

Uji Aktivitas Antimikroba Kombinasi Ekstrak Perikarp Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Bakteri Penginfeksi Kulit

*Elin Yulinah Sukandar, Afrillia Nuryanti Garmana, Citra Khairina

Kelompok Keilmuan Farmakologi – Farmasi Klinik, Sekolah Farmasi,
Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10 Bandung, 40132

Abstrak

Telah diteliti aktivitas antimikroba dari kombinasi ekstrak etanol perikarp manggis dan kelopak bunga rosella pada ketiga bakteri penginfeksi kulit yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Propionibacterium acnes*. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan metode mikrodilusi kemudian dilanjutkan pengujian secara topikal pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi ketiga bakteri tersebut. Hasil pengujian secara *in vitro* menunjukkan kombinasi ekstrak perikarp manggis dan kelopak bunga rosella memiliki aktivitas antibakteri yang sinergis terhadap *S. aureus*, *S. epidermidis*, dan *P. acnes*, dan mempercepat penyembuhan infeksi pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi oleh ketiga bakteri tersebut ($p > 0,05$).

Kata kunci: infeksi kulit, perikarp manggis, kelopak bunga rosella.

Abstract

The antimicrobial activity of combination mangosteen pericarp and roselle calyx ethanol extract against bacterias that infect the skin such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Propionibacterium acnes* had been studied. The *in vitro* test was conducted by microdilution method to determine the characteristic of extract combination, and gave topically to the back skin of rabbits. The results showed that the extract combination of mangosteen pericarp and roselle calyx have a synergistic antibacterial activity against *S.aureus*, *S.epidermidis*, and *P.acnes* by *in vitro* study, and accelerated healing time of infection on rabbits skin ($p > 0.05$).

Keywords: skin's infection, mangosteen pericarp, roselle calyx.

Pendahuluan

Pemanfaatan perikarp manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) di Indonesia digunakan sebagai antiproliferasi, antiinflamasi, dan antimikroba. Salah satu bentuk infeksi mikroba yang sering terjadi yaitu infeksi kulit, dimana gejala yang ditimbulkan yaitu jerawat dengan gejala udem, bisul, abses, kemerahan, dan nyeri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol perikarp manggis dan kelopak bunga rosella terhadap bakteri yang menginfeksi kulit yaitu *S. aureus*, *S. epidermidis*, dan *P. acnes* secara *in vitro* dan topikal pada punggung kelinci.

Percobaan

Bahan

Perikarp manggis (*Garcinia pericarpium*), bunga rosella (*Hibiscus flos*), etanol 96%, dimetilsulfoksida, toluen, alkohol 70%, spirtus, Mueller Hinton Broth,

Mueller Hinton Agar, salep Tetrasiklin 3%, aquadestilata, antibiotik pembanding tetrasiklin HCl.

Alat

Seperangkat alat refluks, seperangkat alat distilasi, penangas air, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, oven, mikropipet, tip mikropipet, Ose bundar, *microplate 96-wells*, penguap vakum berputar, *vortex*, kertas saring, kertas perkamen, kapas berlemak, aluminium foil, *Laminar Air Flow*, autoklaf, spektrofotometer UV-sinar tampak, inkubator, *syringe*, kassa steril, micropore, pembalut luka, jangka sorong, alat cukur.

Bakteri Uji

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), dan *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung.

*Penulis korespondensi, e-mail: elin@fa.itb.ac.id.

Hewan Uji

Kelinci betina New Zealand White, berumur 6 bulan dengan berat 2-3 kg sebanyak 12 ekor, diperoleh dari peternak kelinci di Lembang.

Penyiapan Suspensi Bakteri Uji

Koloni bakteri uji disuspensikan dalam Mueller Hinton Broth dan diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 35 ± 2 °C. Suspensi bakteri ini kemudian diencerkan dengan MHB hingga menghasilkan absorbansi 0,08 – 0,13 ($1 - 2 \times 10^8$ CFU / mL) menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak pada panjang gelombang 625 nm (setara dengan 0,5 McFarland). Setelah memenuhi persyaratan absorbansi, suspensi diencerkan 1 dalam 100 bagian MHB untuk mendapatkan koloni 1×10^6 CFU/mL. Dimana konsentrasi koloni akhir di setiap sumur adalah 5×10^4 CFU/sumur.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bakterisidal Minimum (KBM)

Penentuan KHM dan KBM dilakukan dengan metode mikrodilusi. Sumur pada kolom pertama dijadikan kontrol negatif, diisi dengan 200 µL media tumbuh. Sumur kolom kedua dijadikan kontrol positif, diisi dengan 100 µL media tumbuh dan 100 µL suspensi bakteri. Semua sisa sumur diisi dengan 100 µL media tumbuh. Ke dalam sumur kolom ke-12 ditambahkan 100 µL stok larutan ekstrak uji atau antibiotik pembanding dengan konsentrasi tertentu. Dari sumur kolom ke-12 diambil 100 µL larutan untuk dipindah ke sumur kolom ke-11. Langkah yang sama diulangi hingga hasil pengenceran ekstrak telah mengisi sumur kolom ke-3 dengan konsentrasi sebesar 1/512 konsentrasi pada kolom ke-12. Setiap sumur uji ditambahkan 100 µL suspensi bakteri uji. Microplate diinkubasikan pada suhu 35 ± 2 °C, selama 18-24 jam. KHM adalah konsentrasi terkecil dimana isi sumur jernih dan tidak ada pertumbuhan mikroba dibandingkan kontrol. Sebanyak 5 µL larutan dari sumur yang menunjukkan nilai KHM terhadap bakteri dan seluruh sumur lainnya di atas nilai KHM diteteskan pada cawan petri yang berisi media agar, kemudian digoreskan dengan jarum Ose. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 35 ± 2 °C selama 18-24 jam. Media agar yang menunjukkan visualisasi kejernihan dan tidak ditumbuhi bakteri ditetapkan sebagai konsentrasi bakterisidal minimum (KBM).

Penentuan Sifat Kombinasi Ekstrak dengan Metode Mikrodilusi

Konsentrasi dari masing-masing ekstrak dibuat bervariasi. Konsentrasi yang dibuat dari masing-masing ekstrak yaitu $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, dan $\frac{3}{4}$ KHM masing-

masing ekstrak. Berbagai konsentrasi ekstrak tersebut saling dikombinasikan dan diteteskan ke dalam sumur. Ditambahkan 100 µL suspensi bakteri uji dan diinkubasi selama 18-24 jam pada 35 ± 2 °C. Sifat kombinasi antibakteri sinergis ditunjukkan dengan kejernihan pada kombinasi ekstrak dengan jumlah Fraksi Konsentrasi Inhibisi (FKI) dari masing-masing ekstrak bernilai <1 . Sifat aditif ditunjukkan dari jumlah FKI masing-masing ekstrak = 1, dan antagonis ditunjukkan dengan jumlah FKI masing-masing ekstrak bernilai >1 .

Penentuan Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak secara Topikal

Punggung kelinci sebelah kiri dijadikan sebagai kontrol positif (tidak diberikan ekstrak) dan sebelah kanan sebagai bagian yang diuji. Sebanyak 0,5 mL suspensi bakteri uji diinjeksikan secara intrakutan dan dibiarkan selama 24 jam. Luka pada derah uji diberikan kombinasi ekstrak 3 setiap hari sampai infeksi sembuh. Pengamatan meliputi berkurangnya infeksi yang ditandai dengan berkurangnya skor luka, nanah, dan eritema pada kelinci uji.

Hasil dan Pembahasan

Ekstrak perikarp manggis memberikan KHM sebesar 64 µg/mL terhadap *S. aureus*, dan ekstrak kelopak bunga rosella memberikan KHM sebesar 1024 µg / mL. Sementara terhadap bakteri *S. epidermidis*, ekstrak perikarp manggis memberikan KHM pada konsentrasi 32 µg / mL dan 64 µg / mL terhadap *P. acnes*. Ekstrak kelopak bunga rosella memberikan KHM 1024 µg / mL pada kedua bakteri tersebut. Pada pengujian nilai KBM dari ekstrak kelopak bunga rosella, diperoleh nilai KBM yang sangat besar sehingga KBM belum dapat ditentukan secara pasti. Pengujian sifat kombinasi ekstrak perikarp manggis dan kelopak bunga rosella menunjukkan sifat sinergis terhadap bakteri uji *S. aureus*, *S. epidermidis*, dan *P. acnes*. Kombinasi ekstrak terbaik adalah kombinasi yang menunjukkan sifat sinergis karena memberikan peningkatan aktivitas antibakteri dengan konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan saat pemakaian tunggal. Sementara kombinasi ekstrak antagonis tidak bisa digunakan bersama-sama karena menyebabkan penurunan aktivitas antibakteri. Pada pengujian terhadap ketiga bakteri tersebut, kedua ekstrak masing-masing hanya membutuhkan seperempat dari KHM nya untuk menghambat jenis dan jumlah bakteri yang sama. Kelinci yang diinduksi bakteri *S. aureus* memperlihatkan waktu sembuh sekitar 17 hari, lebih cepat kurang lebih 4 hari dibandingkan dengan kontrol yaitu sekitar 21 hari dan uji statistik menunjukkan perbedaan bermakna pada perbedaan hari tersebut ($p < 0,05$).

Kulit kelinci yang diinduksi bakteri *S. epidermidis* sembuh rata-rata dalam waktu sekitar 9 hari, 2 hari lebih cepat dibandingkan kontrol, dan untuk kelinci yang diinduksi *P. acnes* waktu penyembuhan diperlihatkan dalam 6 hari, lebih cepat 2 hari dibandingkan dengan kontrol. Kedua kelompok kelinci yang diinfeksi tersebut juga menunjukkan perbedaan bermakna terhadap waktu kesembuhan infeksi berdasarkan hasil uji statistik ($p < 0,05$). Waktu penyembuhan yang berbeda pada setiap infeksi disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam menginfeksi kulit dan juga daya tahan tubuh yang dimiliki oleh setiap kelinci. Dari hasil pengamatan, *S. aureus* menginfeksi kulit dengan menimbulkan gejala yang cukup parah salah satunya ditunjukkan dengan munculnya nanah. Berbeda dengan kulit punggung yang diinfeksi oleh *S. epidermidis* dan *P. acnes*, gejala yang ditimbulkan hanya eritema dan udem pada kulit tanpa nanah. Hal ini disebabkan *S. aureus* bersifat pyogenic, artinya dapat menghasilkan

nanah pada bagian kulit yang diinfeksi. Pada kelompok kelinci yang diinduksi *S. aureus*, parameter penurunan diameter luka pada bagian uji tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol ($p > 0,05$), sedangkan parameter intensitas eritema dan luas nanah menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol ($p < 0,05$). Pada kelompok kelinci yang diinfeksi bakteri *S. epidermidis*, penurunan diameter eritema tidak menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kontrol ($p > 0,05$) tetapi pada parameter penurunan intensitas eritema hasil uji menunjukkan perbedaan bermakna dengan kontrol ($p < 0,05$). Pada kelompok kelinci yang diinfeksi *P. acnes*, skor diameter dan intensitas eritema tidak menunjukkan penurunan yang berbeda bermakna terhadap kontrol ($p > 0,05$). Jika dilihat dari kondisi kesembuhan kulit setelah diinfeksi, kulit punggung kelinci yang diinfeksi *S. epidermidis* dan *P. acnes* jauh lebih cepat sembuh dan tidak menghilangkan bekas yang sulit hilang karena tidak menimbulkan luka.

Tabel 1. Nilai KHM dan KBM Ekstrak Perikarp Manggis dan Kelopak Bunga Rosella terhadap Bakteri Uji

Ekstrak	Bakteri					
	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>Propionibacterium acnes</i>	
	KHM (µg/mL)	KBM (µg/mL)	KHM (µg/mL)	KBM (µg/mL)	KHM (µg/mL)	KBM (µg/mL)
Perikarp	64	>1024	32	>1024	64	>1024
Kelopak Bunga Rosella	1024	>4096	1024	>4096	1024	>4096

Tabel 2. Hasil Uji Sifat Kombinasi Ekstrak Perikarp Manggis dan Kelopak Bunga Rosella terhadap Bakteri Uji

Bakteri	Ekstrak		Sifat	Keterangan
	KHM Rosella (µg/ml)	KHM Manggis (µg/ml)		
<i>Staphylococcus aureus</i>	256	16	Sinergis	¼ KHM Rosella + ¼ KHM Manggis < 1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	256	8	Sinergis	¼ KHM Rosella + ¼ KHM Manggis < 1
<i>Propionibacterium acnes</i>	256	16	Sinergis	¼ KHM Rosella + ¼ KHM Manggis < 1

Tabel 3. Hasil Pengamatan Kecepatan Sembuh Infeksi Bakteri pada Kulit Punggung Kelinci oleh Kombinasi Ekstrak Kulit Manggis dan Kelopak Bunga Rosella

Bakteri Uji	Kesembuhan Infeksi Bakteri (dalam hari)		
	Kontrol	Uji	P
<i>Staphylococcus aureus</i>	21,33±0,53	17,00 ± 2,00	0,01
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9,00 ± 1,00	6,67 ± 0,58	0,02
<i>Propionibacterium acnes</i>	5,67 ± 1.15	3,33 ± 0,58	0,02

Tabel 4. Hasil Pengamatan Kemampuan Kombinasi Ekstrak 3% Menurunkan Skor Parameter pada Kulit Punggung Kelinci yang Diinfeksi *S. aureus*

Titik Induksi	Diameter Luka		Diameter Nanah		Intensitas Eritema		Skor Total	
	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji
1	2	1	1	3	2	3	5	7
2	1	1	1	3	3	3	5	7
3	1	1	2	3	2	3	5	7
4	1	1	1	3	1	2	3	6
5	1	1	1	3	2	2	4	6
6	1	1	2	3	1	2	4	6
7	3	3	1	3	2	2	6	8
8	3	3	1	3	2	2	6	8
9	3	3	3	3	2	2	8	8
Rata-Rata	1,78±0,98	1,67±1	1,44±0,73	3	1,89±0,6	2,33±0,5	5,11±1,45	7±0,87
P	0,32		0,01		0,05		0,01	

Keterangan:

Penurunan diameter luka:

0 = tidak turun

1 = turun 0,20 – 1,20 cm

2 = turun 1,21 – 2,2 cm

3 = turun >2,3 cm

Penurunan luas nanah:

0 = tidak turun

1 = nanah turun <50% diameter luka

2 = nanah turun >50% diameter luka

3 = nanah turun seluas luka

Penurunan intensitas eritema:

0 = tidak turun

1 = merah tua

2 = merah muda

3 = merah muda keputihan

Tabel 5. Hasil Pengamatan Kemampuan Kombinasi Ekstrak 3 % Menurunkan Skor Parameter pada Kulit Punggung Kelinci yang Diinfeksi *S. epidermidis*

Titik Induksi	Diameter Eritema		Intensitas Eritema		Skor Total	
	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji
1	1	1	1	1	2	2
2	1	2	1	2	2	4
3	1	1	1	2	2	3
4	3	1	2	3	5	4
5	2	2	2	3	4	5
6	3	3	2	3	5	6
7	1	2	2	2	3	4
8	1	1	2	2	3	3
9	1	1	2	2	3	3
Rata-rata	1,56±0,88	1,56±0,73	1,67±0,5	2,22±0,67	3,22±1,2	3,78±1,2
P	1		0,025		0,095	

Keterangan:

Penurunan diameter eritema:

0 = tidak turun

1 = turun 0,15 – 0,55 cm

2 = turun 0,56 – 0,95 cm

3 = turun > 0,96 cm

Penurunan intensitas eritema:

0 = tidak turun

1 = merah tua

2 = merah muda

3 = merah muda keputihan

Tabel 6. Hasil Pengamatan Kemampuan Kombinasi Ekstrak 3% Menurunkan Skor Parameter pada Kulit Punggung Kelinci yang Diinfeksi *P. acnes*

Titik Induksi	Diameter Eritema		Intensitas Eritema		Skor Total	
	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji
1	2	2	1	2	3	4
2	3	2	1	2	4	4
3	2	3	2	2	4	5
4	1	1	2	3	3	4
5	3	1	2	2	5	3
6	3	1	2	2	5	3
7	2	1	1	2	3	3
8	2	2	2	1	4	3
9	1	2	2	1	3	3
Rata-rata	2,11±0,78	1,67±0,71	1,67±0,5	1,89±0,6	3,78±0,83	3,56±0,73
p	0,23		0,41		0,52	

Keterangan:

Penurunan diameter eritema:

0 = tidak turun

1 = turun 0,15 – 0,55 cm

2 = turun 0,56 – 0,95 cm

3 = turun > 0,96 cm

Penurunan intensitas eritema:

0 = tidak turun

1 = merah tua

2 = merah muda

3 = merah muda keputihan

Tabel 7. Hasil Pengamatan Kemampuan Salep Tetrasiklin HCl 3% dalam Menurunkan Skor Parameter pada Kulit Punggung Kelinci yang Diinfeksi *S. aureus*

Titik Induksi	Diameter Luka		Nanah		Intensitas Eritema		Skor Total	
	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji
1	1	1	1	1	1	2	3	4
2	1	2	1	1	1	2	3	5
3	1	1	1	2	1	2	3	5
4	1	1	2	2	1	2	4	5
5	3	3	1	2	2	3	6	8
6	2	3	2	2	2	3	6	8
Rata-rata	1,5±0,84	1,83±0,98	1,33±0,52	1,67±0,52	1,33±0,52	2,33±0,52	4,2±1,47	5,83±1,72
P	0,16		0,16		0,01		0,02	

Keterangan:

Penurunan diameter luka:

0 = tidak turun

1 = turun 0,20 – 1,20 cm

2 = turun 1,21 – 2,2 cm

3 = turun >2,3 cm

Penurunan luas nanah:

0 = tidak turun

1 = nanah turun <50% diameter luka

2 = nanah turun >50% diameter luka

3 = nanah turun seluas luka

Penurunan intensitas eritema:

0 = tidak turun

1 = merah tua

2 = merah muda

3 = merah muda keputihan

Kelompok kelinci yang diinfeksi bakteri *S. aureus* dan diobati dengan salep tetrasiklin 3%, daerah uji menunjukkan kesembuhan luka dalam waktu 15 hari sedangkan bagian kontrol sembuh dalam waktu 17 hari. Skor total yang diperoleh dari ketiga parameter yang meliputi diameter luka, luas nanah, dan intensitas eritema, daerah uji menunjukkan perbedaan yang bermakna dalam total penurunan parameter uji dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$) walaupun

pada parameter penurunan diameter luka dan luas nanah bagian uji tidak berbeda secara bermakna terhadap kontrol ($p > 0,05$). Kecepatan penyembuhan kulit punggung kelinci yang diinfeksi oleh *S. aureus*, pada kelompok kelinci yang diobati dengan kombinasi ekstrak perikarp manggis dan kelopak bunga rosella 3%, waktu penyembuhan lebih lama sekitar (17 ± 2 hari) 2 hari dibandingkan dengan kelompok kelinci yang diobati dengan salep

tetrasiklin 3 % yaitu 15 hari. Dilihat dari selisih hari kesembuhan antara infeksi yang diobati dengan salep tetrasiklin dan ekstrak kombinasi, perbedaan hari tidak terlalu jauh sehingga kombinasi ekstrak masih efektif dan berpotensi untuk dijadikan obat alternatif dengan bentuk sediaan topikal untuk mengobati infeksi bakteri pada kulit.

Kesimpulan

Sifat aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol perikarp manggis dan kelopak bunga rosella adalah sinergis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Propionibacterium acnes*.

Pengujian aktivitas antibakteri secara topikal pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi *S. aureus* menunjukkan skor total daerah uji (skor diameter luka, nanah, dan eritema) yang berbeda bermakna terhadap daerah kontrol ($p < 0,05$). Kelompok kelinci yang diinfeksi *S. epidermidis* dan *P. acnes*, tidak menunjukkan perbedaan bermakna pada skor total daerah uji terhadap kontrol ($p > 0,05$). Kecepatan hari penyembuhan infeksi oleh ketiga bakteri tersebut antara daerah uji dengan daerah kontrol, menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Saran

Perlu dilakukan pengujian kombinasi ekstrak dengan jumlah hewan uji yang lebih banyak dan dikembangkan menjadi sediaan topikal.

Daftar Pustaka

Arunrattiyakorn P, Suksamram S, Suwannasai N, Kanzaki H, 2011, Microbial Metabolism of Alpha Mangostin Isolated from *Garcinia mangostana* L, J. Phytochemistry 72: 730-734.

Chaverri JP, Rodriguez NC, Ibara MO, Jazmin M, Rojas P, 2008, Medicinal Properties of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.), J. Food Chem. Toxicol. 4: 3227-3239.

Clinical and Laboratory Standards Intitute, 2009, M07-A08 – Methods Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically Approve Standard, 8th ed., CLSI, Pennsylvania.

Koh J, Qiu S, Zou H, Lakshminarayanan R, Li J, Zhou X, Tang C, Saraswathi P, Verma C, Tan DTH, Tan AL, Liu S, Beuerman RW, 2013, Rapid Bacterial

Action f Alpha-Mangostin Againts MRSA as an Outcome of Membrane Targeting, J. Biochimica et Biophysica Acta 1828: 834-844.

Martini FH, 2012, Fundamental of Anatomy and Physiology 9th ed., Pearson Education, San Fransisco, 145-162.

Putra INK, 2010, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) serta Kandungan Senyawa Aktifnya, J. Teknologi dan Industri Pangan, 21(1).

Suwandi T, 2012, Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga *Hibiscus sabdariffa* L. terhadap *Staphylococcus sanguinis* Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herbal Terstandar, disertasi doktor, Universitas Indonesia, Jakarta.

Zhang Y, Shong Z, Hao J, Qiu S, Xu Z, 2010, Two New Prenylated Xanthenes and a New Prenylated Tetrahydroxyxanthone from the pericarp of *Garcinia mangostana* L., Journal Fitoterapia 81, 595-599.