

Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus* L.Merr.), Salak (*Salacca edulis* Reinw.) dan Mangga Kweni (*Mangifera odorata* Griff.) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*

Endang Suerni¹⁾, Muhammad Alwi²⁾, dan Musjaya M.Guli³⁾

¹⁾ Alumni Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117

^{2), 3)} Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117

E.mail: Suerniendang@yahoo.co.id

ABSTRACT

The purpose of this research was to investigate whether the extract of some fruits: pineapple (*Ananas comosus* L.Merr.), bark (*Salacca edulis* Reinw.), and Kweni mango (*Mangifera odorata* Griff.) has antimicrobial against the bacteria and how effective is the extract of pineapple (*Ananas comosus* L.Merr.), bark (*Salacca edulis* Reinw.), and kweni mango (*Mangifera odorata* Griff.). The bacteria of *Staphylococcus aureus* examined its growth is the bacteria purified from the common skin disease, that is, inflamed pimple. This research used Factorial RAL Design and further tested by employing Duncan Multiple Range Test (DMRT). It is found that the extract of pineapple, bark, and kweni mango can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. The greatest inhibiting zone was the inhibiting zone produced by the extract of mango (*Mangifera odorata* Griff.) under the concentration of 100%.

Key words: The extract of pineapple, bark, mango; inhibiting power, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Infeksi pada permukaan kulit diakibatkan oleh *Staphylococcus aureus* dinamakan *Staph* (Penyakit kulit) atau lebih umumnya disebut *pioderma*. Prevalensi *pioderma* di beberapa negara lain, seperti di Brazil, Ethiopia, dan Taiwan adalah 0,2-35 %. Sedangkan prevalensi *pioderma* di Indonesia adalah 1,4 % pada dewasa dan 0,2 % pada anak. Selain itu, *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis,

empiema, endokarditis atau sepsis dengan supurasi di tiap organ. *Stafilokokus* yang mempunyai kemampuan invasi yang rendah, terlihat dalam banyak infeksi kulit (*acne, pioderma atau impetigo*) (Jawetz, 2001).

Buah nanas memiliki efek samping yang lebih kecil bila dibandingkan dengan obat antibiotik (Caesarita, 2011). Maka dari itu, dalam penelitian ini akan diujikan nanas jenis biasa (*Ananas comosus* L.Merr.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, apakah bisa menghambat seperti *Ananas comosus* L.Merr. yang merupakan

nanas jenis Palembang yang masih sulit didapatkan di Sulawesi Tengah.

Disamping itu, pada penelitian terdahulu, buah salak bongkok (*Salacca edulis* Reinw) mengandung senyawa aktif sebagai antioksidasi yaitu senyawa fenolik, alkaloid, saponin, flavonoid, dan tannin (Falahudin, 2011). Maka dari itu, pada penelitian ini akan diujikan ekstrak buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.) jenis biasa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Tumbuhan jenis lain yang diduga mampu sebagai antimikroba adalah mangga (*Mangifera indica* L.). Tumbuhan dari genus *Mangifera* yang sudah diteliti kandungan kimianya yaitu *Mangifera indica* L atau yang dikenal dengan mangga. Hasil penelitian tersebut menyebutkan bahwa *Mangifera indika* L mengandung flafonoid, terpenoid, saponin dan tanin (Depkes dalam Rosyidah, 2010).

Buah yang digunakan adalah buah yang berasal dari Sulawesi Tengah di Kota Palu, maka bakteri yang diujikan adalah bakteri yang berasal dari pasien atau penderita penyakit infeksi akibat *Staphylococcus aureus* dari wilayah yang sama. Bakteri dikulturkan dari infeksi ringan *Staphylococcus aureus* yaitu jerawat meradang.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan selama tiga bulan, yaitu pada bulan Februari sampai dengan April 2013 yang bertempat di UPT Laboratorium Palu Sulawesi Tengah.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu lampu spiritus, jarum ose bulat, jarum ose lurus, inkubator, rak tabung, rak pewarnaan Gram, pinset, stop watch, mikroskop, kaca objek, pipet mikron,

tabung reaksi kecil berdiameter 10 mm dan jarum ose (pelubang sumur), tabung reaksi kecil dan kapas, spidol, cawan petri steril, parang, pisau, loyang, blender, pengaduk, erlenmeyer 100 ml, corong, autoklaf, refrigerator, mistar, bulpoint, latar biru dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah medium BA dan medium MSA, pus/cairan nanah dari bisul jerawat meradang, lidi kapas steril, bakteri diduga *Staphylococcus aureus*, larutan Gram A (Gientin violet), larutan Gram B (Lugol), larutan Gram C (Alcohol asam 3%), dan larutan Gram D (Safranin), minyak imersi, NaCl 0,9%, Medium BHIA, Medium gula-gula, yang terdiri dari Sitrat, Glukosa, Laktosa, Sakarosa, Maltosa, Manitol, Mr, Vp, Urea, Acid. Reagent tes uji biokimia yaitu Kovak, Methyl Red, Naphtol 3%, dan KOH 10%. Lidi bambu steril, kertas plate, Latex, medium D-Nase, larutan HCL 0,2%, plasma EDTA, Medium Bird Parker, Bacitrasin B 10, DD2 Bacitracin B 0,04, Medium NA, NaCl 0,9%. Buah nanas (*Ananas comosus* L.merr), salak (*Salacca edulis* Reinw) dan mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff), tissue steril, kaos tangan, masker, kapas dan aluminium foil (penutup Erlenmeyer).

Prosedur Kerja:

Kultur bakteri *Staphylococcus aureus*

Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan untuk penanaman bakteri. Melakukan pengambilan sampel jerawat meradang pada muka dengan metode sweab. Sampel/pus dimasukkan pada BHIB 1 mL dan meletakkannya pada rak tabung kemudian memasukkannya ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, menanam bakteri dari medium BHIB ke medium BA dan MSA. Kembali diinkubasi dengan suhu dan jangka waktu yang sama.

Setelah 24 jam, dilakukan pengamatan bentuk dan warna koloni

pada masing-masing media dan menanamnya kembali pada medium BA dan MSA jika telah menemukan koloni yang mendekati ciri dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Penanaman kembali pada medium baru ini dilakukan berulang-ulang hingga mendapatkan koloni yang benar-benar menunjukkan *Staphylococcus aureus*. Semua prosedur kerja penanaman bakteri selalu dilakukan didekat lampu spiritus dan selalu membakar jarum ose hingga pijar sebelum maupun sesudah dilakukan pengambilan maupun penggoresan bakteri.

Untuk pewarnaan Gram, menyiapkan objek glass yang ditetesi oleh NaCl 0,9 % satu tetes saja, kemudian mengambil 1 koloni bakteri yang tumbuh di Medium MSA yang warnanya putih kekuning-kuningan dan meletakkan koloni bakteri di atas objek glass yang telah ditetesi sedikit larutan NaCl, kemudian melakukan uji pewarnaan Gram.

Setelah dilakukan pengamatan di bawah mikroskop dan menunjukkan ciri morfologi sel ke *Staphylococcus aureus*, dilakukan penanaman kembali ke medium BHIA yaitu sebagai media transfer menuju ke uji biokimia. Setelah pada medium BHIA Positif, maka langsung ditanamkan pada medium gula-gula yang terdiri dari SIM, Sitrat, Glukosa, Laktosa, Sakarosa, Maltosa, Manitol, Mr, Vp, Urea, Acid. Setelah 24 jam disimpan dalam inkubator, mengamati perubahan warna yang terjadi pada medium dan mencocokkan hasil uji biokimia dengan karakteristik spesifik menuju bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji aglutinasi terdiri dari lidi bambu steril, kertas plate dan plasma Sthaphaurex. Lidi bambu steril didekatkan dengan pembakar spiritus saat pengambilan bakteri dari medium BHIA dan diletakkan di atas kertas

plate. Kemudian ditetaskan 1 tetes plasma Sthaphaurex. Dilakukan pengadukan berputar hingga terjadi aglutinasi. Untuk pengujian D-Nase dilakukan penanaman 1 koloni saja bakteri *Staphylococcus* spp. Di tengah-tengah medium D-Nase. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. setelah 24 jam, koloni yang tumbuh di tengah medium D-Nase ditetesi dengan HCL 0,2% sebanyak 2 mikron. Didiamkan selama beberapa menit hingga terdapat zona bening di tengah medium.

Staphylococcus aureus merupakan koagulase positif. Tes koagulase menggunakan Plasma EDTA dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* di goreskan di atas gelas objek dan ditetesi plasma EDTA, mengaduk-aduk dengan jarum Ose hingga terjadi emulsi. Bird Parker adalah medium selektif. Bakteri yang diduga *Staphylococcus aureus* ditanam dengan metode gores pada medium Bird Parker, diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan, jika bakteri tumbuh berwarna hitam, maka bakteri dapat dikatakan *Staphylococcus aureus*.

Memamaskan medium NA hingga larut, setelah itu menunggu NA agak dingin. Sembari menunggu NA dingin, membuat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dicampur dengan NaCl 0,9%. Membuat suspensi antibiotik, yaitu Bacitrasin B 10 dan DD2 Bacitracin B 0,04 masing masing dalam 2 tabung reaksi kecil steril. Ukuran NaCl 1 ml dicampur 1 disc antibiotik. Setelah NA sudah dalam kondisi agak dingin, segera menuang suspensi bakteri dalam cawan petri steril dan dituang lagi dengan medium NA yang bersuhu hangat-hangat kuku. Menggoyang petri membentuk angka 8 agar suspensi merata dengan NA.

Setelah media memadat dan dingin, membuat dua lubang sumuran dengan ujung tabung reaksi kecil yang telah disterilkan dengan api spiritus.

Memasukkan kedua jenis suspensi antibiotik pada masing-masing lubang sumur yang telah ditandai pada dasar cawan petri dengan menggunakan spidol. Memasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. setelah 24 jam, dilakukan pengamatan.

Pengambilan ekstrak buah nanas (*Ananas comosus* L.Merr.), salak (*Salacca edulis* Reinw.) dan mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.)

Uji daya hambat dilakukan setelah bakteri *Staphylococcus aureus* dan sari buah telah disiapkan. Dimulai dari membuat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara mencampurkan 3 koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dicampurkan dengan 10 ml larutan NaCl 0,9 %. Menyiapkan suspensi untuk Kontrol positif, yaitu antibiotik basitrasin dan dicampur dalam 1 ml NaCl 0,9%. Setelah itu memanaskan medium NA hingga mendidih, setelah mendidih didinginkan hingga hangat-hangat kuku.

Menyiapkan 20 Cawan petri steril dan menandai cawan petri tersebut untuk masing-masing buah dan masing-masing konsentrasi dengan menulis menggunakan spidol. Setelah

medium NA telah mencapai suhu hangat-hangat kuku, memasukkan 250 mikron suspensi isolat bakteri *Staphylococcus aureus* pada semua cawan petri. Setelah itu, menuangkan medium NA, setelah dituang medium NA, menggoyang-goyangkan cawan petri membentuk angka 8 agar suspensi dan medium NA tercampur merata. Menunggu hingga NA Padat agar dapat dilubangi. Setelah padat, medium NA dilubangi bagian tengahnya dengan ujung tabung reaksi berdiameter 10 mm.

Setelah semua cawan petri terlubangi maka mulai mengisikan sari buah pada masing-masing tempatnya. Untuk kontrol positif, dimasukkan suspensi antibiotik basitrasin. Sedangkan untuk control negatif dimasukkan *aquadest*. Setelah terisi dengan saribuah, maka disimpan dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pemurnian bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan tes uji biokimia, hasilnya sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji biokimia terhadap bakteri uji yang diduga *Staphylococcus aureus*

Media	Hasil	Keterangan	
SIM	Sulfur	-	Media tetap berwarna bening, tidak tampak sulfur (warna hitam).
	Indol	-	Tidak terdapat cincin indol (cincin hitam).
	Multility	-	Tidak terdapat aktifitas bakteri.
Sitrat	+	Warna dasar tetap, hijau.	
Glukosa	+	Warna dasar merah muda, berubah menjadi kuning.	
Laktosa	+	Warna merah muda, berubah menjadi kuning.	
Sukrosa	+	Warna dasar merah muda, berubah menjadi kuning.	
Maltosa	+	Warna dasar merah muda, berubah menjadi kuning.	
Manitol	+	Warna dasar merah muda, berubah merah kuning.	
Mr	+	Warna dasar coklat + Methyl Red menjadi merah keseluruhan.	
VP	+	Warna dasar coklat + Napthol 5% dan KOH 10% terjadi lembayung.	
Urea	+	Tumbuh bakteri.	
Acid	+	Tumbuh bakteri.	

Uji bakteri dilakukan kembali dengan uji aglutinasi, uji D-Nase, uji Koagulase, Penanaman pada Bird Parker Agar dan uji kepekaan, sebagaimana dapat dilihat dengan jelas pada Tabel 2.

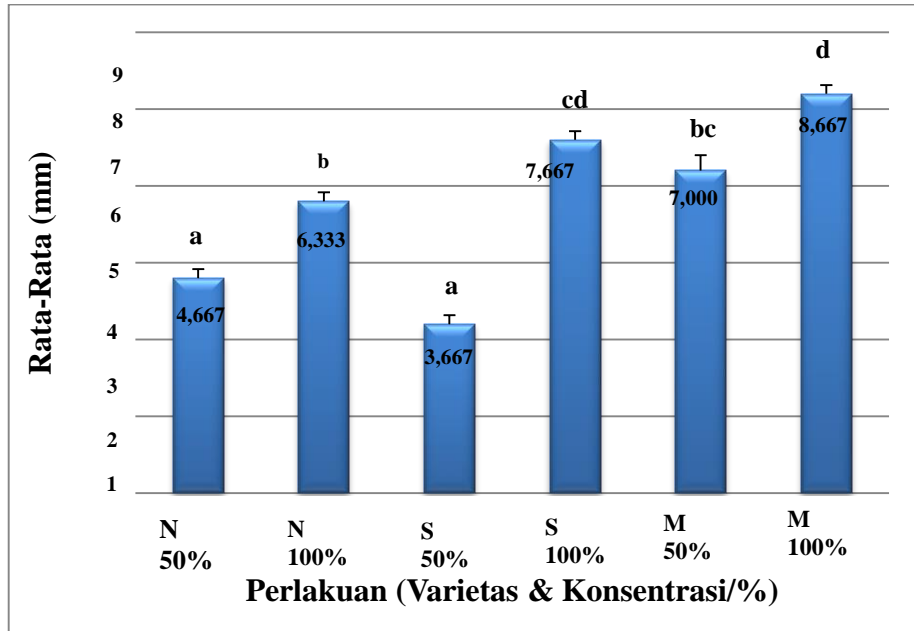
Tabel 2. Hasil uji Aglutinasi, D-Nase, koagulase dan penanaman pada BPA dan uji sensitifitas terhadap *Staphylococcus aureus*

Test	Bakteri	Hasil	Keterangan
Uji Aglutinasi	<i>Staphylococcus</i> spp.	+	Menggumpal
Uji D-Nase	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Membentuk zona bening
Test Koagulase	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Terjadi emulsi
Penanaman pada Bird Parker Agar	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Strain warna hitam
Uji Kepekaan/sensitifitas	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	B 10
		-	B 0,004

Uji Daya Hambat Ekstrak Nanas, Salak dan Mangga terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran zona hambat, diperoleh grafik rata-rata diameter zona

hambat uji ekstrak buah Nanas, salak dan mangga kweni terhadap daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik rata-rata diameter zona hambat uji ekstrak buah Nanas, salak dan mangga kweni terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pembahasan

Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pemilihan dan penanaman kembali bakteri dilakukan pada MSA hingga mendapatkan hasil akhir yaitu media yang berwarna kuning beserta koloni berbentuk bulat berwarna kuning emas. Perubahan warna media dari merah menjadi kuning terjadi karena bakteri *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasikan manitol. Hal ini telah sesuai dengan ketentuan dari Badan POM RI (2008), bahwa pada medium MSA strain bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna kuning.

Pada medium BA (blood agar) atau agar darah, bakteri dapat tumbuh karena bakteri *Staphylococcus aureus* mampu menghemolisis darah pada agar dinding. Hemolisis yang dihasilkan adalah zona terang pada agar yang terlihat dipinggiran koloni. Hal ini telah sesuai dengan literatur yang dikatakan oleh Khusnan (2008) bahwa *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan alfa-hemolisin akan membentuk zona terang di sekitar koloni.

Setelah mendapatkan hasil akhir dari kultur MSA, dilakukan pewarnaan gram yang bertujuan untuk membuktikan bahwa bakteri *Staphylococcus* adalah bakteri Gram positif yaitu berwarna ungu.

Mekanisme pewarnaan gram pada bakteri adalah didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein. Pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan bakteri, menyebabkan terekstraksi lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel. Dinding sel terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarna safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu.

Morfologi sel bakteri *Staphylococcus* berbentuk bola dengan diameter 1 μm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur. Kokus tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai. Hal ini telah sesuai dengan literature yang dikatakan oleh Khusnan (2012) yang mengatakan bahwa pada pewarnaan Gram, *Staphylococcus aureus* menunjukkan Gram positif dan berbentuk kokus. Setelah itu dilakukan uji biokimia.

Berdasarkan hasil dari uji biokimia, sudah dapat dikatakan bahwa bakteri yang diuji telah menuju ke *Staphylococcus* spp. Namun belum bisa dikatakan murni sepenuhnya *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil test biokimia, Nampak SIM Medium negatif. SIM medium adalah perbenihan semisolid yang dapat digunakan untuk mengetahui H_2S , Indol dan Motility dari bakteri.

Hasil uji Indol menunjukkan negative. Uji pembentukan indol dengan menggunakan medium hidroksilat kasein yang di dalamnya terkandung asam amino Triptofan. Triptofan yang memiliki cincin indol akan didegradasi oleh bakteri dengan bantuan eter. Setelah itu, indol yang dilepaskan akan berikatan dengan reagen Ehrlich membentuk cincin warna merah. Hal ini bisa saja

disebabkan karena bakteri tersebut tidak dapat mendegradasi triptofan yang tersedia sehingga pembentukan indol tidak dapat terjadi. Hal ini sesuai dengan literatur yang dikatakan oleh Putra (2013) bahwa hasil uji Indol terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan reaksi negatif.

Sitrat/Simmons Citrate Agar menunjukkan positif, terjadi perubahan warna media dari hijau muda menjadi hijau tua dan pada permukaannya agak kebiru-biruan. Perubahan warna pada media tersebut menunjukkan adanya bakteri yang tumbuh karena bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan ion ammonium sebagai sumber nitrogen tunggal. Perubahan warna terjadi karena penggunaan sitrat akan meningkatkan pH media. Peningkatan pH media tersebut menyebabkan perubahan warna pada indikator bromthymol biru yang mengubah media menjadi warna biru. Hal ini memang tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hakim (2011), namun hal itu bisa diakibatkan karena bisa saja bakteri mati sebelum masuk dalam media sehingga mempengaruhi hasil uji biokimia. Namun, pada penelitian yang dilakukan oleh Lampe (2011), menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan ion ammonium sebagai sumber nitrogen tunggal dengan ditandainya perubahan warna dari hijau muda menjadi biru.

Sedangkan glukosa, sukrosa, maltose, dan laktosa menunjukkan positif, hal ini menunjukkan bahwa *Staphylococcus* mampu memfermentasikan karbohidrat. Fermentasi merupakan proses oksidasi biologi dalam keadaan anaerob dimana yang bertindak sebagai substrat adalah karbohidrat. Keempat medium ini memiliki warna dasar merah muda, saat positif berubah menjadi kuning karena adanya pembentukan asam.

Perubahan warna medium mejadi kuning disebabkan karena terdapatnya indikator *brom timol blue* (BTB) dalam medium. Dimana penambahan indikator BTB ke dalam medium yang mengalami fermentasi karbohidrat jadi asam dalam keadaan aerob, maka pH akan turun dan akhirnya indikator BTB ini akan berubah warna menjadi kuning.

Hal ini telah sesuai dengan literatur menurut Hakim (2011) yang mengatakan bahwa *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasi dan mengoksidasi karbohidrat yang dapat menghasilkan asam dengan ditandai perubahan warna menjadi kuning pada sukrosa, laktosa, dan glukosa kecuali pada dekstroza *Staphylococcus aureus* memberikan hasil yang negatif. Pada penelitian ini, tidak menggunakan dekstroza, melainkan maltosa. Selain itu, didukung pula oleh literatur dari Putra (2013) yang mengatakan bahwa Pada *Staphylococcus aureus* reaksi positif yang menunjukan adanya proses fermentasi terjadi pada medium cair. Hal ini terjadi karena *Staphylococcus aureus* memiliki enzim beta-galaktosidase yang dapat memecah laktosa, mempunyai enzim sukrase yang dapat memecah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa yang merupakan monosakarida yang dapat difermentasikan.

Manitol positif, menunjukkan bakteri asam. Uji fermentasi manitol yang positif pada *Staphylococcus aureus* yaitu terjadi perubahan warna medium menjadi kuning menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* meragikan manitol yang menghasilkan asam laktat, sehingga dapat mengubah pH medium menjadi asam. Hal ini sesuai dengan literature yang dikatakan oleh Hakim (2010) bahwa *Staphylococcus aureus* adalah bakteri aerob dan anaerob fakultatif yang mampu menfermentasikan manitol.

Mr (Methyl Red) warna dasar coklat, setelah diinkubasi tetap berwarna coklat, ditetesi dengan Methyl Red berubah menjadi warna merah keseluruhan, menunjukkan positif. Test ini menunjukkan bahwa bakteri uji mampu menghasilkan asam yang banyak. Uji metil red digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran. Dimana beberapa bakteri dapat memfermentasikan glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga akan menurunkan pH media pertumbuhannya menjadi 5,0 atau lebih rendah. Pada percobaan ini, penambahan indikator metil red pada akhir pengamatan dapat menunjukkan perubahan pH menjadi asam. Metil red akan menjadi merah pada suasana asam (pada lingkungan dengan pH 4,4) dan akan berwarna kuning pada suasana basa (pada suasana lebih dari atau sama dengan 6,2).

VP (Voges prosleauer) untuk mendeteksi adanya cetye methye cabinal atau deteksi aseton yang diproduksi oleh bakteri uji. Pada test VP dilakukan penambahan 0,6 ml Napthol dan 0,2 ml KOH 10% ke dalam medium VP. Mengocoknya dan terjadi perubahan warna merah sehingga dinyatakan positif, dinyatakan positif jika terbentuk warna merah dan terbentuk warna lembayung. Hal ini sesuai dengan literatur yang dikatakan oleh Sulistyaningsih (2010) bahwa Uji Voges Proskauer (VP) positif pada *Staphylococcus aureus* ditandai dengan adanya pembentukan warna merah muda setelah penambahan reagen Barrit. Reagen Barrit ini terdiri dari naftol dan KOH. Pembentukan warna ini untuk mendeteksi adanya asetil metil dan karbinol yang merupakan produk dari fermentasi dengan pH netral dari fermentasi glukosa.

Urea dan Acid pada test urea menunjukkan positif, hal ini diakibatkan karena bakteri uji dapat menghidrolisis urea dan membentuk amonia. Hal ini

sesuai dengan literature yang dikatakan oleh Sulistyaningsih (2010) bahwa Uji urease ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim urease, yaitu enzim hidrolitik yang menyerang ikatan nitrogen dan karbon dalam senyawa amida seperti urea dan membentuk produk akhir berupa amonia yang bersifat alkali. Acid, menunjukkan positif dengan ditandai adanya bakteri yang hidup pada medium Acid.

Setelah dilakukan test uji biokimia dan hasilnya dapat disimpulkan mengarah ke bakteri *Staphylococcus aureus*, maka dilanjutkan dengan test aglutinasi, jika test aglutinasi berhasil, maka sudah dapat dikatakan bahwa bakteri uji adalah bakteri *Staphylococcus* spp. Untuk mendeteksi *Staphylococcus aureus* harus dilakukan uji lanjut yang mengarah ke spesifik dari bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada uji aglutinasi atau dikenal dengan Staphylase test terjadi penggumpalan yang menandakan positif, hal ini menunjukkan adanya reaksi antara latex reagent dengan antigen bakteri. Dimana ada ikatan Antibodi IgG dari serum manusia/Latex yang diteteskan pada bakteri yang memiliki Protein A. Kebanyakan strain *Staphylococcus aureus* memiliki aglutinogen yaitu Protein A. Protein A dapat bereaksi dengan molekul IgG. Hal ini sesuai dengan literature yang dikatakan oleh (Sherris dan Kusunoki dalam Wibawan, 2009) bahwa Protein A diketahui sebagai komponen permukaan yang umum ditemukan pada permukaan dinding *Staphylococcus aureus*.

Uji D-Nase positif, pada uji D-Nase ini sudah pasti bahwa bakteri uji adalah *Staphylococcus aureus*. Pada test D-Nase, bertujuan untuk mendeteksi adanya enzim nuclease

tahan panas pada *Staphylococcus aureus*. Enzim ini tahan terhadap pemanasan (heat resistant) dan diproduksi oleh 90-96% galur *Staphylococcus* koagulase positif.

Uji koagulase positif, uji koagulase adalah uji yang menunjukkan adanya ikatan antara serum manusia dan bakteri sehingga terjadi gumpalan yang menandakan tes positif. Peran koagulase dalam pembekuan darah serupa dengan perubahan fibrinogen menjadi fibrin yang dikatalisis-trombin. Enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri. Hal ini sesuai dengan literature yang dikatakan oleh Verhaegen (2002) bahwa *Staphylococcus aureus* positif koagulase.

Penanaman pada media bird parker bertujuan untuk mengetahui apakah sudah seluruhnya bakteri didapatkan secara murni tanpa terkontaminasi oleh bakteri lain, karena medium ini hanya akan menampilkan strain hitam jika yang tumbuh bakteri *Staphylococcus aureus*, namun jika yang tumbuh adalah bakteri lain maka tak akan berwarna. Penanaman pada medium Bird Parker sudah seluruhnya menumbuhkan strain hitam, sehingga dapat dikatakan bahwa *Staphylococcus aureus* yang hidup tidak terkontaminasi oleh bakteri lain. Hal ini telah sesuai dengan literature yang dikatakan oleh Raswati (2011) bahwa Bird Parker Agar/ BPA digunakan sebagai medium selektif dalam pengujian mikrobiologi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji kepekaan atau sensitifitas bakteri terhadap sebuah antibiotik bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri masih sensitif atau sudah resisten karena antibiotik juga akan digunakan untuk control positif.

Bacitrasin B 10 adalah antibiotik untuk identifikasi, sedangkan DD2 Bacitracin B 0,04 digunakan untuk pengobatan yang dosisnya lebih rendah. Pada tes sensitivitas dengan Basitracin ini menghasilkan zona hambat berukuran 12 mm, hal ini dikarenakan Basitrasin mengganggu sintesis dinding sel bakteri dengan mengikat atau menghambat defosforilasi suatu ikatan membran lipid pirofosfat, pada kokus gram positif.

Setelah didapatkan bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri ditanam pada medium NA dan disimpan serta diganti medium pada 1 minggu sekali. Langkah berikutnya adalah pengambilan sampel buah.

Uji Daya Hambat Ekstrak Nanas, Salak dan Mangga terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini, telah dilakukan uji daya hambat ekstrak buah yaitu buah nanas, salak dan mangga terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengambilan sampel buah nanas, salak dan mangga dilakukan secara pemetikan langsung dari kebunnya agar dapat memilih buah yang kualitasnya baik dan untuk mengetahui taraf kematangan dari masing-masing buah. Setelah itu buah dibawa ke Laboratorium untuk diteliti.

Metode uji antibakteri menggunakan metode sumuran, dan konsentrasi yang diujikan adalah konsentrasi 50% dan 100%. Masing-masing buah dan masing-masing konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Buah nanas dan buah mangga yang digunakan adalah buah yang mengkal hampir masak atau masak dari pohonnya sedangkan buah nanas yang digunakan adalah nanas yang sudah sangat masak, karena pada taraf kematangan inilah, masing-

masing buah menghasilkan zona hambat yang tinggi.

Dari Grafik (Gambar 1) Grafik rata-rata diameter zona hambat uji ekstrak buah Nanas, salak dan mangga kweni terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dapat dilihat bahwa buah nanas 50% memiliki nilai rata-rata 4,667 mm, nanas 100% memiliki nilai rata-rata 6,333 mm, salak 50% memiliki nilai rata-rata 3,667 mm, ekstrak buah salak 100% memiliki nilai rata-rata 7,667 mm, buah mangga 50% memiliki nilai rata-rata 7,000 mm dan buah mangga 100% memiliki nilai rata-rata 8,667 mm.

Semua perlakuan menghasilkan zona hambat, zona hambat ini diakibatkan karena ketiga buah memiliki kandungan senyawa kimia metabolit sekunder anti bakteri. Tinggi rendah suatu anti bakteri dalam menghasilkan zona hambat sangatlah dipengaruhi oleh zat antibakteri yang terkandung pada masing-masing buah. Dari hasil uji pendahuluan menggunakan metode maserasi, mangga kweni memiliki senyawa kimia yang ditarik oleh etanol dan menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, didukung pula dengan penelitian terdahulu yaitu penelitian tumbuhan dari genus *Mangifera* yang sudah diteliti kandungan kimianya adalah *Mangifera indica* atau yang dikenal dengan sebutan mangga. Hasil penelitian tersebut menyebutkan bahwa *Mangifera indica* mengandung *flavonoid*, *terpenoid*, *saponin*, *tanin* (Depkes, dalam Rosyidah 2010).

Pada buah nanas memiliki jenis antibakteri yang lain yaitu berupa enzim Broemelin, namun kita ketahui bahwa enzim dapat rusak pada suhu 40°C, sedangkan sari buah nanas yang diujikan adalah saribuah yang telah disterilisasi. Maka dari itu, yang dapat menghambat dalam uji ini adalah kandungan anti bakteri lain yang ada pada nanas yaitu polifenol,

saponin, flavonoida dan turunannya yaitu quercetin.

Pada buah salak, memiliki antibakteri yaitu Menurut Falahudin, (2011), bahwa ekstrak etil asetat, etanol, dan air daging buah salak bongkok mempunyai kandungan fitokimia, yaitu *flavonoid*, *alkaloid*, *terpenoid*, *catekin*, *tanin*, *kuinon*, dan *asam askorbat* 8,37 mg/100 g. Hal ini juga didukung oleh penelitiannya Priyatno.

Pada buah nanas dan mangga, memiliki salah satu jenis senyawa kimia yaitu saponin, saponin inilah salah satu penyebab dihasilkannya zona hambat pada uji daya hambat *Staphylococcus aureus*, karena saponin jika diujikan langsung pada bakteri dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu, zat anti bakteri akan datang dengan mudah masuk ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme, kemudian menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Hal ini sesuai dengan literatur yang dikatakan oleh (Pratiwi dalam Karlina, 2013) bahwa senyawa *saponin* merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding bakteri tersebut akan pecah atau lisis.

Pada buah nanas, mangga dan salak memiliki *flavonoid*, *flavonoid* merupakan senyawa *fenol* yang bersifat desinfektan dan sangat efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif karena *flavonoid* bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar pada bakteri Gram positif daripada lapisan lipid yang non polar. Disamping itu, pada dinding sel bakteri

Gram positif mengandung polisakarida (asam trikoat) yang merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transpor ion positif untuk keluar masuk. Sifat larut inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel Gram positif bersifat lebih polar.

Setelah flavonoid berhasil masuk, segera bekerja menghancurkan bakteri dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini telah sesuai dengan literatur yang dikatakan oleh (Priosoeryanto dalam Nur 2005) bahwa kandungan flavonoid ternyata sangat efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

Mangga dan salak memiliki senyawa *tanin*, *tanin* memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas *tanin* dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent *tanin* dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba. Hal ini telah sesuai dengan literatur yang dikatakan oleh Pratiwi dalam Karlina (2013) yang menyatakan bahwa senyawa *tanin* mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri.

Pada buah mangga dan salak, memiliki *terpen* atau *terpenoid*, *terpenoid* aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa. *Terpenoid* dianggap memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri seperti pada umumnya yaitu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel, menggumpalkan protein bakteri sehingga terjadi hidrolisis dan difusi cairan sel yang disebabkan karena perbedaan tekanan osmose.

Pada buah nanas memiliki Quercetin, Quercetin adalah flavonol, yaitu turunan flavonoid nabati yang sering ditemukan dalam buah, sayuran, dan daun. Para ilmuwan tidak dapat menjelaskan setiap keuntungan tunggal yang berhubungan dengan *Quercetin* karena masih dalam penelitian, tapi sejauh ini penelitian telah menunjukkan bahwa quercetin sangat membantu dalam mengendalikan kanker.

Pada buah salak memiliki katekin dan kuinon, dimana kedua senyawa ini tidak dimiliki oleh nanas dan mangga. Katekin dan kuinon memiliki mekanisme antibakteri seperti pada umumnya yaitu menghancurkan bakteri dengan cara menghancurkan dinding sel/membran sel bakteri.

Berdasarkan tabel hasil analisis ragam, menunjukkan bahwa faktor VK berbeda nyata, maka perlu diuji lanjut dengan menggunakan UJBD, hasil dari uji lanjut uji jarak berganda duncan menunjukkan bahwa interaksi antara varietas mangga pada konsentrasi 100% menghasilkan zona paling tinggi. Hal ini diakibatkan karena buah mangga memiliki senyawa tanin, flavonoid dan saponin, dimana flavonoid dan saponin adalah antibakteri yang sudah dianggap kuat atau mampu melakukan permeabilitas sel, sehingga dapat mempermudah untuk tanin menghancurkan bakteri tersebut. Hal ini, ditegaskan oleh (Ajizah dalam Karlina, 2013), yang menyatakan bahwa mekanisme penghambatan tanin yaitu dengan cara dinding bakteri yang telah lisis akibat senyawa saponin dan flavonoid, sehingga senyawa tanin dapat dengan mudah masuk ke dalam sel bakteri dan mengkoagulasi protoplasma sel bakteri *Staphylococcus aureus*.

SIMPULAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki beberapa sifat yaitu mampu memfermentasikan manitol, dapat menghemolisis darah, bersifat Gram positif, koagulase positif, mampu memproduksi asam sitrat, mampu menghidrolisis urea dan ammonia, mampu hidup pada media asam, anti gen bakteri mampu mengikat antibody IgG, mampu memfermentasikan karbohidrat, mampu menghasilkan nuclease tahan panas, mampu hidup pada medium Bird Parker dan sensitif terhadap basitracin B10.

Sari buah nanas (*Ananas comusus* L.merr.), salak (*Salacca edulis* Reinw.) dan mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Buah Nanas konsentrasi 50% menghasilkan jumlah rata-rata zona hambat yaitu 4,667 mm, sedangkan untuk konsentrasi 100% menghasilkan jumlah rata-rata zona hambat 6,333 mm. Buah salak konsentrasi 50% memiliki jumlah rata-rata zona hambat 3,667 mm dan untuk konsentrasi 100% menghasilkan jumlah rata-rata zona hambat 7,667 mm. Buah mangga konsentrasi 50% memiliki jumlah rata-rata zona hambat yaitu 7,000 mm dan untuk konsentrasi 100 % adalah 8,667 mm.

Dari hasil pengukuran zona hambat dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan UJBD, diketahui bahwa zona hambat paling tinggi adalah varietas buah mangga dengan konsentrasi 100%.

Saran

Adapun saran yang dapat diberikan yaitu untuk penelitian selanjutnya diharapkan ketiga jenis buah ini dapat pula diujikan pada bakteri lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan POM, 2008, *Pengujian Mikropangan*, J.Info POM, Vol. 9 (2).
- Falahudin, 2011, *Bioassay Antioksidasi Ekstrak Daging Buah Salak Bongkok (Salacca edulis Reinw.) dengan Khamir Candida sp*, LIPI, Jakarta.
- Hakim, 2011, *Analisis Cemaran Bakteri Staphylococcus aureus Pada Contoh Keju dan Susu Bubuk*, (<http://queenofsheeba.wordpress.com/2008/07/22/baktristaphylococcus-aureus/>). Diakses pada Tanggal 25 Maret 2013.
- Karlina, Muslim Ibrahim, Trimulyono Guntur, 2013, *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokotn (Portulaca oleraceae L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. J.Lentera Bio. Vol. II (1): 87-93.
- Khusnan, Printiyantoro, W. dan Slipranata, M., 2012, *Identifikasi dan Karakterisasi Fenotipe Staphylococcus aureus Asal Kasus Bumblefoot dan Arthritis pada Broiler*, J. Kedokteran Hewan, Vol VI (2).
- Khusnan, Salasia, O.I.S dan Soegiyono, 2008, *Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Fenotip Bakteri Staphylococcus aureus dari Limbah Penyembelihan dan Karkas Ayam Potong*, J. Veteriner, Vol IX (1) : 45-51.
- Lampe, 2011, *Isolasi, Identifikasi dan Konfirmasi Mikroba*, UNISBA.
- Nur, D. Zarawati, Abdullah A, 2013, *Bioaktivitas Getah Pelelah Pisang ambon Musa Paradisiaca var sapientum Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa dan E.coli*, Biologi FMipa, Unhas.
- Putra, 2013, *Uji Biokimia terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan E.coli*, www.scribd.com/doc/uji-biokimia, Diakses Pada Tanggal 23 April 2013.
- Raswati, 2011, *Bakteri Staphylococcus aureus*, Ilmu dan Teknologi Pangan, UNSOED.
- Rosyidah, K., Nurmuhaimina, S.A, Komari, N dan Astuti D.M., 2010, *Aktivitas Anti Bakteri Fraksi Saponin, Dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (Mangifera casturi)*. Bioscientiae, Vol 7 (2) : 25-31.
- Sulistyaningsih, 2010, *Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus DAN Staphylococcus aureus Resisten Metisilin (MRSA)*, Laporan Penelitian Mandiri, Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jatinangor.
- Verhaegen, 2003, *Prosedur Laboratorium Dasar Untuk Bakteriologi Klinik*, Penerbit Buku Kedokteran (EGC), Jakarta.
- Wibawan, 2009, *Pembuatan Rapid Test Menggunakan teknik "Koaglutinasi Tidak Langsung" Untuk Deteksi Antibodi Flu Burung*, IPB.