi MRSA karena adanya penurunan nilai MIC vankomisin, sehingga dapat mengurangi efek samping dari vankomisin. Adwan dan Mhana (2008) juga melakukan penelitian tentang kombinasi antibiotik dari oksitetrasiklin, penisilin, sulfadimetoksin, gentamisin, dan enrofloksasin dengan ekstrak dari beberapa tumbuhan *Laurus nobilus*, *Psidium guajava*, *Rosmarinnus officinale*, *Salviafructicosa*, *Majorana sryaca*, *Ocilum bacilucum*, *Syzygum aromaticum* dan *Rosa damascena* dengan tujuan mengurangi adanya resistensi bakteri. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya efek sinergis dari kombinasi antibiotik dan ekstrak dari tumbuhan-tumbuhan tersebut terhadap *Methicilin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Methicilin-sensitive Staphylococcus aureus*.

Vankomisin dapat dikombinasi dengan tanaman jambu monyet karena tanaman jambu monyet merupakan salah satu tanaman yang mempunyai khasiat sebagai antimikroba (Abulude, *et al.*, 2009). Daun jambu monyet juga dapat digunakan sebagai antioksidan (Doss & Thangavel, 2011), antijamur, antihiperqlikemik, antiradang, sariawan, dan rematik. Ekstrak etanol daun jambu monyet mempunyai potensi sebagai antimikroba terhadap *S. aureus* dengan memberikan zona hambat sebesar 10 mm (Abulude *et al.*, 2009), sedangkan hasil penelitian Novitasari (2012) menunjukkan adanya aktivitas ekstrak etanol daun jambu monyet terhadap *Streptococcus mutans* dan *Shigella sonoi* dengan nilai KHM berturut-turut adalah 0,3% dan 0,5%. Ekstrak etanol 96% daun jambu monyet juga mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* dengan nilai KHM 0,15% dan *K. pneumonia* dengan nilai KHM 0,5% (Priliani, 2012). Senyawa polifenol pada ekstrak daun jambu monyet mempunyai aktivitas sebagai antimikroba (Agedah, *et al.*, 2010).

Menurut Vermeluen (2000) vankomisin merupakan antibiotik yang digunakan dalam infeksi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan ekstrak etanol daun jambu monyet diketahui mempunyai aktivitas antibakteri sehingga kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin diharapkan memiliki aktivitas antibakteri yang sinergis terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.

## **METODE PENELITIAN**

A. Jenis Penelitian : Penelitian eksperimental

## B. Bahan dan Alat

### 1. Bahan-bahan yang digunakan

Daun jambu monyet diperoleh dari desa Gatak, Malangan, Sukoharjo. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Antibiotik vankomisin sediaan injeksi 500mg (Vansep) diperoleh dari instalasi farmasi rumah sakit YARSIS. Disk antibiotik (Oxoid), DMSO, etanol 96%, MSA (*Manitol Salt Agar*), Media MH (Mueller Hinton), cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, cat Gram D, akuades, disk vankomisin, disk ampisilin, disk kloramfenikol, disk tetrasiklin.

### 2. Alat-alat yang digunakan

Bejana maserasi, syring, rak tabung, ose steril, bunsen, mikropipet (Socorex), autoklaf (My Life), inkubator (Memmert), oven (My Life), pipet ukur, *Laminar Air Flow* (LAF) (Astari Niagara International dan CV. Srikandi Laboratory), mikroskop (Olympus), vortek (Thermolyne Corporation), *yellow tips*, *blue tips*, *spreader glass*, *waterbath* (Memmert), *rotary evaporator* (Heidolph), cawan porselin, alat-alat gelas dan oven (Memmert).

## C. Jalannya Penelitian

### 1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman jambu monyet dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Determinasi dilakukan dengan cara menyamakan ciri-ciri bagian dari tanaman jambu monyet dengan pustaka, yaitu buku "Flora of Java" karangan Backer dan Van de Brink (1965).

### 2. Penyiapan Bahan

Daun jambu monyet yang telah diambil dari salah satu pohon di desa Gatak, Malangan, Sukoharjo, dicuci sampai bersih agar tidak terdapat kotoran yang dapat mencemari ekstrak. Daun-daun yang rusak juga dipisahkan agar didapatkan daun dengan mutu baik yang dapat digunakan untuk ekstraksi. Daun jambu monyet tersebut dikeringkan kemudian diserbuk. Serbuk dari simplisia daun jambu monyet diayak terlebih dahulu kemudian digunakan untuk ekstraksi.

### 3. Ekstraksi

Serbuk simplisia daun jambu monyet sebanyak 1 kg direndam dengan 7,5 L etanol 96% dalam bejana maserasi yang terlindung dari cahaya matahari, didiamkan selama 3 hari. Simplisia yang dimaserasi tersebut diaduk beberapa kali untuk mendapatkan konsentrasi jenuh sehingga tidak ada lagi zat aktif yang dapat disari oleh penyari. Hasil yang didapatkan disaring, maserat yang didapat dievaporasi dan diuapkan

di atas *waterbath*, sedangkan ampasnya diremaserasi untuk mendapatkan maserat yang masih tersisa dalam ampas.

#### 4. Sterilisasi alat

Alat-alat gelas seperti petri, *beaker glass*, tabung reaksi, dan alat gelas lainnya dicuci bersih. Alat-alat tersebut dikeringkan sehingga tidak terdapat sisa air lagi yang dapat mengganggu jalannya sterilisasi. Alat-alat yang telah kering dibungkus dengan kertas kemudian disterilkan menggunakan oven pada suhu 160°-180°C selama 1-2 jam. Ose disterilkan dengan cara dibakar, sedangkan media, *blue tips*, *yellow tips* dan alat-alat lain yang tidak tahan terhadap pemanasan kering tetapi tahan terhadap tekanan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### 5. Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam bentuk serbuk yang telah tersedia dalam kemasan. Jumlah serbuk yang ditimbang disesuaikan dengan kebutuhan. Serbuk tersebut dilarutkan dalam akuades, cara pembuatannya sesuai dengan petunjuk pada kemasan, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dituang dalam cawan petri, dan didiamkan pada suhu kamar hingga padat.

#### 6. Identifikasi Bakteri

##### a. Pengecatan Gram

Bakteri diambil dari stok bakteri sebanyak satu mata ose, kemudian dioleskan pada gelas obyek yang telah dibebaslemakkan dengan cara dipanasi diatas api bunsen setelah ditetesi formalin 1% ditunggu selama 5 menit hingga preparat kering. Preparat digenangi dengan cat Gram A satu sampai tiga menit, kemudian cat dibuang tanpa cuci. Langkah selanjutnya, preparat digenangi cat B selama 0,5-1 menit, kemudian cat Gram B dicuci dengan air mengalir. Preparat kemudian digenangi cat Gram C sampai semua cat dilunturkan, setelah itu ditambahkan cat Gram D selama 1-2 menit kemudian dicuci dengan air dan dikeringkan pada suhu kamar dalam posisi miring. Preparat dilihat di mikroskop dengan perbesaran 1000x.

##### b. Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik

Bakteri diambil 3-5 koloni dari kultur murni, kemudian disuspensikan dengan 5 mL BHI cair dan dilakukan *shaker* terhadap suspensi tersebut selama 2 jam. Suspensi tersebut distandarkan dengan standar Mc Farland ( $10^8$  CFU/mL), kemudian diambil 300  $\mu$ L suspensi bakteri dan diratakan pada media MH padat. Suspensi bakteri pada media didiamkan hingga kering, setelah itu diletakkan disk antibiotik (Vankomisin 30  $\mu$ g, Tetrasiklin 30  $\mu$ g, Ampisilin 10  $\mu$ g, dan Kloramfenikol 30  $\mu$ g). Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada 37°C.

c. Uji Biokimia

Bakteri diambil dari kultur murni kemudian digoreskan pada media *Manitol Salt Agar* (MSA). Pengamatan dilakukan setelah media diinkubasi selama 18-24 jam pada 37°C, diamati perubahan warna yang terjadi.

7. Uji Mikrobiologi

a. Pembuatan stok bakteri

Bakteri diambil dari indukan dengan ose, kemudian digoreskan pada media MH padat pada tabung reaksi. Inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C setelah itu disimpan pada suhu 4°C.

b. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri diambil sebanyak 3-5 koloni dari kultur semalam pada plate MH agar, kemudian disuspensikan pada BHI cair sebanyak 5 mL. Suspensi tersebut diletakkan dalam *shaker incubator* pada suhu 37°C selama 2 jam. Suspensi bakteri disetarakan konsentrasinya dengan standar Mc Farland ( $10^8$  CFU/mL).

c. Pembuatan stok ekstrak daun jambu monyet

Pembuatan stok ekstrak daun jambu monyet dengan menimbang 12,5 gram ekstrak kemudian dilarutkan dengan DMSO 20% sampai volume 25 mL. Konsentrasi ekstrak yang dibuat menjadi 50%.

d. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol daun jambu monyet

Seri konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 5%, 10%, 15%, dan 20%. Pengambilan stok ekstrak sebanyak 100 µL, 200 µL, 300 µL, dan 400 µL, kemudian dilarutkan dengan DMSO 20% hingga volumenya 1 mL.

e. Pembuatan stok vankomisin

Konsentrasi stok vankomisin yang dibuat adalah 10%. Vankomisin sebanyak 500 mg ditambah dengan aqua pro injeksi sampai volume 5 mL.

f. Pembuatan seri konsentrasi vankomisin

Seri konsentrasi vankomisin yang digunakan adalah 0,001%, 0,0025%, 0,005%, dan 0,01%. Pengambilan stok vankomisin sebanyak 10 µL dari stok 10% kemudian ditambah aqua pro injeksi sampai 1mL, sehingga konsentrasi menjadi 0,1%. Dari stok 0,1% diambil 100 µL, 50 µL, 25 µL, dan 10 µL kemudian masing-masing pengambilan dilarutkan dengan aqua pro injeksi sampai 1 mL.

g. Uji pendahuluan

Suspensi bakteri *S. epidermidis* diambil sebanyak 300 µL sedangkan suspensi bakteri *S. aureus* diambil sebanyak 500 µL. Dari masing-masing pengambilan tersebut diletakkan pada media MH padat kemudian diratakan dengan *spreader glass*, suspensi



bakteri yang telah rata pada media ditunggu hingga kering. Seri konsentrasi ekstrak daun jambu monyet yang telah dibuat dan kontrol DMSO 20% masing-masing diambil sebanyak 10 µL kemudian diteteskan pada disk kosong. Disk yang telah ditetesi dengan seri konsentrasi ekstrak dan kontrol diletakkan di atas media dengan suspensi bakteri yang telah kering. Media diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam kemudian diamati zona hambatnya 10-20 mm. Uji pendahuluan pada vankomisin dilakukan dengan cara yang sama dengan uji pendahuluan ekstrak, tetapi kontrol yang digunakan adalah akua pro injeksi.

h. Uji kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin

Perbandingan yang digunakan untuk uji kombinasi antara ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin adalah 25:75, 50:50, dan 75:25. Volume total yang digunakan adalah 10 µL, sehingga volume ekstrak 2,5 µL dan vankomisin 7,5 µL pada kombinasi 25:75, volume ekstrak 5 µL dan vankomisin 5 µL pada perbandingan 50:50, dan pada perbandingan 75:25 volume ekstrak 7,5 µL dan vankomisin 2,5 µL. Kontrol yang digunakan adalah DMSO 20%, ekstrak etanol daun jambu monyet, vankomisin, dan akua pro injeksi dengan volume masing-masing 10 µL.

i. Uji aktivitas antibakteri

Bakteri diambil dari suspensi yang telah disetarakan dengan standar McFarland ( $10^8$  CFU/mL) sebanyak 300 µL. Bakteri tersebut diletakkan pada media MH padat kemudian diratakan dengan *spreader glass*, setelah itu dibiarkan sampai permukaan kering. Kombinasi dengan volume pengambilan yang telah ditentukan dan kontrol yang digunakan diteteskan pada disk kosong kemudian ditunggu selama 5 menit. Disk yang telah berisi kombinasi ekstrak dan vankomisin serta kontrol tersebut diletakkan di atas media yang telah disemai bakteri. Media diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C kemudian diamati zona hambatnya.

D. Analisis Hasil

Hasil diperoleh dengan mengukur zona hambat masing-masing kombinasi kemudian dibandingkan dengan kontrol.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Determinasi Tanaman**

Tujuan dari determinasi tanaman adalah untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian tersebut merupakan spesies yang dimaksud, selain itu untuk menghindari adanya kesalahan. Determinasi ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta dengan mencocokkan ciri-ciri

morfologinya dengan buku “Flora of Java“ karangan Backer dan Van den Brink, 1965. Berdasarkan hasil determinasi yang didapat maka spesies tanaman tersebut adalah *Anacardium occidentale*.

## **B. Penyarian Bahan**

Metode penyarian yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi merupakan metode penyarian yang sederhana dan murah. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% yang dapat menyari senyawa-senyawa seperti flavonoid, fenol, alkaloid, sterol, terpenoid, dan tanin. Hasil optimasi Novitasari (2012) pada penyarian daun jambu monyet menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% mempunyai daya hambat yang lebih tinggi terhadap bakteri *S. mutans* dan *S. sonnei* dibandingkan dengan etanol 70%. Maserat yang didapat diuapkan dengan *evaporator* dilanjutkan dengan penguapan pada *waterbath*. Hal ini bertujuan untuk menguapkan sisa pelarut sehingga didapatkan ekstrak etanol daun jambu monyet yang kental berwarna hitam pekat dengan berat 197 gram dari 1 kg simplisia, sehingga rendemen ekstrak yang diperoleh sebanyak 19,7%.

## **C. Identifikasi Bakteri**

Identifikasi bakteri bertujuan untuk menggolongkan bakteri pada spesies atau jenisnya. Identifikasi dalam penelitian ini meliputi pengecatan Gram, identifikasi biokimia, dan uji sensitivitas antibakteri. Hasil pengecatan Gram pada *S. aureus* dan *S. epidermidis* menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah Gram positif (Gambar 1). Warna koloni dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000 kali menunjukkan warna ungu dengan bentuk koloni bulat menggerombol untuk *S. aureus* dan bulat tunggal untuk *S. epidermidis*. Bakteri Gram positif ketika diberi cat Gram A akan mengikat cat tersebut sehingga bakteri berwarna ungu. Pada pemberian Cat Gram B maka cat tersebut akan membentuk kompleks kristal-yodium dengan Cat Gram A, sedangkan pada pemberian Cat Gram C dinding bakteri Gram positif akan mengalami denaturasi protein yang mengakibatkan pori-pori dinding sel mengecil. Hal tersebut mengakibatkan kompleks warna ungu tetap dipertahankan. Bakteri Gram positif tidak berubah warna ketika diberikan Cat Gram D, sehingga bakteri tetap berwarna ungu (Sears, 2011).

Uji biokimia yang dilakukan pada bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis* adalah uji manitol. Media yang digunakan pada uji tersebut adalah MSA (*Manitol Salt Agar*). Secara teoritis hanya bakteri *S. aureus* yang mampu memfermentasi manitol sehingga dapat mengubah warna media dari merah menjadi kuning (Lay, 1994). Hasil uji biokimia ini menunjukkan bahwa ada perubahan warna media dari merah menjadi kuning pada bakteri *S. aureus* sedangkan pada *S. epidermidis* tetap berwarna merah.

Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap beberapa antibiotik. Antibiotik yang digunakan untuk uji adalah vankomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, dan ampisilin. Uji sensitivitas ini dilakukan dengan metode difusi padat pada media MH. Masing-masing disk antibiotik yang digunakan berisi 30 µg vankomisin, 10 µg ampisilin, 30 µg tetrasiklin, dan 30 µg kloramfenikol sedangkan suspensi bakteri yang digunakan adalah  $10^8$  CFU dengan pengambilan masing-masing suspensi sebesar 300 µL. Dari hasil uji tersebut didapatkan diameter zona hambat pada uji *S. aureus* berturut-turut 20 mm, 15 mm, 22 mm, dan 21 mm, hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri *S. aureus* tersebut bersifat sensitif terhadap antibiotik. Pada uji *S. epidermidis* didapatkan diameter zona hambat berturut-turut 23 mm, 19 mm, 21 mm, dan 23 mm, hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri *S. epidermidis* bersifat sensitif.

#### **D. Uji Pendahuluan**

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin yang akan digunakan dalam kombinasi. Konsentrasi yang digunakan dalam kombinasi berdasarkan besarnya zona hambat yang dihasilkan yaitu 10-20 mm. Uji pendahuluan menggunakan metode difusi dengan media MH (Mueller Hinton). Disk yang telah diisi dengan beberapa konsentrasi vankomisin dan ekstrak diletakkan pada media yang telah disemai bakteri uji kemudian diinkubasi pada 37°C, dan dilihat zona hambatnya.

Pencarian konsentrasi ekstrak daun jambu monyet dilakukan terlebih dahulu dengan mencari pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak etanol daun jambu monyet adalah DMSO. DMSO dapat melarutkan sempurna ekstrak etanol daun jambu monyet dibandingkan dengan CMC Na 5%, hal ini juga terlihat pada hasil uji masing-masing ekstrak dengan pelarut DMSO dan CMC Na 5%. Pelarut DMSO menghasilkan diameter zona hambat yang jauh lebih besar dibandingkan CMC Na 5%. Pada uji digunakan kontrol negatif yang merupakan masing-masing pelarut, hasil tersebut menunjukkan tidak adanya zona hambat pada masing-masing pelarut, sehingga DMSO dapat digunakan sebagai alternatif pelarut yang tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Uji pendahuluan pada ekstrak etanol daun jambu monyet menggunakan konsentrasi 15 dan 20 %. Uji pendahuluan ekstrak dilakukan dengan metode difusi dengan pengambilan suspensi bakteri *S. aureus* 500 µL dan *S. epidermidis* 300 µL. Hasil uji ekstrak etanol daun jambu monyet dengan konsentrasi 15% dan 20% diperoleh diameter zona hambat berturut-turut sebesar 10 mm dan 13 mm untuk *S. aureus* dan 11

mm dan 15 mm untuk *S. epidermidis* (Tabel 1). Berdasarkan hasil uji tersebut maka konsentrasi ekstrak yang dipilih adalah 15 %.

Uji pendahuluan pada vankomisin menggunakan konsentrasi 0,01% dan 0,005%. Uji pendahuluan dilakukan sama seperti dengan pengujian pada ekstrak etanol daun jambu monyet. Pada vankomisin digunakan konsentrasi yang lebih kecil karena pada uji sensitivitas dengan vankomisin menunjukkan diameter zona hambat sebesar 20 mm untuk *S. aureus* dan 23 mm untuk *S. epidermidis* pada 30 µg vankomisin. Hasil dari uji dengan konsentrasi 0,01% dan 0,005% menunjukkan diameter zona hambat berturut-turut 13 mm dan 9 mm pada *S. aureus* sedangkan pada *S. epidermidis* sebesar 16 mm dan 13 mm (Tabel 1). Berdasarkan hasil tersebut maka digunakan konsentrasi vankomisin sebesar 0,01% pada *S. aureus* dan 0,005% pada *S. epidermidis*.

**Tabel 1. Hasil uji pendahuluan ekstrak etanol daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L.) dan vankomisin**

Bahan uji	Diameter zona hambat <i>S. aureus</i> (mm)	Diameter zona hambat <i>S. epidermidis</i> (mm)
Vankomisin 0,01%	13	16
Vankomisin 0,005%	9	13
Ekstrak 15 %	10	11
Ekstrak 20 %	13	15
DMSO 20%	-	-
Aqua pro injeksi	-	-

#### **E. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale* L.) dan Vankomisin**

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan Vankomisin dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas yang dihasilkan pada keduanya ketika dikombinasi. Hasil dari kombinasi bisa bersifat sinergis atau antagonis, hasil dikatakan sinergis apabila hasil kombinasi memiliki efek teraupetik yang lebih besar dibandingkan dengan penggunaan tunggal, sebaliknya hasil dikatakan antagonis apabila hasil kombinasi memiliki efek terapeutik yang lebih kecil atau saling meniadakan antara antibakteri yang digunakan. Pada uji ini, untuk mengetahui hasil kombinasi dilihat dengan besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan pada saat kombinasi, dan hasil tersebut dibandingkan dengan diameter zona hambat pengujian tunggal.

Daun jambu monyet mengandung banyak senyawa tanin, glikosida, saponin, resin, flavonoid, dan alkaloid (Abulude *et al.*, 2009). Senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri pada daun jambu monyet adalah asam anakardat, tatrol, dan tanin (Agedah *et al.*, 2010). Novitasari (2012), pada uji bioautografi ekstrak etanol daun jambu monyet menunjukkan adanya zona bersih pada Rf senyawa fenol dan minyak

atsiri yang menghambat bakteri *Streptococcus mutans* dan *Shigella sonnei*. Adanya senyawa yang berperan sebagai antibakteri pada ekstrak etanol daun jambu monyet dimungkinkan memberikan efek sinergis ketika dikombinasi dengan vankomisin.

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin adalah difusi *Kirby Bauer*. Metode ini adalah salah satu metode yang menggunakan kertas disk yang telah diisi antibakteri kemudian diletakkan pada media agar yang telah disemai mikroorganisme uji (Lay, 1994). Keuntungan dari metode ini adalah sampel yang digunakan lebih sedikit dibandingkan dengan dilusi cair. Perbandingan konsentrasi ekstrak dan antibiotik yang digunakan pada uji ini adalah 25:75, 50:50, 75:25 dari total volume pengambilan 10  $\mu$ L. Media yang digunakan adalah *Mueller Hinton* dengan konsentrasi bakteri yang digunakan adalah  $10^8$  CFU/mL. Jumlah pengambilan bakteri berbeda antara *S. aureus* dan *S. epidermidis*. Pada pengambilan *S. aureus* sejumlah 500  $\mu$ L sedangkan pada *S. epidermidis* sejumlah 300  $\mu$ L, hal ini dikarenakan pada pengambilan tersebut suspensi yang dihasilkan lebih rata. Pembanding yang digunakan pada uji ini terdiri dari ekstrak 15%, vankomisin 0,01% untuk *S. aureus*, dan vankomisin 0,005% untuk *S. epidermidis* dengan masing-masing pengambilan sebesar 10 $\mu$ L. Diameter zona hambat yang dihasilkan pada pembanding dibandingkan dengan uji kombinasi yang dihasilkan sehingga dapat diketahui uji kombinasi tersebut bersifat sinergis atau antagonis. Kontrol negatif yang digunakan pada uji ini adalah DMSO dan *aqua pro injection*. DMSO merupakan pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak etanol daun jambu monyet dan *aqua pro injection* digunakan sebagai pelarut pada vankomisin. Konsentrasi DMSO yang digunakan adalah 20%, pada konsentrasi tersebut baik DMSO dan *aqua pro injection* tidak memiliki hambatan terhadap pertumbuhan bakteri sehingga digunakan sebagai kontrol negatif.

Hasil diameter zona hambat uji kombinasi pada *S. epidermidis* secara berturut-turut dari perbandingan ekstrak 15% dan vankomisin 0,01% 25:75, 50:50, dan 75:25 adalah 13 mm, 12 mm, dan 11,5 mm sedangkan pada ekstrak tunggal 15% 10 mm dan vankomisin 0,005% 15 mm. Pada hasil uji kombinasi *S. aureus* didapatkan diameter zona hambat berturut-turut adalah 10 mm, 9 mm, dan 8 mm sedangkan pada pengujian tunggal ekstrak 15% sebesar 10 mm dan vankomisin 0,01% 13 mm.

Hasil uji anova satu jalan dengan membandingkan antara hasil uji ekstrak, vankomisin dan kombinasi dari perbandingan ekstrak dan vankomisin 25:50 (ekstrak 2,5  $\mu$ L : vankomisin 7,5  $\mu$ L), 50:50 (ekstrak 5,0  $\mu$ L : vankomisin 5,0  $\mu$ L), 75:25 (ekstrak 7,5  $\mu$ L : vankomisin 2,5  $\mu$ L) menunjukkan hasil pada *S. aureus* terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara seluruh hasil uji, kecuali pada perbandingan

ekstrak dan vankomisin 25:75 dengan ekstrak tunggal. Pada perbandingan tersebut menunjukkan nilai yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Hal tersebut menggambarkan bahwa tidak terdapat perbedaan ketika ekstrak dikombinasi dengan perbandingan 25:75 dengan ekstrak tunggal 15% (10  $\mu$ L). Pada *S. epidermidis* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan terhadap seluruh hasil uji kecuali pada kombinasi ekstrak dan vankomisin 50:50 dan 75:25. Hal tersebut menunjukkan tidak adanya perbedaan pengaruh antibakteri antara ekstrak yang dikombinasi dengan vankomisin pada perbandingan 50:50 dengan 75:25.

Berdasarkan hasil uji kombinasi tersebut, baik untuk bakteri *S. aureus* maupun *S. epidermidis* tidak memiliki peningkatan diameter zona hambat jika dibandingkan dengan pemakaian tunggal vankomisin. Menurut Esimone *et al.* (2006), hasil kombinasi biasanya bersifat sinergis atau aditif apabila antara antibiotik dan ekstrak memiliki mekanisme aksi yang berbeda. Secara umum vankomisin memiliki mekanisme aksi dalam menghambat polimerisasi glikopeptida dengan berikatan pada D-Alanyl-D-Alanin yang merupakan prekursor dalam pembentukan dinding sel bakteri. Selain itu mekanisme lain dari vankomisin adalah mengubah permeabilitas membran bakteri dan mencegah sintesis RNA (Amman *et al.*, 2011). Pada ekstrak etanol daun jambu monyet senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri pada *Streptococcus mutans* dan *Shigella sonnei* adalah fenol dan minyak atsiri (Novitasari, 2012), sedangkan Tedong *et al.* (2006) menyatakan bahwa senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri pada ekstrak etanol daun jambu monyet adalah terpenoid, fenol, dan minyak atsiri. Mekanisme fenol dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengendapkan protein, menghambat enzim, dan mengganggu permeabilitas membran dan dinding sel (Katzung, 2004). Pada minyak atsiri yang mengandung senyawa terpenoid, mekanisme aksinya dengan mengganggu pembentukan dinding sel pada bakteri (Ajizah, 2004).

Jaffar *et al.* (2011) menyatakan bahwa senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri pada ekstrak air dan metanol *Quercus infectoria* adalah tannin. Senyawa tanin ini ketika dikombinasi dengan vankomisin mengakibatkan efek sinergis pada berbagai *strain* MRSA ditandai dengan adanya penurunan nilai MIC. Pada penelitian Doss dan Thangavel (2011) yang melakukan skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L.) menyatakan bahwa pada ekstrak etanol tersebut memberikan hasil positif terhadap adanya triterpenoid, minyak atsiri, dan senyawa fenolik.

Ada persamaan mekanisme aksi antara senyawa fenol, minyak atsiri, dan vankomisin. Mekanisme aksi ketiga senyawa tersebut berpengaruh pada rusaknya dinding sel bakteri sehingga kombinasi tidak menghasilkan efek sinergis maupun aditif.

Kombinasi vankomisin dan ekstrak *Quercus infectoria* memiliki hasil yang sinergis terhadap *S. aureus* dikarenakan kedua senyawa dari vankomisin dan *Quercus infectoria* memiliki mekanisme aksi berbeda (Amman *et al.*, 2011). Menurut Adwan dan Mhanna (2008), kombinasi lebih baik dilakukan pada ekstrak yang telah difraksi atau senyawa murni tanin daripada menggunakan ekstrak kasar. Hal ini dikarenakan pada ekstrak kasar masih terdapat banyak senyawa yang dimungkinkan dapat bereaksi satu dengan yang lain sehingga dapat mempengaruhi aktivitasnya. Pada percobaan ini digunakan ekstrak kasar daun jambu monyet sehingga kombinasi tidak memiliki aktivitas antibakteri yang sinergis.

Selain itu efek penurunan aktivitas juga dapat dipengaruhi oleh kestabilan kimia dan fisika dari vankomisin ketika dikombinasi. Vankomisin stabil pada pH asam sedangkan DMSO memiliki pH basa, sehingga ketika dikombinasi dapat mempengaruhi kestabilan dari vankomisin. Kestabilan kimia disebabkan adanya reaksi kimia antara senyawa satu dengan yang lainnya sehingga menjadi tidak aktif, sedangkan kestabilan fisika disebabkan adanya pengaruh pH, suhu, cahaya, dan lain-lain yang dapat mempengaruhi kecepatan degradasi senyawa aktif (Siswandono & Sukardjo, 1995).

**Tabel 2. Hasil uji kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L.) dan vankomisin**

Bahan uji	Diameter zona hambat <i>S. aureus</i> (mm)	Diameter zona hambat <i>S. epidermidis</i> (mm)
Ekstrak 15 %	10 ± 0,00	10 ± 0,29
Vankomisin 0,01%	13 ± 0,29	-*
Vankomisin 0,005%	-*	15 ± 0,58
25:75	10 ± 0,29	13 ± 0,00
50:50	9 ± 0,29	12 ± 0,17
75:25	8 ± 0,00	11,5 ± 0,29
DMSO	-	-
Aqua pro injeksi	-	-

Keterangan: \* (tidak dilakukan)

25 : 75 = pengambilan ekstrak 2,5µl dan vankomisin 7,5 µl

50 : 50 = pengambilan ekstrak 5 µl dan vankomisin 5 µl

75 : 25 = pengambilan ekstrak 7,5 µl dan vankomisin 2,5 µl



(1)



(2)

Keterangan: 1 = Ekstrak  
2 = Kontrol (Aqua pro injeksi)  
3 = DMSO  
4 = Ekstrak : Vankomisin (75 : 25)

5 = Ekstrak : Vankomisin (50 : 50)  
6 = Ekstrak : Vankomisin (25 : 75)  
7 = Vankomisin

**Gambar 1. Uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L.) dan Vankomisin terhadap *S. aureus* (1) dan *S. epidermidis* (2)**

Uji pada bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis* memiliki perbedaan pada konsentrasi vankomisin yang digunakan, selain itu diameter zona hambat yang dihasilkan juga berbeda. Bakteri *S. aureus* memiliki diameter zona hambat yang lebih kecil dibanding dengan *S. epidermidis*. Meskipun kedua bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif akan tetapi *S. aureus* mampu membentuk koagulasi yaitu suatu protein yang mirip enzim yang mampu menggumpalkan plasma, sedangkan *S. epidermidis* tidak mampu membentuk koagulasi. Berdasarkan penelitian Pehlivanoglu & Yardimci (2012) tentang uji sensitivitas antara bakteri *Staphylococcus* koagulasi positif dan negatif terhadap vankomisin menunjukkan perbedaan nilai MIC. Bakteri dengan koagulasi positif memiliki nilai MIC lebih besar daripada bakteri koagulasi negatif.

Berdasarkan uraian tersebut maka kombinasi antara ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin memberikan efek yang antagonis terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis*. Hal ini dapat disebabkan adanya mekanisme yang sama antara senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri pada ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin, sehingga menyebabkan penurunan aktivitas antibakteri. Selain itu dapat disebabkan karena adanya senyawa dari ekstrak kasar dari ekstrak etanol daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L.) yang mampu bereaksi dengan vankomisin sehingga membentuk senyawa yang tidak aktif (Adwan dan Mhanna, 2008). Perbedaan zona hambat pada *S. aureus* dan *S. epidermidis* disebabkan adanya kemampuan koagulasi pada *S. aureus* sehingga menyebabkan konsentrasi vankomisin yang dibutuhkan lebih besar dibandingkan *S. epidermidis*.

### **Kesimpulan**

1. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin 25:75, 50:50, dan 75:25 mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.
2. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin menunjukkan efek antagonis terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.

### **Saran**

1. Perlu dilakukan kombinasi antara ekstrak etanol daun jambu monyet dan vankomisin terhadap bakteri lain.
2. Perlu dilakukan kombinasi vankomisin dengan ekstrak dari tanaman lain terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.



## DAFTAR ACUAN

- 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, Ghaleb, & 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)
- Ajizah, A., 2004, Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L., *Bioscientiae*, 1(1), 31-38.
- Amman, V., Basrin, D. F., & Huyop, F., 2011, Determination of the post-antibiotic effect (PAE) of combinations of extracts from galls of *Quercusinfectoria* with vancomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *African Journal of Biotechnology*, 10 (79), 18274-18278.
- Backer, C. A. & Van den Brink, R.C. B., 1968, *Flora Of Java*, volume 3, 71-72.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 1, 34, 235, 328, 329, 362, Jakarta, Salemba Medika.
- 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.
- Esimone C.O., Iroha I.R., Ibezim E.C., Okeh C.O., 2006, In vitro evaluation of the interaction between tea extracts and penicillin G against *Staphylococcus aureus*. *Afr. J. Biotechnol.* 5: 1082-1086.
- Jaffar, N., Basri, D. F., & Zin, N., M., 2011, Interaction of *Quercus infectoria* Gall's Extract and Vancomycin Against *Staphylococcus aureus* with Reduce Susceptibility to Vancomycin, *Sains Malaysiana* 40(11), 1237–124.
- Novitasari, F., 2012, Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Shigella sonnei*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, UMS.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S., 2007, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S., Angka, S.L., 19, Jakarta, Penerbit Universitas Indonesia.
- Pehlevinaglou, F. & Yardimci, H., 2012, Detection of Methicilin and Vancomycin Resistance in *Staphylococcus* Strain Isolated From Bovine Milk Sample with Mastitis, *KVFD* 18 (5), 849-855.
- Priliani, D. I., 2012, Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Pseudomonas aereginosa* Multiresisten dan *Klebsiella pneumonia*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, UMS.
- Priyanto, 2008, *Farmakologi Dasar*, 86-100, Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi, Jakarta.
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, 107, 118, 201-203, 297, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Siswandono, Soekardjo, B., 1995, *Kimia Medisinal*, Surabaya, Airlangga Universitas Press.
- Vermeluen, Lee, 2000, *Antimicrobial Use Guidelines*, Farmadia, Jakarta.

