

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi sudah dikenal dari zaman dahulu.¹ Penyakit infeksi merupakan penyakit yang paling banyak diderita di Indonesia dan dunia. Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2012 menunjukkan bahwa tingkat kematian anak <5 tahun yang terjadi di Indonesia disebabkan penyakit infeksi sebesar 1%-20%.² Data WHO tahun 2014 juga menyebutkan bahwa infeksi dapat menewaskan 3,5 juta orang yang sebagian besar anak dan orang yang berpenghasilan menengah ke bawah. Data lain dari WHO tahun 2015 menyebutkan 85% kejadian kematian disebabkan oleh adanya infeksi dan kondisi gizi pada anak. Menurut data Riskesdas 2013, prevalensi infeksi di Indonesia untuk infeksi saluran pernafasan atas (ISPA) sebesar 25%, hepatitis 1,2% dan diare pada semua usia di Indonesia mencapai 7%.³ Pada tahun 2012 penyakit kulit dan jaringan subkutan terdapat 247.179 kasus dengan persentase 60,77%.⁴

Infeksi sering disebabkan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme yang paling sering menyebabkan infeksi adalah bakteri. Bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini menduduki satu dari sepuluh penyebab kematian akibat infeksi. *Staphylococcus aureus* adalah mikroorganisme yang bersifat patogen pada manusia dan dapat memicu berbagai penyakit infeksi, seperti infeksi kulit dan jaringan lunak, endokarditis, osteomielitis, bakterimia, dan pneumonia mematikan.⁵

Antibiotik adalah obat yang menjadi salah satu pilar yang memungkinkan kita untuk hidup lama, hidup lebih sehat, dan mendapatkan manfaat pengobatan. Infeksi bakteri biasanya diterapi dengan pemberian antibiotik, namun resistensi antibiotik terus berkembang, hal ini akibat ketidakpatuhan pasien dalam menggunakan antibiotik. Resistensi antibiotik dapat menyebabkan penurunan kemampuan antibiotik dalam mengobati infeksi dan penyakit pada manusia. Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya masalah seperti: meningkatkan angka kesakitan, meningkatkan efek samping dari penggunaan obat ganda dan dosis

obat, menyebabkan kematian, dan meningkatkan biaya dan lama perawatan. Menurut WHO dalam *Antimicrobial Resistency: Global Report on Surveillance* menunjukkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik di dunia, terkhusus infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap Methicilin, sehingga mengakibatkan menurunnya fungsi antibiotik tersebut.⁶

Obat dari bahan alami dinilai aman dan dapat digunakan untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik karena memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat modern. Salah satunya pemanfaatan manggis sebagai tanaman obat.⁷ Manggis (*Garcinia mangostana L*) merupakan salah satu jenis pohon cemara endemik yang tumbuh di negara tropis, seperti Indonesia, Malaysia, dan Thailand.⁸ Manggis memiliki sifat antioksidan, antialergi, antibakteri, antitumor, antivirus dan anti-inflamasi yang tinggi untuk mengobati berbagai penyakit, antara lain diabetes, hipertensi, dan infeksi bakteri.⁹

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Johanna Wijaya dan Nenda Mayang pada tahun 2021 menyatakan bahwa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menghasilkan diameter hambat pada konsentrasi 0,5%, 2%, 3,5%, 5%, dan tanpa pelarut didapatkan hambat 6,83 mm, 8 mm, 8,33 mm, 10,66 mm dan 16,66 mm.¹⁰ Menurut penelitian lain dari Audea Ananda Kartika dkk pada tahun 2022 dengan aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menghasilkan diameter hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, dengan nilai hambat 8,15 mm, 7,95 mm, 9,37 mm, 10,77 mm.¹¹ Dari penelitian sebelumnya menggunakan pada kontrol positif menggunakan ciprofloxacin dan pada kontrol negatif menggunakan aquades.

Maka dari uraian tersebut peneliti tertarik untuk menguji efektivitas kulit buah manggis, terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang digunakan adalah 20%, 40%, 60%, dan 100%.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimanakah efektivitas ekstrak kulit manggis dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3. Hipotesis

Ekstrak kulit manggis memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

1.4. Tujuan Penelitian

1.1.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas kulit manggis berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.1.2. Tujuan Khusus

Yang menjadi tujuan khusus dalam penelitian ini adalah :

1. Untuk menilai daya hambat ekstrak kulit manggis 20%, 40%, 60%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui kadar ekstrak kulit manggis dengan daya hambat terbesar.
3. Untuk membandingkan daya hambat ekstrak kulit manggis dengan kontrol negatif.
4. Untuk membandingkan daya hambat ekstrak kulit manggis dengan kontrol positif.

1.5. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Menambah wawasan, pengetahuan pengalaman tentang efektivitas antibakteri kulit buah manggis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Bagi Masyarakat

Memberikan wawasan kepada masyarakat mengenai manfaat dan kegunaan kulit buah manggis sebagai antibakteri.

3. Bagi Instansi

Menambah referensi di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan dan pelayanan kesehatan setempat sehingga penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam melakukan penelitian yang lebih lanjut.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Manggis (*Garcinia mangostana* L)

Manggis dengan nama Latin (*Garcinia mangostana* L) ,yaitu tanaman yang banyak tumbuh di kawasan Asia Tenggara, seperti di Indonesia, Malaysia, dan Thailand. Di Indonesia tanaman ini dijumpai dari Sabang sampai Merauke dan memiliki nama lokal di daerah tertentu seperti Lampung *manggus*, Sulawesi Utara *manggusto*, Nanggroe Aceh Darussalam *manggoita*, Jawa Barat *Manggu*, Sumatra Barat *Manggista*, dan di Maluku *manggustan*.⁸

Manggis merupakan buah terunggul di Indonesia yang memiliki peluang ekspor yang menjanjikan dari tahun ke tahun yang kebutuhan konsumen meningkat, buah ini mendapat julukan *Queen of Fruit*. Kandungan yang terdapat pada manggis sebagai antioksidan-inflamasi, anti-kanker, anti-hiperglikemia, karena mengandung senyawa bioaktif seperti xanthone.⁹ Kulit buah manggis mengandung antibiotik, berupa xanton, tanin, flavonoid, saponin dan terpenoid dari kulit manggis yang menggunakan metode maserasi.^{9,12}

Berikut sistematika taksonomi buah manggis (*Garcinia mangostana* L) sebagai berikut :

- a. Kingdom : Plantae
- b. Divisi : Tracheophyta
- c. Subdivisi : Spermatophyta
- d. Kelas : Magnoliopsida
- e. Ordo : Malpighiale
- f. Famili : Clusiaceae
- g. Genus : Garcinia
- h. Spesies : *Garcinia mangostana* L¹³.



Gambar 2.1 Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*)⁸

Morfologi Tanaman manggis (*Garcinia mangostana L.*) adalah sebagai berikut :

1. Batang
Tegak, kulit batang coklat dan memiliki getah kuning.
2. Daun
Susunan bersilang, tunggal, bentuk lembaran lonjong-lonjong dan menyempit, ujung daun meruncing bewarna Hijau Muda-Hijau Muda dengan Semburat Kecokelatan. Ukuran 15-22,2 cm x 6,7-10,2 cm, tangkai 0,4-0,55cm.
3. Bunga
Susunan menggarpu, bunga betina 1-3 ujung batang, mempunyai 4 kelopak daun, daun kelopak yang terluar hijau kuning 2, 2 yang terdalam lebih kecil bertepi merah, tumpul, melengkung kuat, garis tengah 5-6cm.
4. Buah
Berwarna ungu tua, berbentuk bola terekan, kepala putik duduk (dinding buah tebal, kelopak tetap berdaging, getah kuning), garis tengah 3,5-7cm.
5. Kulit
Warna kulit matang eksotis, tebal berdaging, memiliki getah berwarna kuning.
6. Biji
Berbentuk elips diselimuti selaput biji yang tebal dan berair, memiliki biji 1-3 butir, dapat dimakan.¹²

2.1.1. Manfaat dan Kegunaan dari Kulit Buah manggis (*Garcinia mangostana L*)

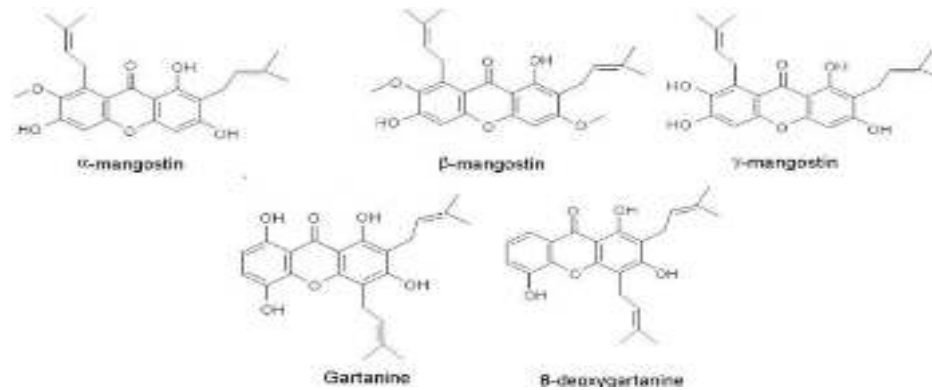
Manggis memiliki kandungan kimia terutama pada kulit manggis yang berpotensi untuk dilakukan penelitian yang cukup lanjut dan lebih besar, baik dalam bidang teknologi, farmasi dan lainnya. Ada beberapa fakta tersebut menjadikan kulit manggis mulai menarik diminati banyak negara.¹⁴

Kulit manggis populer di Thailand maupun di Filipina digunakan sebagai obat penurun panas, diare, disentri dan gangguan kencing. Di daerah lainnya masyarakat Amerika Latin dan Karibia juga memanfaatkan kulit manggis dikeringkan lalu dijadikan teh yang bisa membangkitkan stamina, sementara di wilayah Brazil digunakan untuk mengatasi masalah pencernaan dan di Venezuela, kulit manggis banyak digunakan untuk mengobati infeksi penyakit kulit yang disebabkan oleh tungau, serangga, kutu dan lainnya. Masyarakat India dan Jepang mengenal kulit manggis sebagai herbal yang berefek mengobati inflamasi.¹⁵

Kandungan kimia secara umum yang terdapat dalam kulit buah manggis antara lain xanthone, tanin dan flavonoid. Senyawa xanthone memiliki kemampuan sebagai antibakteri, antifungi, antiinflamasi, antioksidan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Senyawa antioksidan yang dapat membantu penghambatan radikal bebas yang diduga secara langsung maupun tidak langsung berfungsi untuk mencegah penyakit yang berhubungan dengan penuaan. Senyawa yang diisolasi *Garcinia mangostana L* yang berfungsi sebagai antioksidan yaitu asam klorogenat, asam galat, asam protocatechuic, epicatechin, sianida, dan ketekin.^{16,17}

2.1.2. Senyawa yang terkandung dalam kulit Buah Manggis

Pada kulit buah manggis mengandung senyawa *xanthone*. Xanthone merupakan senyawa yang lazim pada manggis, senyawa ini berfungsi sebagai antitumor, anti alergi, antioksidan, anti-inflamasi, antivirus, antijamur, antibakteri. Xanton yang terdapat pada kulit buah manggis terdiri dari α -, β -, dan γ -mangostin, garcinon E, 8-deoksigartanin, gartanin, dll. Senyawa α -mangostin memiliki khasiat sebagai antibakteri.^{14,18}



Gambar 2.2 Struktur α -mangostin, β -mangostin, γ -mangostin, gartanin, dan 8-deoxygartanin.¹⁸

Kulit buah manggis juga mengandung senyawa fitokimia yaitu senyawa golongan poliphenol, flavonoid, tanin, saponin.

1. Poliphenol

Poliphenol umumnya banyak terkandung dalam kulit buah. Ada beberapa subkelas yang termasuk dalam senyawa poliphenol yaitu, isoflavon, flavanon, flavonol, antosianidin, katekin, dan biflavan. Senyawa polifenolat merupakan senyawa metabolik sekunder terbesar dalam tanaman dengan mengandung cincin aromatik dengan beberapa gugus hidroksil yang terdapat, senyawa polifenolat mempunyai aktivitas kuat dalam menghambat aktivitas enzim dan antioksidan.¹⁵

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik alam yang berpotensi sebagai biokaktifasi sebagai obat dan antioksidan. Flavonoid berfungsi dalam menghambat enzim glukosidase dan alfa amylase sehingga memecah karbohidrat menjadi gagal dan tidak dapat diserap oleh usus. Senyawa fenolik dalam poliferin memiliki 15 atom karbon (C6-C3-C6) yang terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier.¹⁹

3. Tanin

Tanin merupakan salah satu golongan senyawa polifenol yang dijumpai pada tumbuhan. Tanin adalah komponen zat organik yang sangat kompleks

dan terdiri dari senyawa poliferon dengan berat molekul yang sangat besar yaitu 1000 g/mol dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein.²⁰

4. Saponin

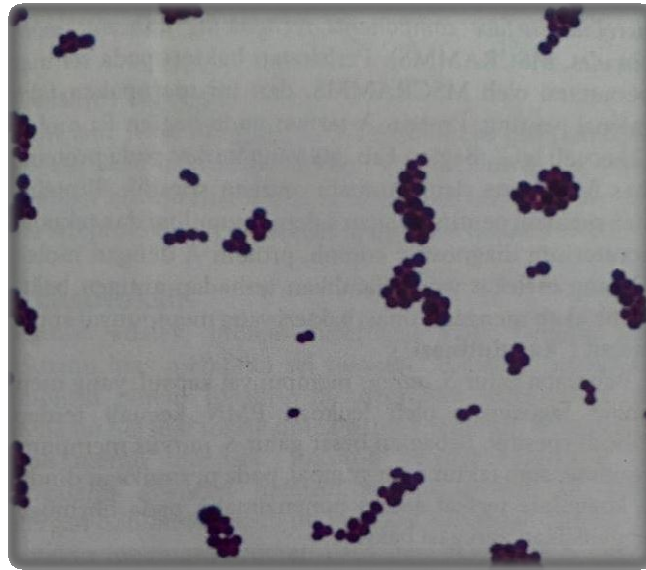
Saponin adalah jenis glikosida yang banyak dijumpai dalam tanaman. Saponin termasuk dalam golongan senyawa masa molekul, efek positif saponin dari bidang kesehatan berfungsi sebagai antioksidan, agregasi trombosit, menghambat karier gigi, selain ini saponin merupakan senyawa yang memiliki efek inflamasi, antifungi, sitotoksik dan analgesik.²¹

2.2. *Staphylococcus aureus*

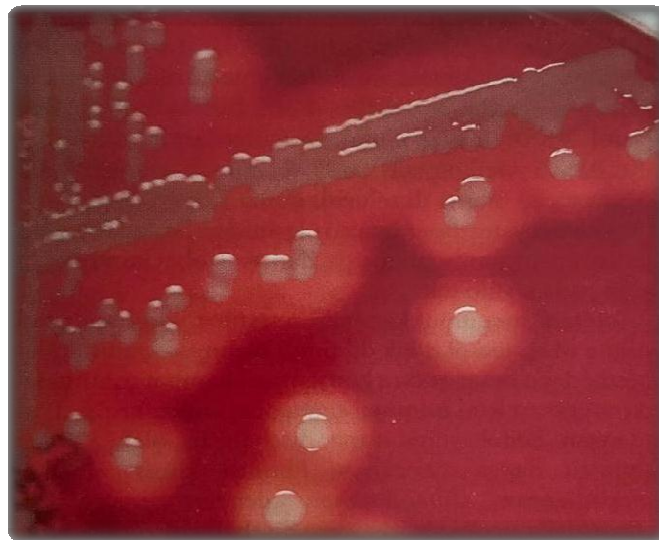
Taksonomi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Filum	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Coccus</i>
Ordo	: <i>Eubacteriales</i>
Famili	: <i>Micrococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> . ²²

Staphylococcus berasal dari kata *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan *coccus* yang berarti benih bulat, sedangkan *aureus* berarti emas seperti matahari. *Staphylococcus* adalah bakteri berbentuk sel sferis gram-positif biasanya tersusun berkelompok seperti anggur yang tidak beraturan. Mereka dapat tumbuh dengan mudah dalam berbagai media aktif secara metabolisme, memfermentasi karbohidrat dan memproduksi pigmen yang bervariasi dari putih hingga kuning tua. Bakteri ini bersifat non-spora, non-motif, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 5-46°C dan pada pH 7,4. Dan membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua pada media.^{5,23}



Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pewarnaan gram²⁴.



Gambar 2.4 Hemolisis *Staphylococcus aureus* pada cawan agar darah sesudah inkubasi 24 jam.²⁴

Dalam pengaruh obat, seperti penisilin, stafilolulus mengalami lisis. *Micrococcus sp.* Sering disamakan dengan dan menyerupai *Staphylococcus aureus* mereka ditemukan hidup bebas di lingkungan dan memebentuk paket reguler terdiri dari empat atau delapan kokus. Koloninya dapat berwarna kuning, merah, atau jingga, jarang berkaitan *Micrococcus* dengan penyakit.^{23,25}

2.2.1. Sifat Biologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus menghasilkan katalase yang membedakan mereka dari streptococcus. *Staphylococcus aureus* memfermentasikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tidak dengan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi antara galur yang satu dengan lainnya. *Staphylococcus aureus* protegen yang menghasilkan banyak zat ekstra sel.⁵

Staphylococcus aureus relatif resisten terhadap pengering, pemanas (dapat tahan pemanas selama 50°C dalam waktu 30 menit), dan natrium klorida 9%, tetapi dengan mudah dihambat oleh zat kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3%.²⁶

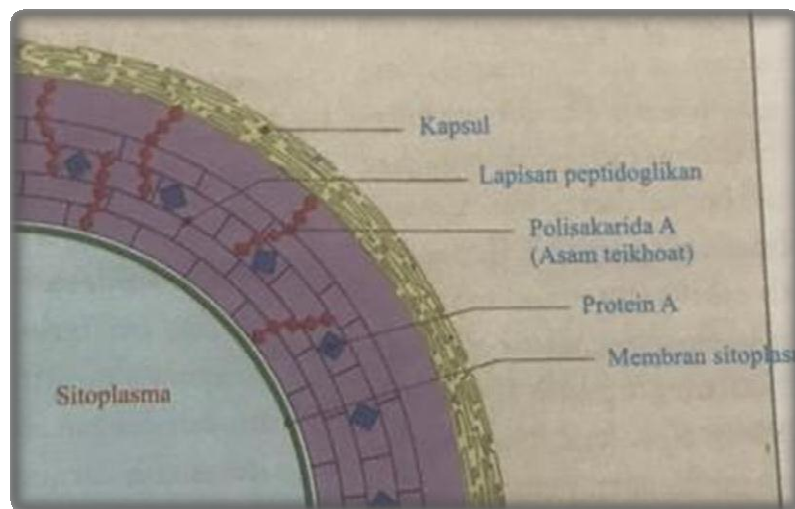
Kultur *Staphylococcus aureus* mengandung beberapa bakteri yang berbeda dari sejumlah besar populasi dalam hal ekspresi karakteristik koloni dari segi ukuran koloni, pigmen, hemolisis, keluasan enzim, resisten obat, dan patogenitas.²⁶

Di antara semua bakteri yang tidak membentuk spora, *Staphylococcus aureus* yang termasuk dalam bakteri yang memiliki daya tahan paling kuat. Pada agar miring, *Staphylococcus aureus* dapat tetap hidup berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Dalam keadaan kering pada kertas, kain, benang, dan pada nanah, bakteri tetap hidup selama 6-14 minggu. *Staphylococcus aureus* jenis tertentu yang tahan selama 5 menit, tetapi mati dalam waktu 10 menit jika dalam fenol 1/90, telah dipakai sebagai anti bakteri standart untuk menilai daya antiseptik suatu disinfektan dalam uji koefisien fenol. Daya tahan bakteri ini dalam berbagai zat kimia.²⁷

2.2.2. Struktur Antigen *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigen. Bahan ekstraseluler yang dibuat oleh bakteri ini kebanyakan bersifat antigenik.²⁸ Peptidoglikan, polimer polisakarida yang mengandung subunit yang terhubung menyediakan eksoskeleton dinding sel yang ringid. Peptidoglikan dihancurkan oleh asam kuat atau pemaparan pada lisozim. Ini penting dalam patogenesis infeksi. Peptidoglikan memunculkan pengeluaran interleukin-1 (pirogen-endogen) dan antibodi opsonik oleh monosit, dan dapat

merupakan kemoatrakan untuk leukosit PMN (polimorfonuklear), memiliki aktivitas serupa endotoksin dan mengaktivasi komplemen.²⁶



Gambar 2.5 Struktur antigen *Staphylococcus aureus*.²⁸

2.2.3. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus 20-50% terdapat pada hidung manusia. Kemampuan patogenik strain. *Staphylococcus aureus* merupakan efek gabungan faktor-faktor ekstraseluler, toksin-toksin, serta invasif strain itu. *Staphylococcus aureus* yang patogen dan invasif cenderung menghasilkan koagulasi dan pigmen kuning, dan bersifat hemolitik.²⁹

2.2.4. Gambaran Klinis *Staphylococcus aureus*

Infeksi *Staphylococcus aureus* terlokalisasi tambak sebagai “jerawat”, infeksi folikel rambut, atau abses. Sering terdapat suatu reaksi infalamsi hebat yang nyeri, mengalami supurasi sentral, terlokalisasi ,dan menyembuhkan dengan cepat. Dinding fibrin dan sel dikelilingim pusat abses cenderung mencegah penyebaran organisme dan sebaiknya tidak dipecah dengan manipulasi atau trauma.²⁹ Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat terkontaminasi langsung suatu luka, misalnya infeksi luka stafilokokus pasca bedah, atau infeksi sesudah trauma (meningitis sesudah fraktur tulang dan osteomielitis kronik setelah fraktur terbuka).²⁹

Jika *Staphylococcus aureus* berseminata dan terjadi bakteri infeksi paru. Gambaran klinisnya sama seperti infeksi pada aliran darah lainnya. Lokalisasi sekunder didalam organ atau suatu sistem diikuti dengan tanda dan gejala disfungsi organ yang hebat.²⁹

2.2.5. Uji Aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas bakteri memiliki tujuan untuk mengukur aktivitas daya bakteri dari senyawa kimia terhadap bakteri, menentukan konsentrasi suatu bakteri terhadap cairan badan atau jaringan, dan kepekaan suatu antibiotik terhadap konsentrasi obat yang dikenal (Jawetz *et al.*, 2001), untuk menentukan kepekaan suatu bekteri patogen dapat dilakukan dua metode yaitu:³⁰

1. Metode difusi
 - a. Cakram merupakan cara yang paling sering dipakai untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu cakram kertas saring yang berfungsi sebagai tempat menampung antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan dilempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimal mikroba. Pada umumnya, hasil yang didapatkan bisa diamati diinkubasi 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil dari pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.^{31,32}

Tabel 2.1 Diameter zona terang dan respon hambat pertumbuhan.³¹

Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak Ada

- b. Cara Parit.

Pada metode ini lempeng agar telah diinokulasikan dengan bakteri dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba. Kemudian diinkubasi pada

suhu dan waktu yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit.³¹

c. Cara sumuran.

Metode ini memakai lempeng agar yang diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba. Setelah diinkubasi pada waktu dan suhu sesuai dengan mikroba uji. Dapat dilakukan pengamatan, dengan melihat apakah ada zona hambat di sekeliling lubang.^{31,32}

2. Metode Dilusi

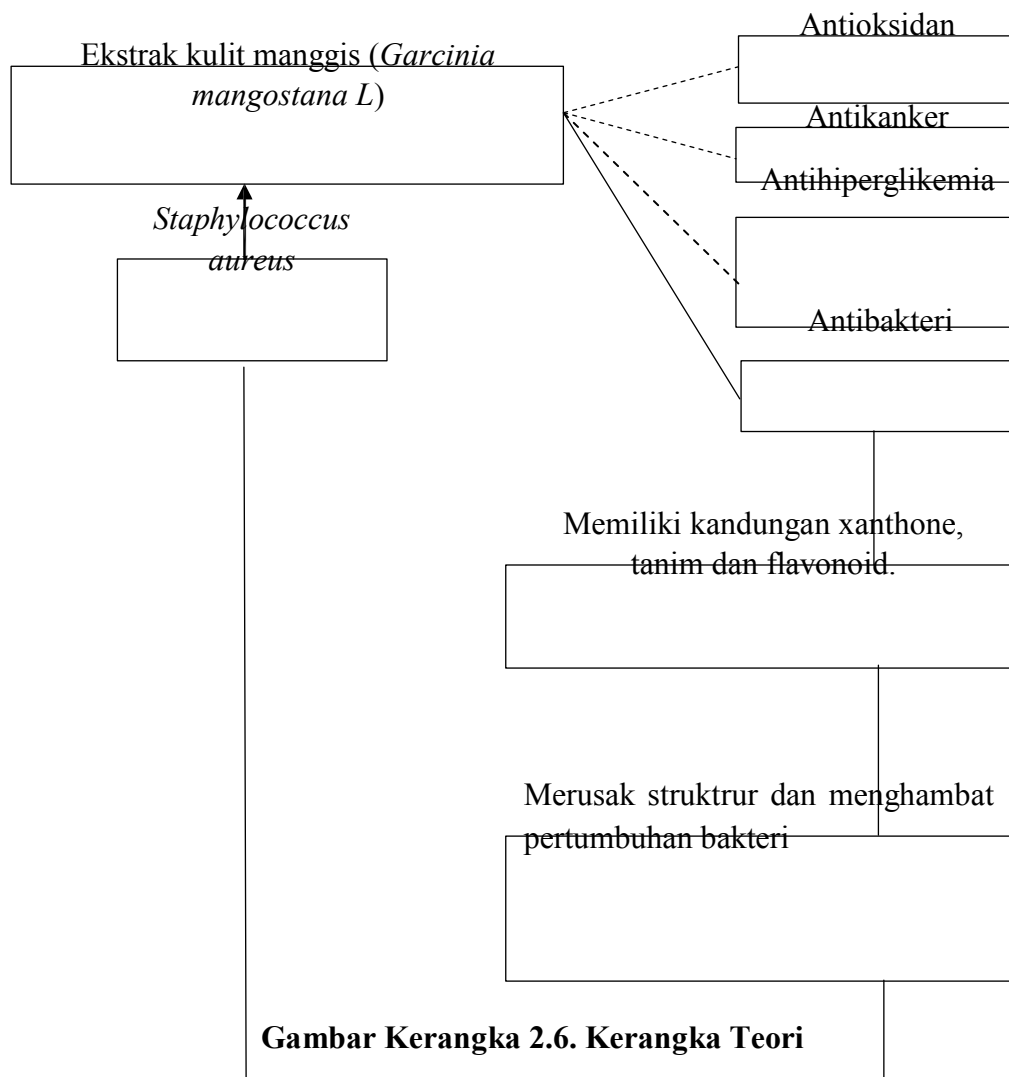
a. Metode dilusi cair

Dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang akan diisi dengan inokulum kuman dan larutan bakteri yang diencerkan sesuai dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan dari kadar hambat minimal (KHM).^{32,33}

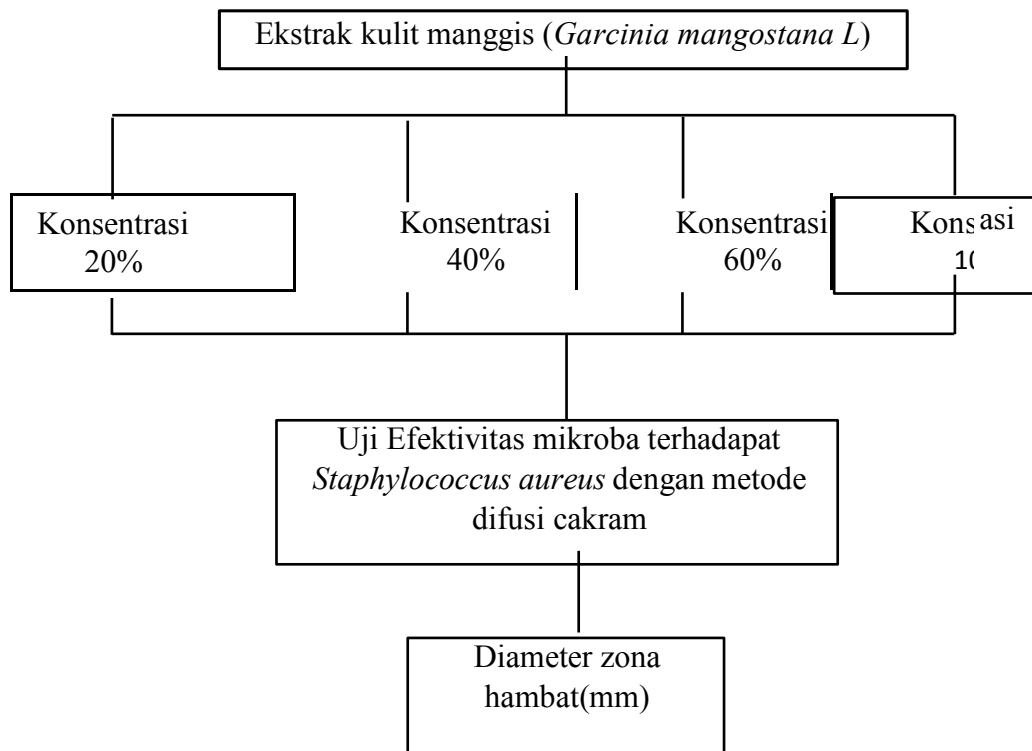
b. Dilusi agar

Pada media agar zat antibakteri diencerkan lalu dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan bakteri kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai kadar hambat minimal. Uji membutuhkan sebuah kontrol, yaitu kontrol sterilitas, kontrol pertumbuhan dan uji secara simultan strain bahwa seri pengenceran benar. Akhir uji dilusi biasanya tajam dan mudah didefinisikan.^{32,33}

2.3. Kerangka Teori



2.4. Kerangka konsep



Gambar 2.7. Kerangka Konsep Penelitian

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode uji sensitivitas difusi cakram.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Univeristas Sumatera Utara untuk pembuatan ekstrak dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen untuk pengujian aktivitas antimikroba pada bulan Mei-Desember 2022.

3.3. Sample Penelitian

Bakteri yang digunakan dalam penelitian adalah *Staphylococcus aureus* yang dikultur dalam media agar.

3.4. Bahan Uji

Bahan yang diuji dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit buah manggis yang dilarutkan aquades dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 100% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5. Pengulangan Sampel

Pada penelitian ini dilakukan sampel berupa ekstrak kulit manggis, antibiotik vancomycin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Pada penelitian ini dilakukan pengulangan sampai mendapat hasil yang valid. Dengan hitungan yg digunakan menggunakan rumus Federer.

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times (6-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times 5 \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$N \geq 4$ (pengulangan yang dilakukan adalah 4 kali dalam pembuatan hasil)

Keterangan:

n=banyak pengulangan

t=banyak perlakuan

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat :

- | | |
|-----------------------|-----------------------|
| 1. Gelas ukur | 13. Aluminium foil |
| 2. Erlenmayer | 14. Rotary evaporator |
| 3. Tabung reaksi | 15. Kertas saring |
| 4. Timbangan analitik | 16. Kertas label |
| 5. Beaker gelas | 17. Spritus |
| 6. Cawan petri | 18. Bunsen |
| 7. Autoklaf | 19. Cotton bud |
| 8. m Laminar Air Flow | 20. Alumunium foil |
| 9. Jarum ose | 21. Kapas |
| 10. Pinset | 22. Spidol |
| 11. Pipet mikro | 23. Plastik besar |
| 12. Jangka sorong | |

3.6.2 Bahan:

1. Etanol 75%
2. Media *Nutrient Agar*
3. Media *Nutrient Broth*
3. Bakteri *Staphylococcus aureus*
4. Aquades
5. Larutan McFarland
6. Antibiotik *vancomycin*
7. Ekstrak kulit buah Manggis

3.7. Prosedur Kerja

3.7.1. Sterilisasi Media

Alat yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri disterilkan terlebih dahulu sebelum dipakai. Alat gelas yang merupakan alat ukur gelas ukur dan media pertumbuhan bakteri disterilkan di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan alat gelas lainnya disterilkan dalam oven pada suhu 170°C selama 1 jam.

3.7.2. Pembuatan Simplisia

Pengumpulan dan pengolahan kulit buah manggis yang meliputi sortasi basah merupakan tahap penelitian, pencucian, perajangan dan pembuatan serbuk simplisia. Pembuatan ekstrak kulit manggis menggunakan metode maserasi yaitu sebanyak 500 gram serbuk simplisia dengan derajat kehalusan yang cocok dimasukkan ke dalam wadah kaca, kemudian dituang dengan 3 liter cairan etanol 75%. Ekstrak dipekatkan ke dalam *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak kental yang dilihat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang.

3.7.3. Pembuatan Larutan Uji Berbagai Konsentrasi

$$100\% = \frac{100\text{g}}{100\text{mL}} \times 1\text{mL} = 1\text{g ekstrak di larutkan dalam 1 mL aquades.}$$

$$60\% = \frac{60\text{g}}{100\text{mL}} \times 1\text{mL} = 0,6\text{g ekstrak di larutkan dalam 1 mL aquades.}$$

$$40\% = \frac{40\text{g}}{100\text{mL}} \times 1\text{mL} = 0,4\text{g ekstrak di larutkan dalam 1 mL}$$

aquades.

$$20\% = \frac{20\text{g}}{100\text{mL}} \times 1\text{mL} = 0,20\text{g ekstrak di larutkan dalam 1 mL aquades.}$$

3.7.4. Pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA)

Media MHA ditimbang sebanyak 20 gram, lalu dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dengan ditambahkan aquadest 500 ml, setelah itu diletakkan di atas *hotplate* dan diaduk memakai *magnetic stirrer*. Setelah mendidih, lalu ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan menggunakan aluminium foil. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf dengan tekanan suhu 121°C selama 15 menit. Media

MHA dituangkan kedalam 5 cawan pada masing-masing dituangkan 20 ml, ditunggu hingga memadat.

3.7.5. Penanaman Bakteri *Staphylococcus aureus*

Satu koloni biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dengan menggunakan jarus ose steril. Koloni bakteri ditanamkan pada media MHA dengan cara menggores, lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.

3.7.6. Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit manggis terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode kertas cakram dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 100%. Hal ini dilakukan dengan melihat zona hambat yang terbentuk dari ekstrak etanol kulit manggis tersebut.

Sebelum melakukan pengujian tangan terlebih dahulu disterilkan. Mengambil bakteri *Staphylococcus aureus* dari medium agar padat menggunakan ose, selanjutnya dilakukan pembuatan suspensi di tabung menggunakan NaCl 0,9%, dibandingkan kekeruhan dengan larutan MC Farland 0,5, suspensi bakteri diambil lalu lidi kapas diangkat dan diperas dengan menekan lidi kapas pada dinding tabung sambil diputar-putar, setelah itu diswabkan ke permukaan medium MHA sampai seluruh permukaan tertutup rapat supaya bakteri meresap kedalam media agar.

Cakram kosong (oxid) direndam 15 menit dalam ekstrak kulit buah manggis dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 100%, lalu pada media ditempelkan kertas cakram yang sudah di rendam dengan berbagai konsentrasi. Kontrol negatif yaitu kertas cakram yang direndam dengan DMSO 10% dan sebagai kontrol positif yaitu cakram vancomycin. Jarak antara disk satu dengan lainnya kurang lebih 20mm, kemudian bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah ditanam di dalam media MHA dan di berikan perlakuan diinkubasi dalam inkubator suhu 37°C selama 1x24 jam. Setelah 24 jam, zona hambat perlu diukur dengan mengukur diameter clear zone di sekitar cakram dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm.

3.8. Identifikasi Variabel

3.8.1. Variabel Independen

Variabel independennya adalah ekstrak kulit manggis konsentrasi 20%, 40%, 60%, 100%.

3.8.2. Variabel Dependen

Variabel dependen penelitian adalah diameter(mm) zona hambat pertumbuhan pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.8.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol penelitian adalah antibiotik vancomycin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif.

3.9. Defenisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

NO	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Pengukuran
1	Ekstrak kulit buah Manggis(<i>Garcinia mangostana L</i>)	Sediaan pekat zat aktif yang diperoleh dengan mengekstrak dari simplisia kulit buah manggis	Gelas ukur, mikropipet, timbangan.	Sesuai dengan konsentrasi	Rasio
2	Zona hambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Daerah disekitar kertas cakram yang tidak ditemukan pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>	Jangka Sorong	Diamter zona hambat (mm)	Rasio

3.10. Analisis Data

Pada Uji statistik kulit buah manggis didapatkan bahwa data terdistribusi normal pada uji normalitas Shapiro-Wilk, dimana nilai signifikansinya $p > 0,05$. Pengujian kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk melihat apakah

varian datanya homogennya, hasil yang didapatkan adalah $p=0,317 > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan data dalam penelitian ini homogen, kemudian dilanjutkan uji *One Way Anova*. Selanjutnya dilakukan analisis post hoc LSD (*least significant different*) untuk mengetahui perbedaan yang signifikan dari tiap-tiap perlakuan yang satu dengan yang lainnya.