

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAUN KEDONDONG HUTAN

[Antibacterial Activities and Cytotoxicity of Wild Mango Leaves Extract]

Asnani^{1,2)}, Winiati P. Rahayu^{3,4)*}, Betty Sri Laksmi Jenie^{3,4)}, dan Nancy D. Yuliana^{3,4)}

¹⁾ Program Studi Ilmu Pangan Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Universitas Halu Oleo, Kendari

³⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

⁴⁾ Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology Center, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 13 Juli 2017 / Disetujui 4 Desember 2017

ABSTRACT

Wild mango (*Spondias pinnata*) leaves is a very popular herb in Southeast Sulawesi, has been used as herbal medicine at Southern and Southeastern Asia. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity, cytotoxicity and phytochemical contents of wild mango (*Spondias pinnata*) leaves extracts. The extraction was performed using a combination of maceration with ethanol and ultrasonication. The antibacterial activity assay of the extracts was examined against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, and *Salmonella Typhi*. The cytotoxicity test was performed on Vero cells using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. The extracts were able to inhibit all tested bacteria with inhibition zone ranging from 4.48 to 7.49 mm. *P. aeruginosa* was the most susceptible bacterium, producing inhibition zone of 7.49 mm and a MIC (minimum inhibition concentration) value of 6.25 mg/mL. The extract was not toxic to Vero cells as indicated by IC₅₀ (inhibitory concentration of 50%) values at 347 µg/mL, or more than the toxicity limit of 50 µg/mL. Phytochemical analysis of the extract revealed that it contained steroids, tannins, and saponins. The flavonoids concentration was 23.2±0.33 mg/g and while the phenolic substance was 43.2±0.45 mg/g. The FTIR analysis showed O-H, C-H, X=C=Y, C=O, C=C, and C-O-C as the functional groups in the extracts. This result suggests that the ethanol extract of *S. pinnata* leaves has the potential to be used as natural preservatives in foods.

Keywords: antibacterial activity, flavonoid, phenolic, *Spondias pinnata*, wild mango

ABSTRAK

Daun kedondong hutan (*S. pinnata*) merupakan rempah yang sangat populer di Sulawesi Tenggara, dan telah digunakan sebagai obat herbal di beberapa negara Asia Selatan dan Tenggara. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri, sitotoksitas dan komponen fitokimia ekstrak daun *S. pinnata*. Ekstraksi dilakukan dengan pelarut etanol dengan cara kombinasi maserasi dengan ultrasonikasi. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun *S. pinnata* dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* dan *Salmonella Typhi*. Uji sitotoksitas dilakukan pada sel Vero menggunakan uji 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). Ekstrak mampu menghambat semua jenis bakteri uji dengan kisaran zona hambat 4,48-7,49 mm. *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang paling rentan dengan zona hambat 7,49 mm dan nilai MIC (*minimum inhibition concentration*) 6,25 mg/mL. Ekstrak tidak toksik terhadap sel Vero yang ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ (konsentrasi penghambatan 50%) sebesar 347 µg/mL, atau melebihi batas toksisitas 50 µg/mL. Analisis fitokimia terhadap ekstrak menunjukkan adanya steroid, tanin, dan saponin. Konsentrasi flavonoid adalah sebesar 23,2±0,33 mg/100 g dan konsentrasi fenol adalah sebesar 43,2±0,45 mg/100 g. Hasil analisis FTIR menunjukkan gugus fungsional yang terdapat adalah O-H, C-H, X=C=Y, C=O, C=C, dan C-O-C. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *S. pinnata* berpotensi untuk digunakan sebagai bahan pengawet alami pangan.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, fenolik, flavonoid, kedondong hutan, *Spondias pinnata*

PENDAHULUAN

Kedondong hutan (*Spondias pinnata*) yang juga dikenal sebagai *wild mango* atau *hog-plum* adalah

famili *Anacardiaceae* tersebar di hutan-hutan primer dan sekunder di Indonesia (Suhono *et al.*, 2010). Beberapa nama lokalnya adalah *tawaoloho* dan *gholo* (Sulawesi Tenggara), *dau kaci* (Bugis), *inci* (Bima) dan *kacemcem* (Bali). Di sebagian wilayah Asia Selatan dan Tenggara tumbuhan ini telah

*Penulis Korespondensi: E-mail: wini_a@hotmail.com

digunakan sebagai obat herbal untuk penyakit batuk, disentri, diare, sakit perut, rematik diabetes, dan demam (Bora *et al.*, 2014). Di Indonesia, daun *Spondias pinnata* umumnya dikonsumsi sebagai lalap, dan khusus di Sulawesi Tenggara daun *Spondias pinnata* merupakan rempah yang sangat populer untuk meningkatkan citarasa pangan hewani.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri *S. pinnata* belum banyak dilakukan. Demikian pula halnya dengan penelitian mengenai komposisi fitokimianya. Pada penelitian mengenai aktivitas antibakteri 30 jenis ekstrak tumbuhan obat/bumbu terhadap 20 isolat *Klebsiella* (Sharmeen *et al.*, 2012) dan 20 isolat *E. coli* (Foyisal *et al.*, 2012) yang sensitif dan resisten terhadap antibiotik, ekstrak daun *S. pinnata* merupakan salah satu yang memberikan hambatan terkuat. Pada penelitian lainnya, ekstrak daun *S. pinnata* dilaporkan dapat menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan kisaran 8,33–26,67 mm, dengan nilai MIC terkecil (2 mg/mL) dihasilkan oleh ekstrak etanol terhadap *S. aureus* (Jain *et al.*, 2014). Untuk mengetahui potensi daun *S. pinnata* sebagai bahan pengawet pangan alami, perlu diteliti lebih lanjut aktivitas antibakterinya dengan spektrum bakteri yang lebih luas dan juga sifat toksisitasnya. Uji toksisitas terhadap suatu ekstrak tanaman yang akan dimanfaatkan sebagai pangan perlu dilakukan untuk mengetahui keamanan suatu penggunaan terhadap sistem *in vitro*. Sel Vero sebagai model sel normal untuk pengujian toksisitas sudah banyak digunakan. Talib dan Mahasneh (2010), menguji toksisitas *Rosa damascene* (tanaman obat di Yordania) terhadap sel Vero dan hasilnya ekstrak tersebut memiliki toksisitas yang rendah terhadap sel Vero yaitu IC_{50} 454,11 μ g/mL. Ahmed *et al.* (2014) menguji toksisitas 5 spesies tumbuhan dari famili Anacardiaceae yang biasa digunakan untuk obat antidiare di Afrika Selatan. Hasilnya menunjukkan beberapa tingkat toksisitas (IC_{50}) terhadap sel Vero, *Ozoroa paniculosa* 16,58, *Searsia pendulina* 22,30, *Searsia leptodictya* 25,09, *Searsia pentheri* 50,62 dan *Ozoroa mucronata* 741,91 μ g/mL.

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat herbal maupun sebagai bumbu dipengaruhi oleh jumlah dan jenis komponen kimia yang terkandung di dalamnya. Senyawa bioaktif penting yang terkandung dalam tanaman adalah alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, steroid, resin, asam lemak dan gum, yang memengaruhi aktivitas fisiologi tertentu pada organisme (Dahiya dan Purkayastha, 2012). Di antara tiga puluh jenis tumbuhan yang biasa digunakan sebagai obat herbal di Thailand, daun *S. pinnata* memiliki kandungan fenolik tertinggi yaitu $284,28 \pm 0,02$ mg/g (Daduang *et al.*, 2011). Pada penelitian lain, Jain *et al.* (2014) mendapatkan total fenolik dan flavonoid pada ekstrak daun *S. pinnata* masing-masing berkisar antara $12,43 \pm 0,08$ –

$27,76 \pm 1,11$ mg/g dan $39,11 \pm 1,42$ – $86,53 \pm 1,95$ mg/g ekstrak. Selain komponen fenolik dan flavonoid, *S. pinnata* juga kemungkinan mengandung senyawa fitokimia lain yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakterinya. Pemilihan pelarut merupakan faktor penting pada saat akan mengekstrak senyawa bioaktif. Etanol adalah salah satu pelarut yang banyak ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia. Menurut Cowan (1999) pelarut etanol dapat mengekstrak tanin, polifenol, poliasetilen, flavonol, terpenoid, sterol, dan alkaloid. Aromolaran dan Badejo (2014) menemukan ekstrak etanol daun *Spondias mombin* memberikan nilai MIC yang lebih rendah (10 mg/mL) bila dibandingkan dengan ekstrak air terhadap lima bakteri yang diisolasi dari penderita tipus.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk meneliti lebih lanjut aktivitas antibakteri, sitotoksitas dan komponen fitokimia ekstrak daun *S. pinnata*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang lebih lengkap dari informasi sebelumnya sehingga dapat mendorong pemanfaatan *S. pinnata* sebagai pengawet pangan alami.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz) yang diperoleh dari kebun masyarakat di Kecamatan Poasia Kota Kendari, dan telah diidentifikasi di “Herbarium Bogoriense” Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Listeria monocytogenes* ATCC 13932, serta bakteri Gram negatif meliputi *Klebsiella pneumoniae* ATCC10031, *Morganella morganii* NCTC 10041, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Shigella sonnei* ATCC 9290, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella* Typhi ATCC 14028 yang diperoleh dari SEAFast Centre IPB dan Badan POM RI. Pengujian toksisitas menggunakan sel Vero ATCC CCI 81 dari Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) IPB.

Ekstraksi daun *S. pinnata*

Ekstraksi daun *S. pinnata* mengikuti prosedur yang dilakukan Parhusip *et al.* (2005) dengan modifikasi waktu sonikasi yang lebih lama (dari 15 menit menjadi 45 menit) dan waktu maserasi dengan agitasi yang lebih singkat (dari 24 jam menjadi 2 jam). Daun *S. pinnata* dikeringkan dalam oven pada suhu 40–45°C selama 3–4 hari hingga daun berwarna coklat muda dan rapuh. Daun yang sudah kering selanjutnya ditepungkan menggunakan *disc mill* (Teco, Singapura). Bubuk daun (50 g) ditambahkan pelarut etanol (J.T Baker) (500 mL), dimaserasi

menggunakan *shaker* (Infors AG Rittergase 27 CH-4103 Bottmingen) pada suhu kamar (28–30°C) selama 1 jam, disonikasi (Branson Ultrasonic Cleaner model 8510E MTH, Branson Ultrasonic Corporation, USA) selama 45 menit dan dimaserasi lagi pada suhu kamar selama 1 jam. Filtrasi dilakukan menggunakan kertas Whatman No.1 (Sigma). Residu bubuk daun diekstrak kembali dengan jumlah pelarut sebanyak 300 mL pada tahap kedua dan 200 mL pada tahap ketiga dengan teknik seperti pada tahap pertama. Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* (Butchi Rotavapor R-210, BÜCHII Labortechnik, Switzerland) pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Pelarut yang tersisa kemudian dihilangkan dengan menghembus ekstrak dengan gas nitrogen.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *S. pinnata* (Chinnaiyan *et al.*, 2013; Sadiq *et al.*, 2015)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat menggunakan metode difusi sumur (Chinnaiyan *et al.*, 2013). Sebanyak 100 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 mL *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO, Merck-Germany). Bakteri uji disegarkan dalam media *Mueller Hinton Broth* (MHB) (Oxoid) hingga populasi bakteri mencapai 10^6 - 10^7 CFU/mL. Ke dalam 25 mL *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Oxoid) diinokulasi 25 μ L kultur segar, dituang pada cawan petri dan dibiarkan mengeras. Pada agar dibuat sumur dengan diameter 6 mm. Ke dalam sumur tersebut dimasukkan 60 μ L ekstrak dan dibiarkan 2 jam pada suhu 28-30°C. Kontrol negatif dan positif adalah masing-masing DMSO dan kloramfenikol (1 mg/mL; Sigma). Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–20 jam. Setiap percobaan dilakukan tiga kali ulangan secara duplo. Zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong digital (Nankai, Japan), dan dinyatakan sebagai diameter zona hambat (mm) setelah dikurangi diameter sumur (6 mm).

Nilai MIC ditentukan mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Sadiq *et al.* (2015) dengan modifikasi pada preparasi, yaitu menambahkan ultrasonikasi dan mengganti filtrasi dengan setrifugasi untuk memisahkan partikel yang tidak larut. Sebanyak 100 mg ekstrak ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 1 mL DMSO 10%. Larutan tersebut diultrasonikasi (frekuensi 40 kHz, suhu 28-30°C) selama 10 menit, dan disentrifugasi (Hermle Z 383 K, Germany) pada 10.000 rpm selama 10 menit, kemudian diambil supernatannya. Pengenceran serial dua-kali dari ekstrak dibuat menggunakan MHB steril, sehingga diperoleh konsentrasi 50, 25, 12,5; 6,25; 3,12; dan 1,56 mg/mL. Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol dengan konsentrasi 0,78–50 μ g/mL dan 78,1-500 μ g/mL khusus untuk *P. aeruginosa*. Ke dalam masing-masing tabung tersebut (yang berisi

990 μ L ekstrak) diinokulasi 10 μ L kultur bakteri segar sehingga diperkirakan populasi bakteri sebanyak 10^5 - 10^6 CFU/mL. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi ekstrak terendah yang secara visual tidak menunjukkan pertumbuhan selama 24 jam inkubasi ditetapkan sebagai MIC. Penentuan ini dilakukan dengan dua kali ulangan secara duplo.

Pengujian sitotoksitas ekstrak etanol daun *S. pinnata* (Vijayarathna dan Sasidharan, 2012)

Pengujian sitotoksitas dilakukan menggunakan uji 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Sigma-Aldrich). Sebanyak 100 μ L media tumbuh *Dulbecco's Modified Medium Eagle* (D-MEM) (Sigma-Aldrich) disuplementasi dengan *fetal bovine serum* 10%, penisilin 100 U/mL dan streptomisin 100 μ g/mL ke dalam 96 *well plate* (plat sumur, Sigma-Aldrich). Di dalam masing-masing sumur dimasukkan sebanyak 5×10^3 sel Vero ATCC CCI 81. Plat diinkubasi dengan 5% CO₂ pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, media tumbuh pada plat dibuang dan diganti dengan media tumbuh yang mengandung ekstrak *S. pinnata* pada konsentrasi 800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; dan 6,25 mg/L dan diinkubasi kembali sampai 48 jam. Sebagai kontrol digunakan sel Vero tanpa penggunaan ekstrak. Setelah inkubasi media tumbuh dibuang dan sel pada sumur dicuci menggunakan PBS (Gibco). Pada setiap sumur ditambahkan 10 μ L larutan MTT 5 mg/mL, diinkubasi (5% CO₂, suhu 37°C) selama 4 jam. Sel hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk formazan (berwarna ungu). Selanjutnya MTT dibuang, ditambahkan 100 μ L etanol 96% untuk melarutkan formazan. Plat dibaca absorbansinya menggunakan *microplate reader* (Biorad, Richmond, CA, USA) pada panjang gelombang 595 nm. Persentase sel hidup dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Viabilitas} = (A_2 - A_1) / A_2 \times 100$$

di mana, A_1 adalah absorbansi dengan perlakuan ekstrak sedangkan A_2 adalah absorbansi kontrol. Pengujian dilakukan dengan tiga kali ulangan. Korelasi antara konsentrasi ekstrak dan persen viabilitas sel digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration* 50). Konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan sel Vero hingga 50% (IC₅₀), merupakan potensi toksisitas dari ekstrak daun *S. pinnata*.

Penentuan komponen fitokimia ekstrak etanol daun *S. pinnata*

Penentuan komponen fitokimia bubuk dan ekstrak etanol daun *S. pinnata* dilakukan secara kualitatif dengan uji alkaloid, steroida, triterpenoid, flavonoid dan hidrokuinon (Roopalatha dan Nair,

2013), serta tanin dan saponin (Jeyaseelan dan Jashothan, 2012). Selain itu, dilakukan penentuan total fenol dan flavonoid menggunakan teknik spektrofotometri terhadap ekstrak (Jain *et al.*, 2014). Analisis gugus fungsional komponen fitokimia yang mungkin terdapat pada ekstrak juga dilakukan dengan menggunakan FTIR (Juliani *et al.*, 2016). Sebanyak 5 mg sampel dicampurkan dengan 200 mg KBr. Campuran tersebut kemudian dibuat menjadi pelet menggunakan peralatan kempa manual. Pelet tersebut ditempatkan pada tempat sampel untuk direkam spektrum FTIR-nya di daerah infra-merah 4000–400 cm^{-1} dengan resolusi 4 cm^{-1} dan jumlah cuplikan 32. Spektra yang diperoleh kemudian diproses dengan piranti lunak OPUS versi 4.2. Perlakuan pendahuluan berupa pemrosesan sinyal dilakukan pada area puncak spektra FTIR ekstrak dan fraksi yang diperoleh dari hasil pengukuran yang diskalakan terhadap puncak total dan dikurangi menjadi daerah terintegrasi dengan lebar sama (bilangan gelombang 2 cm^{-1}) menggunakan piranti lunak XLSTAT versi 2012.

Analisis data

Data diameter zona hambat dan persen viabilitas sel Vero diolah dengan analisis sidik ragam 1 jalur (*one way analysis of variance*) menggunakan Program Statistik SAS versi 9.1. Bila ada perbedaan diantara perlakuan selanjutnya dilakukan uji *Duncan multiple range test* (DMRT) dengan taraf uji $\alpha = 5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *S. pinnata*

Hasil pengamatan zona hambat bakteri (Tabel 1) menunjukkan ekstrak etanol daun *S. pinnata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji. Zona penghambatan yang diperoleh berkisar 4,48–7,49 mm (konsentrasi ekstrak 6 mg/sumur). Bakteri yang paling rentan adalah *P. aeruginosa* (zona hambat 7,49 \pm 0,23 mm) dan yang paling tahan adalah *L. monocytogenes* (zona hambat 4,48 \pm 0,28

mm). Zona hambat terhadap berbagai bakteri yang dihasilkan dari penelitian ini menunjukkan nilai yang lebih kecil dari hasil penelitian Jain *et al.* (2014). Pemberian ekstrak etanol (1 mg/cakram) menghasilkan zona hambat dengan kisaran 18,67 \pm 1,15 sampai 24,67 \pm 1,53 mm (12,67–18,67 mm, bila dikurangi 6 mm) terhadap *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *S. Typhi*. Hasil pengamatan lebih lanjut terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun *S. pinnata* yang dilakukan dengan menghitung nilai MIC juga dapat dilihat pada Tabel 1. Nilai MIC yang didapat berkisar antara 6,25–12,50 mg/mL. Berdasarkan nilai MIC, bakteri yang paling rentan terhadap aktivitas ekstrak daun *S. pinnata* adalah *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *M. morgani* dan *P. aeruginosa*. Nilai MIC yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dari pada yang ditemukan Jain *et al.* (2014) dimana *S. aureus* ditemukan mempunyai nilai MIC terendah pada ekstrak etanol sebesar 2,0 mg/mL. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan metode pengeringan dan metoda ekstraksi yang dilakukan. Jain *et al.* (2014) menggunakan pengeringan udara pada suhu ruang dan teknik ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan *shaker* selama 5 hari.

Suhu pengeringan dan teknik ekstraksi akan memengaruhi jumlah komponen dalam ekstrak serta akan memengaruhi aktivitas antibakterinya. Daun *Moringa oleifera* dengan suhu pengeringan 50°C memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah (zona hambatnya 15, 16 dan 15 mm) bila dibandingkan dengan pengeringan udara (zona hambatnya 19, 18, 17 mm) masing-masing terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *S. Typhi* (Hussein *et al.*, 2015). Diduga penggunaan suhu 40°C pada pengeringan daun *S. pinnata* menyebabkan turunnya senyawa aktif pada ekstrak. Zubair *et al.* (2011) memperoleh kandungan polifenol (plantamajosid) pada daun *Plantago major* L. menurun dengan meningkatnya suhu pengeringan yaitu 14,46; 13,48; 12,08; dan 8,56 mg/g berturut-turut pada pengeringan *freeze drying* serta suhu 30, 40 dan 50°C.

Tabel 1. Zona hambat ekstrak etanol daun *S. pinnata*

Jenis Bakteri	Ekstrak Etanol		Kloramfenikol	
	Zona Hambat (mm)	MIC (mg/mL)	Zona Hambat (mm)	MIC ($\mu\text{g/mL}$)
Gram positif:				
<i>S. aureus</i>	7,27 \pm 0,12 ^a	6,25	26,87 \pm 0,35	12,5
<i>L. monocytogenes</i>	4,48 \pm 0,28 ^b	12,50	28,06 \pm 0,42	12,5
Gram negatif:				
<i>K. pneumoniae</i>	6,12 \pm 0,82 ^a	6,25	33,80 \pm 1,24	6,25
<i>M. morgani</i>	6,64 \pm 0,49 ^a	6,25	31,26 \pm 1,44	12,5
<i>P. aeruginosa</i>	7,49 \pm 0,23 ^a	6,25	26,55 \pm 0,63	125,0
<i>S. sonnei</i>	6,51 \pm 0,67 ^a	12,50	34,73 \pm 0,15	6,25
<i>E. coli</i>	6,44 \pm 0,49 ^a	12,50	32,11 \pm 1,00	6,25
<i>S. Typhi</i>	6,72 \pm 0,18 ^a	12,50	30,25 \pm 0,15	12,5

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Pada proses ekstraksi bubuk daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) oleh Yulianingtyas dan Kusmartono (2016) memperoleh waktu maserasi 18–17 jam memberikan kandungan flavonoid yang lebih tinggi (56,10-72,31 mg/g) bila dibandingkan dengan 6 jam (33,58 mg/g). Aktivitas antibakteri ekstrak tumbuhan bergantung dari dosis dan jenis strain bakteri (Al-Matani *et al.*, 2015). Ekstrak etanol daun *S. mombin* pada konsentrasi 400, 200 dan 100 mg/mL (24, 12, dan 6 mg/sumur) menghasilkan diameter zona hambat masing-masing 12, 9, dan 6 mm terhadap *Streptococcus mutans*, sedangkan pada konsentrasi 25 mg/mL, atau setara dengan 1,5 mg/sumur, tidak menunjukkan penghambatan (Amadi *et al.*, 2007). Manik *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak air kulit buah *S. pinnata* memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda pada strain bakteri yang berbeda. Pada dosis 800 µg/cakram (0,8 mg/cakram), ekstrak air kulit buah *S. pinnata* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 7, 12, dan 16 mm (tanpa pengurangan 6 mm) masing-masing terhadap *Shigella boydii*, *Shigella dysentery* dan *P. aeruginosa* namun tidak mampu menghambat beberapa jenis bakteri lain termasuk *S. Typhi*, *S. aureus* dan *E. coli*. Aktivitas antibakteri ekstrak air dari buah *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) yang ditemukan oleh Nasar-Abbas dan Halkman (2004) yaitu terhadap bakteri Gram positif, *S. aureus* lebih sensitif (MIC 0,49%) namun kurang sensitif terhadap *L. monocytogene* (MIC 0,67%), dan terhadap bakteri Gram negatif seperti *Salmonella* Enteritidis dan *E. coli* ditemukan lebih resisten dengan nilai MIC masing-masing 0,67 dan 0,63%.

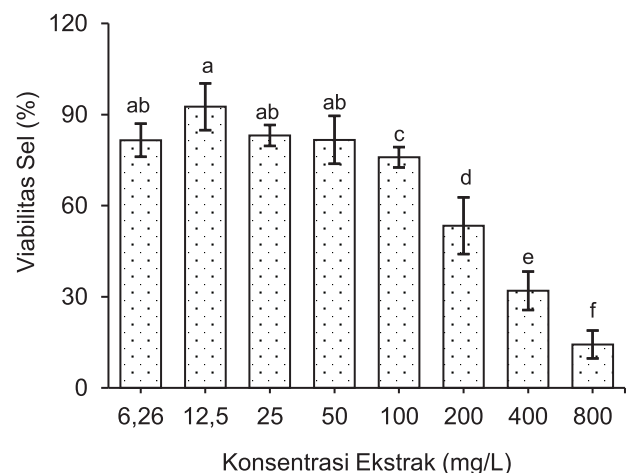
Faktor penyebab lain adalah karena perbedaan kandungan komponen bahan aktif yang antara lain disebabkan oleh wilayah tumbuh yang berbeda. Arora *et al.* (2016) menemukan ekstrak metanol daun *Azadirachta indica* (tanaman perdu) dari tiga daerah yang berbeda di India (Hisar, Ambala dan Mullana) memiliki kandungan flavonoid (berturut-turut 529,5; 500 dan 470 mg/100 g) serta aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* (berturut-turut 12, 9, dan 9 mm) yang berbeda. Demikian pula, Muraina *et al.* (2008) menemukan aktivitas antibakteri (nilai MIC) ekstrak aseton daun *Anoigeissus leiocarpus* (obat herbal dari Nigeria) dari wilayah yang lebih dingin (*S. aureus* 0,08 mg/mL dan *Mycoplasma mycoides* 0,16 mg/mL) lebih tinggi bila dibandingkan dari wilayah yang lebih panas (*S. aureus* 0,16 mg/mL dan *Mycoplasma mycoides* 0,31 mg/mL). Aktivitas antibakteri ekstrak tumbuhan juga bergantung pada komponen kimia yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan (Al-Matani *et al.*, 2015). Senyawa fenolik yang berbeda menunjukkan diameter zona hambat yang bervariasi seperti terlihat pada hasil penelitian Rua *et al.* (2010) dimana hidrokuinon, timol, asam galat dan asam elagat memiliki diameter zona hambat sebesar masing-masing 27,5; 9,5; 13,3; dan

14,0 mm (tanpa pengurangan 6 mm) terhadap *S. aureus*. Hal ini akan dijelaskan lebih lanjut dibagian berikutnya mengenai komposisi fitokimia *S. pinnata*.

P. aeruginosa tergolong bakteri yang paling rentan terhadap ekstrak etanol daun *S. pinnata*. Abo *et al.* (1999) menemukan ekstrak metanol daun *S. mombin* menghasilkan diameter zona hambat terbesar terhadap *P. aeruginosa* (24 mm) bila dibandingkan dengan *S. aureus* (15 mm), *E. coli* (12 mm) dan *K. pneumoniae* (18 mm). Ekstrak metanol daun *Spondias dulcis* juga memberikan diameter zona hambat terbesar terhadap *P. aeruginosa* (12 mm) bila dibandingkan dengan *S. aureus* (6 mm), *E. coli* (6 mm) dan *S. Typhi* (10 mm) (Islam *et al.*, 2013). Demikian pula Muhammad *et al.* (2011), mendapatkan ekstrak etanol buah *S. pinnata* sangat menghambat *P. aeruginosa* (zona hambatnya $21 \pm 1,00$ mm) bila dibandingkan terhadap *S. aureus*, *S. sonnei*, dan *S. Typhi* (berturut-turut zona hambat: $12 \pm 0,62$; $10 \pm 1,35$; dan $12 \pm 0,58$ mm).

Daya sitotoksitas ekstrak etanol daun *S. pinnata*

Hasil uji toksisitas terhadap sel Vero menunjukkan adanya penurunan persentasi viabilitas sel Vero dengan meningkatnya konsentrasi pemaparan ekstrak etanol daun *S. pinnata* (Gambar 1).



Keterangan: Notasi huruf pada diagram menunjukkan perbedaan nyata pada $P < 0,05$

Gambar 1. Viabilitas sel Vero setelah pemaparan ekstrak etanol daun *S. pinnata*

Kategori toksisitas berdasarkan nilai IC_{50} yaitu: IC_{50} lebih kecil dari 20 µg/mL adalah toksik, IC_{50} 15-50 µg/mL adalah toksisitas sedang dan IC_{50} lebih besar 50 µg/mL adalah tidak toksik (Zirih *et al.*, 2005). Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun *S. pinnata* yang diperoleh pada penelitian ini adalah sebesar 347 µg/mL yang menunjukkan bahwa ekstrak daun ini bersifat tidak toksik. Beberapa studi *in vivo* mengenai toksisitas ekstrak daun *S. pinnata* telah dilapor-

kan. Kamal *et al.* (2015) menemukan tidak ada indikasi toksisitas akut pemberian oral ekstrak etanol dan metanol daun *S. pinnata* pada dosis 500 dan 1000 mg/kg berat badan tikus albino Swiss. Pada studi lainnya, pemberian ekstrak etanol 80% daun *S. pinnata* selama 31 hari dengan dosis 0,2-2 g/kg kg berat badan tidak memberikan pengaruh terhadap volume organ ginjal mencit (Ariantari *et al.*, 2015). Data ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *S. pinnata* relatif aman jika akan dikembangkan lebih lanjut menjadi pengawet alami untuk bahan pangan

Komponen fitokimia ekstrak etanol daun *S. pinnata*

Hasil analisis kualitatif fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *S. pinnata* memiliki kandungan steroid, flavonoid, tanin, dan saponin (Tabel 2). Hasil ini berbeda bila dibandingkan dengan skrining fitokimia oleh Jain *et al.* (2014) yang juga menggunakan ekstrak etanol daun *S. pinnata*. Pada penelitian Jain *et al.* (2014), selain flavonoid, tanin, dan saponin, juga ditemukan adanya alkaloid, dan terpenoid yang tidak ditemukan pada penelitian ini. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, Jain *et al.* (2014) menggunakan metoda pengeringan dengan udara yang suhunya lebih rendah dibandingkan suhu oven yang digunakan untuk mengeringkan sampel pada penelitian ini.

Tabel 2. Jenis itokimia bubuk dan ekstrak daun *S. pinnata*

Jenis Fitokimia	Bubuk Daun	Ekstrak Etanol
Alkaloid	-	-
Steroid	+++	+++
Flavonoid	+	++
Tanin	++	++
Saponin	+	+
Triterpenoid	-	-
Hidroquinon	-	-
Total fenol (mg/g) ¹⁾	td	43,2±0,45
Total flavonoid (mg/g) ²⁾	td	23,2±0,33

Keterangan: ¹⁾ = mg setara asam galat/g; ²⁾ = mg setara quersetin/g; +++ = banyak; ++ = sedang; + = sedikit; - = tidak ditemukan; td = tidak diukur

Rivai *et al.* (2010) mendapatkan kadar fenol daun dewa dengan pengeringan angin (25°C, 4,01 mg/g) lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan pada suhu 40°C (2,91 mg/g) dan 60°C (1,62 mg/g). Irondi *et al.* (2013) mendapatkan komposisi total fenol, tanin, dan total flavonoid menurun dengan pengeringan biji *Carica papaya* pada suhu 50°C bila dibandingkan dengan pengeringan pada suhu kamar, namun sebaliknya komposisi saponin dan alkaloid menjadi lebih tinggi. Selain itu, Jain *et al.* (2014) menggunakan teknik maserasi dengan waktu yang cukup lama sehingga jenis komponen fitokimia

yang terekstrak lebih beragam. Pada penelitian ini, maserasi dengan bantuan *shaker* hanya dilakukan selama 2 jam karena dikombinasikan dengan sonikasi selama 45 menit. Menurut Safdar *et al.* (2016), ekstraksi dengan teknik ultrasonikasi menghasilkan polifenol yang relatif lebih tinggi bila dibandingkan dengan teknik maserasi. Pada penelitian tersebut polifenol tertinggi dan terendah yaitu 67,58 dan 18,66 mg/g masing-masing diperoleh pada teknik ultrasonikasi dan maserasi. Namun nampaknya teknik maserasi seperti yang dilakukan oleh Jain *et al.* (2014) lebih mampu mengekstrak lebih beragam komponen fitokimia. Hal yang sama dapat dilihat pada hasil analisis kuantitatif. Analisis fitokimia secara kuantitatif memberikan hasil yang juga berbeda dengan hasil yang diperoleh Jain *et al.* (2014), yaitu total fenol (12,43±0,08–27,76±1,11 mg/g) yang lebih rendah dari total flavonoid (39,11±1,42–86,53±1,95 mg/g). Pada penelitian ini diperoleh kandungan total fenol dan total flavonoid berturut-turut 43,2±0,45 dan 23,2±0,33 mg/g ekstrak (Tabel 2). Perbedaan dalam jenis dan jumlah senyawa fitokimia ini dapat menjelaskan mengapa aktivitas antibakteri yang didapat pada penelitian ini lebih rendah bila dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Jain *et al.* (2014). Selain itu, menurut Figueiredo *et al.* (2008), faktor-faktor yang memengaruhi produksi dan komposisi metabolit sekunder pada tumbuhan antara lain: variasi fisiologi, kondisi lingkungan, variasi geografi, penyimpanan, jumlah material tumbuhan, serta faktor genetik. Sebagai contoh, penelitian lain melaporkan bahwa daun *S. tuberosa* Arruda yang dikultivasi di Pernambuco Brazil mengandung total fenol dan flavonoid sebesar 100,07±0,02 dan 15,74±0,04 (mg/g) (Uchôa *et al.*, 2015).

Kemampuan fenol, flavonoid, steroid dan saponin sebagai antibakteri telah dilaporkan. Corthout *et al.* (1994) telah mengisolasi komponen fenolik (Asam 6-alkenil-salisilat) dari daun dan batang tumbuhan *S. pinnata* dengan kemampuan bakterisidal sebesar 3–25 µg/mL terhadap *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* dan *Mycobacterium fortuitum*. Lanneaflavonol (flavonoid) yang diisolasi dari daun *Lannea alata* (Engl.) Engl. (Anacardiaceae) oleh Okoth *et al.* (2013) mampu menghambat *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dengan diameter zona hambat yang sama (9 mm). Jenis komponen steroid dan saponin yang bersifat antibakteri yang diisolasi dari tumbuhan *S. pinnata* (atau yang sekerabat) belum ditemukan. Huq *et al.* (1999) telah mengisolasi komponen steroid dari akar *Nerium oleander* (tanaman perdu) yang bersifat antibakteri terhadap *E. coli* dan *P. aeruginosa* dengan zona hambat masing-masing 8,2 dan 8,1 mm. Avato *et al.* (2006) menentukan nilai MIC dari komponen saponin pada tumbuhan *Medicago arborea* yang terdiri dari saponin kasar, prosapogenin, dan campuran sapogenin,

serta sapogenin murni (Hederagenin) masing-masing dengan konsentrasi >500, >500, dan 42,5 dan 250 µg/mL terhadap *B. cereus*.

Analisis fitokimia yang lebih komprehensif dilakukan dengan menggunakan FTIR. Spektra hasil analisis komponen fitokimia ekstrak etanol daun *S. pinnata* menggunakan FTIR dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 3. Puncak-puncak yang diamati pada spektrum FTIR merupakan serapan dari berbagai gugus fungsi yang berkoresponden dengan keberadaan berbagai komponen kimia seperti karbohidrat, protein, dan beragam metabolit sekunder (Wei *et al.*, 2009). Pada ekstrak etanol daun *S. pinnata* ditemukan beberapa gugus fungsi: O-H, C-H, X=C=Y, C=O, C=C, dan C-O-C. Sedikit berbeda dengan gugus fungsi yang ditemukan pada buah *Spondias cytherea* Sonn matang yaitu O-H, C-H, SH, C=O, C=C, NH₄⁺, dan C-O (Ishak *et al.*, 2005). Spektrum FTIR *S. pinnata* mengindikasikan keberadaan berbagai jenis senyawa diantaranya senyawa alkohol, senyawa fenol yang kemungkinan berupa flavonoid dan tannin, steroid, asam karboksilat, dan senyawa-senyawa dengan gugus aromatik.

Tandon dan Rastogi (1976) mengisolasi senyawa 24-metilen sikloartenol pada tumbuhan *S. pinnata* dengan serapan IR pada 1720 (C=O), 1005 (cyclopropane), 1635 dan 884 (C=CH₂) cm⁻¹. Pada spektra ekstrak etanol daun *S. pinnata*, keberadaan senyawa tersebut kemungkinan ditunjukkan oleh serapan pada 1736,88–1793,52 cm⁻¹ yang menunjukkan keberadaan gugus fungsi C=O pada struktur siklik 6 karbon, serapan pada 1633,19 cm⁻¹ yang menunjukkan keberadaan gugus C=C pada steroid. Selain itu, telah diisolasi juga senyawa asam lignoserat dengan serapan IR pada 2900, 2850, 1700, 1450, 1390, 1300, dan 720 cm⁻¹ oleh Tandon dan Rastogi (1976). Kemungkinan keberadaan senyawa ini pada ekstrak etanol daun *S. pinnata* terlihat serapan pada 1736,88 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus C=O, serapan pada 2920,57 dan 2851,31 adalah gugus CH₂ dan CH₃, serta serapan pada 1736,88; 1446,46; 1377,55; 1347,34; dan 602,77–847,19 cm⁻¹ merupakan gugus fungsi CH.

Chaudhuri *et al.* (2015) mengisolasi senyawa asam galat dan metil galat dari kulit pohon *S. pinnata* yang masing-masing menunjukkan serapan pada IR berturut-turut: 3402, 1693, 1617 dan 3435, 1698, 1618, 1374 cm⁻¹. Pada penelitian ini keberadaan senyawa tersebut pada spektrum FTIR ke-

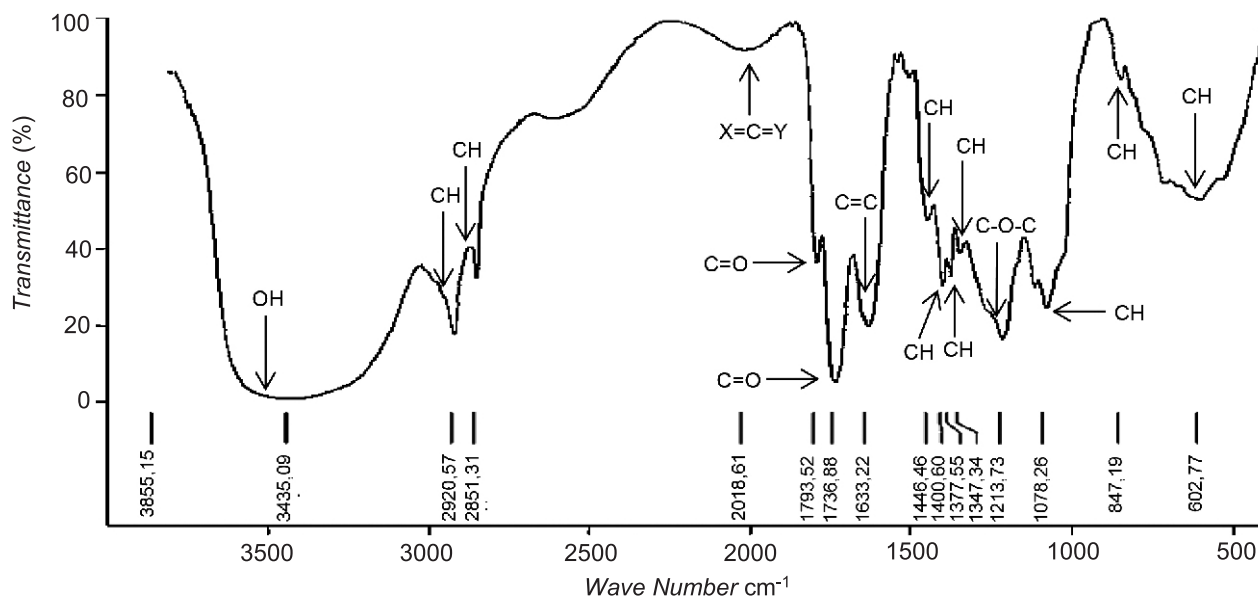
mungkinan berada pada serapan 3435,09 cm⁻¹ yang menunjukkan gugus fungsi OH yang terikat pada cincin fenol, demikian pula dengan serapan pada 1633,19 cm⁻¹ yang menunjukkan keberadaan gugus alkena pada gugus fenol, serapan pada 1693 dan 1698 cm⁻¹ yang menunjukkan keberadaan gugus fungsi keton dari senyawa-senyawa turunan fenol, sedangkan serapan pada kisaran 1213,73–14446,46 menunjukkan keberadaan gugus fungsi eter dan gugus C-H senyawa fenol. Arif *et al.* (2016) telah mengisolasi senyawa propanetrikarboksilat diglukosida pada buah *S. mangifera* (*S. pinnata*) dengan serapan IR pada 3426, 2925, 1752, 1628, 1485, 1086, 772 cm⁻¹. Pada spektra ekstrak etanol daun *S. pinnata*, keberadaan senyawa tersebut kemungkinan ditunjukkan dengan serapan IR pada 3435,09 cm⁻¹ yang menunjukkan keberadaan gugus fungsi O-H dari struktur polimernya, serapan pada 2920,57 cm⁻¹ merupakan gugus C-H yang banyak pada senyawa tersebut. Pita serapan gugus karbonil terjadi pada 1736,88 cm⁻¹ untuk ester (pada struktur glikosida) dan 1633,22 cm⁻¹ pada struktur asam karboksilat, serapan 1446,46 cm⁻¹ (gugus C-O) yang menunjukkan adanya kelompok piranosil dalam senyawa, dan serapan pada 1078,26 cm⁻¹ menunjukkan adanya ikatan glikosidik serta serapan 847,19 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C-H rantai alifatiknya. Perbedaan daerah serapan dapat disebabkan karena analisis FTIR pada penelitian ini dilakukan menggunakan ekstrak etanol, sedangkan kedua studi terdahulu di atas menggunakan senyawa yang telah mengalami tahap pemurnian.

Aktivitas antibakteri dari komponen yang terdapat dalam ekstrak etanol daun *S. pinnata* (24-metilen sikloartenol, asam galat, metil galat dan serta propanetrikarboksilat diglukosida) telah dilaporkan. Sikloartenol dan 24-metilen sikloartenol dari ekstrak etanol propolis dapat menghambat *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *Shigella* spp (Silva *et al.*, 2008). Asam galat dan metil galat dari daun *Schinus lentiscifolius* (famili Anacardiaceae) bersifat antibakteri terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. sonnei* (Gehrke *et al.*, 2013). Asam 2 hidroksi-1,2,3-Propanetrikarboksilat merupakan turunan dari propanetrikarboksilat diglukosida, mampu menghambat beberapa spesies dari *Shigella* (In *et al.*, 2013).

Tabel 3. Gugus fungsi komponen yang terdapat pada ekstrak etanol daun *S. pinnata*

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi ¹
3435,09	O-H: Alkohol, fenol atau asam karboksilat
2851,31–2920,57	C-H: C-alkana, alkena, alkuna, aldehida, aromatik
2018,61	X=C=Y: Allene, ketenes, isosianat, isotiosianat
1736,88–1793,52	C=O: Karbonil dari ester atau keton, kemungkinan dari tannin atau flavonoid
1633,19	C=C: komponen aromatic atau alkena, mungkin dari steroid
1400,60–1446,46	C-H: alkana, alkena, alkuna, aldehida, aromatik
1213,73	C-O-C: eter, anhidrida, flavonoid, tannin
602,77–847,19	C-H: aromatik, daerah sidik jari (<i>fingerprint region</i>)

Keterangan: ¹ Interpretasi gugus fungsi berdasarkan Pavia *et al.* (2001)

Gambar 2. Spektrum FTIR ekstrak etanol daun *S. pinnata*

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun *S. pinnata* mampu menghambat 8 jenis bakteri patogen dan perusak pangan, baik Gram positif maupun Gram negatif dengan kisaran nilai MIC 6,25–12,50 mg/mL. *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang paling rentan terhadap ekstrak dengan zona hambat dan nilai MIC masing-masing 7,49±0,23 mm dan 6,25 mg/mL. Berdasarkan uji toksisitas terhadap sel Vero, ekstrak ini tergolong tidak toksik (IC₅₀ >50 µg/mL). Analisis fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *S. pinnata* mengandung steroid, flavonoid, tanin, dan saponin, dengan total fenol dan flavonoid masing-masing sebesar 43,2±0,45 dan 23,2±0,33 mg/g. Berdasarkan nilai MIC, maka ekstrak etanol daun *S. pinnata* dapat dikembangkan menjadi pengawet alami terhadap pangan yang rentan terkontaminasi *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *M. morgani* dan *P. aeruginosa*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo KA, Ogunleye VO, Ashidi JS. 1999. Antimicrobial potential of *Spondias mombin*, *croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*. *Phytother Res* 13: 494–497.
- Ahmed AS, McGaw LJ, Moodley N, Naidoo V, Eloff JN. 2014. Cytotoxic, antimicrobial, antioxidant, antilipoxygenase activities and phenolic composition of *Ozoroa* and *Searsia* species (Anacardiaceae) used in South African traditional medicine for treating diarrhoea. *S Afr J Bot* 95: 9–18. DOI: 10.1016/j.sajb.2014.07.013.
- Al-Matani SK, Al-Wahaibi RNS, Hossain MA. 2015. Total flavonoids content and antimicrobial activity of crude extract from leaves of *Ficus sycamoros* native to Sultanate of Oman. *Karbala Int J Modern Sci* 1: 166-171. DOI: 10.1016/j.kijoms.2015.11.007.

- Amadi ES, Oyeka A, Onyeagba RA, Okoli I, Ugbogu OC. 2007. Studi on the antimicrobial effect of *Spondias mombin* and *Baphia nittida* on dental caries organism. Pak J Biol Sci 10: 393-397. DOI: 10.3923/pjbs.2007.393.397.
- Ariantari NP, Kardena IM, Dewi IAMK, Agastia IPA, Adiluhur IMP, Mahadewi SA. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 80% daun *Spondias pinnata* terhadap volume organ ginjal mencit betina. J Farmasi Udayana 4: 17-19.
- Arif M, Fareed S, Rahman MA. 2016. Stress relaxant and antioxidant activities of acid glycoside from *Spondias mangifera* fruit against physically and chemically challenged albino mice. J Pharm Bioallied Sci 8: 58-63. DOI: 10.4103/0975-7406.171685.
- Aromolaran O, Badejo OK. 2014. Efficacy of fresh leaf extracts of *Spondias mombin* against some clinical bacterial isolates from typhoid patients. Asian Pac J Trop Dis 4: 442-446. DOI: 10.1016/S2222-1808(14)60603-4.
- Arora B, Chaudhry N, Mittal R. 2016. Effects of varying environment on production of biologically active compounds in neem. Bio-chemia acta 1: 106-113.
- Avato P, Bucci R, Tava A, Vitali C, Rosato A, Bialy Z, Jurzysta M. 2006. Antimicrobial activity of saponins from *Medicago* sp.: structure-activity relationship. Phytother Res 20: 454-457. DOI: 10.1002/ptr.1876.
- Bora NS, Kakoti BB, Gogoi B, Goswami AK. 2014. Ethno-medicinal claims, phytochemistry and pharmacology of *Spondias pinnata* - a review. Int J Pharmaceu Sci Res 5: 1138-1145. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.5(4).1138-45.
- Chaudhuri D, Ghate NB, Singh SS, Mandal N. 2015. Methyl gallate isolated from *Spondias pinnata* exhibits anticancer activity against human glioblastoma by induction of apoptosis and sustained extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation. Pharmacognosy Magazine 11: 269-276. DOI: 10.4103/0973-1296.153078.
- Chinnaiyan SK, Subramanian MR, Kumar SV, Chandu AN, Deivasigamani K. 2013. Antimicrobial and anti-HIV activity of extracts of *Canthium coromandelicum* (Burm.f.) Alston leaves. J Pharm Res 7: 588-694. DOI: 10.1016/j.jopr.2013.06.026.
- Corthout J, Pieters L, Claeys M, Geerts S, Berghe DV, Vlietinck A. 1994. Antibacterial and molluscicidal phenolic acids from *Spondias mombin*. Planta Med 60: 460-463. DOI: 10.1055/s-2006-959532.
- Cowan MM. 1999. Plants products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev 12: 564-582.
- Daduang J, Vichitphan S, Daduang S, Hongprabhas P, Boonsiri. 2011. High phenolics and antioxidants of some tropical vegetables related to antibacterial and anticancer activities. Afr J Pharm Pharmacol 5: 608-615. DOI: 10.5897/AJPP10.243.
- Dahiya P, Purkayastha S. 2012. Phytochemical screening and antimicrobial activity of some medicinal plants against multi-drug resistant bacteria from clinical isolates. Indian J Pharm Sci 74: 443-450. DOI: 10.4103/0250-474X.108420.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour Frag J 23: 213-226. DOI: 10.1002/ffj.1875.
- Foysal, MJ, Hossain MN, Yeasmin F, Miyan SH, Rahman MM. 2012. Antibiotic susceptibility profiling and in-vitro antibacterial activity of some plant extracts to *Escherichia coli* isolated from spoiled rice and egg. Int J Biosci 2: 40-46.
- Gehrke ITS, Neto AT, Pedroso M, Mostardeiro CP, DaCruz IBM, Silva UF, Ilha V, Dalcol I, Morel AF. 2013. Antimicrobial activity of *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae). J Ethnopharm 9: 486-491. DOI: 10.1016/j.jep.2013.04.043.
- Huq MI, Jabbar A, Rashid MA, Hasan CM. 1999. A novel antibacterial and cardiac steroid from the roots of *Nerium oleander*. Fitoterapia 70: 5-9. DOI: 10.1016/S0367-326X(98)00013-6.
- Hussein II, Mamman M, Abdurashed M. 2015. Effect of varying drying temperature on the antibacterial activity of *Moringa oleifera* Leaf (Lam). IOSR J Pharm Biol Sci 10: 39-43.
- In YW, Kim JJ, Kim HJ, Oh SW. 2013. Antimicrobial activities of acetic acid, citric acid and lactic acid against *Shigella* Species. J Food Safety 33: 79-85. DOI: 10.1111/jfs.12025.
- Irondi AE, Anokam KK, Ndidi US. 2013. Effect of drying method on the phytochemical composition and antioxidant activity of *Carica papaya* seed. Int J Biosci 3: 154-163. DOI: 10.12692/ijb/3.10.1-7.
- Ishak SA, Ismail N, Noor MAM, Ahmad H. 2005. Some physical and chemical properties of ambarella (*Spondias cytherea* Sonn.) at three different stages of maturity. J Food Comp Anal 18: 819-827. DOI: 10.1016/j.jfca.2004.11.007.

- Islam SMA, Ahmed KT, Manik MK, Wahid MA, Kamal CSI. 2013. A comparative study of the antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and thrombolytic potential of the fruits and leaves of *Spondias dulcis*. *Asian Pac J Trop Biomed* 3: 682-691. DOI: 10.1016/S2221-1691(13)60139-2.
- Jain P, Hossain KR, Mishu TR, Reza HM. 2014. Antioxidant and antibacterial activities of *Spondias pinnata* Kurz. leaves. *Eur J Med Plants* 4: 183-195. DOI: 10.9734/EJMP/2014/7048.
- Jeyaseelan EC, Jashothan PT. 2012. In vitro control of *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) by *Ricinus communis* L. *Asian Pac J Trop Biomed* 2: 717-721. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60216-0.
- Juliani, Yuliana ND, Budijanto S, Wijaya CH, Khatib A. 2016. Senyawa inhibitor α -Glukosidase dari kumis kucing dengan pendekatan metabolomik berbasis FTIR. *J Teknol Industri Pangan* 27: 7-30. DOI: 10.6066/jtip.2016.27.1.17.
- Kamal S, Akhter R, Tithi NA, Wadud MA, Narjish SN, Shahriar M, Bhuiyan MA. 2015. Biological investigations of the leaf extract of *Spondias pinnata*. *Int J Pharm Sci Res* 6: 3351-3358.
- Manik MK, Islam SMA, Wahid MA, Morshed MM, Kamal S, Islam MS, Ahmed KT. 2013. Investigation of *in vitro* antioxidant, antimicrobial and thrombolytic activity of the exocarp of *Spondias pinnata* (Anacardiaceae). *Can Chem Trans* 1: 191-201. DOI: 10.13179/10.13179/canchemtrans.2013.01.03.0029.
- Muraina IA, Adaudi AO, Mamman M, Kazeem HM, Eloff JN. 2008. Effects of geographical location on the yield and bioactivity of *Anoigeissus leiocarpus*. *J Pharm Bioresources* 5: 68-72. DOI: 10.4314/jpb.v5i2.52995.
- Nasar-Abbas SM, Halkman AK. 2004. Antimicrobial effect of water extract of sumac (*Rhus coriaria* L.) on the growth of some food borne bacteria including pathogens. *Int J Food Microbiol* 97: 63-69. DOI: 10.1016/j.jfoodmicro.2004.04.009.
- Okoth DA, Chenia HY, Koorbanally NA. 2013. Antibacterial and antioxidant activities of flavonoids from *Lannea alata* (Engl.) Engl. (Anacardiaceae). *Phytochem Letters* 6: 476-481. DOI: 10.1016/j.phytol.2013.06.003.
- Parhusip AJN, Jenie BSL, Rahayu WP, Yasni S. 2005. Pengaruh ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap permeabilitas dan hidrofobisitas *Bacillus cereus*. *J Teknol Industri Pangan* 16: 24-30.
- Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS. 2001. Introduction to Spectroscopy 3rd Edition. 13-10. USA: Thomson Learning.
- Rivai H, Nurdin H, Suyani H, Bakhtiar A. 2010. Pengaruh cara pengeringan terhadap perolehan ekstraktif, kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan dari daun dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC.). *Majalah Obat Tradisional* 15: 26 - 33.
- Roopalatha UC, Nair VM. 2013. Phytochemical analysis of successive reextracts of the leaves of *Moringa oleifera* Lam. *Int J Pharm Pharmce Sci* 5: 629-634.
- Rua J, Fernandez-Alvarez L, Gutierrez-Larrainzar M, del Valle P, de Arriaga D, Garcia-Armesto MR. 2010. Screening of phenolic antioxidants for their inhibitory activity against foodborne *Staphylococcus aureus* Strains. *Foodborne Pathog Dis* 7: 695-705. DOI: 10.1089/fpd.2009.0440.
- Sadiq MB, Hanpithakpong W, Tarning J, Anal AK. 2015. Screening of phytochemical and *in vitro* evaluation of antibacterial and antioxidant activities of leaves, pods and bark extract of *Acacia nilotica* (L.) Del. *Ind Crop Prod* 77: 873-882. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.09.067.
- Safdar MN, Kausar T, Nadeem M. 2016. Comparison of ultrasound and maceration techniques for the extraction of polyphenols from the mango peel. *J Food Process Pres* 41: e13028. DOI: 10.1111/jfpp.13028.
- Sharmeen R, Hossain MN, Rahman MM, Foysal MJ, Miah MF. 2012. *In-vitro* antibacterial activity of herbal aqueous extract against multi-drug resistant *Klebsiella* sp. isolated from human clinical samples. *Int Current Pharm J* 1: 133-137. DOI: 10.3329/icpj.v1i6.10534.
- Silva MSS, Lima SGD, Oliveira EH, Lopes JAD, Chaves MH, Reis FAM, Citó AMGL. 2008. Anacardic acid derivatives from Brazilian propolis and their antibacterial activity. *Ecl Quím* 33: 53-58. DOI: 10.1590/S0100-46702008000300008.
- Suhono B, Yuzammi, Winoto JR, Hidayat S, Handayani T, Sugiarti, Mursidawati S, Astuti IP, Sudarmono, Wawangningrum H. 2010. Ensiklopedi Flora 6. 74-75. PT.Kharisma Ilmu. Jakarta.
- Talib WH, Mahasneh AM. 2010. Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. *Molecules* 15: 1811-1824. DOI: 10.3390/molecules15031811.

- Tandon S, Rastogi RP. 1976. Studies on the chemical constituents of *Spondias pinnata*. *Planta Medica* 29: 190-192. DOI: 10.3390/molecules15031811.
- Uchôa ADA, Oliveira WF, Pereira APC, Silva AG, Cordeiro BMPC, Malafaia CB, Almeida CMA, Silva NH, Albuquerque JFC, Silva MV, Correia MTS. 2015. Antioxidant activity and phytochemical profile of *Spondias tuberosa* Arruda leaves extracts. *Am J Plant Sci* 6: 3038-3044. DOI: 10.4236/ajps.2015.619298.
- Vijayarathna S, Sasidharan S. 2012. Cytotoxicity of methanol extracts of *Elaeis guineensis* on MCF-7 and Vero cell lines. *Asian Pac J Trop Biomed* 2: 826-829. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60237-8.
- Wei ZL, Dong L, Tian ZH. 2009. Fourier transform infrared spectrometry study on early stage of cadmium stress in clover leaves. *Pak J Bot* 41: 1743-1750.
- Yulianingtyas A, Kusmartono B. 2016. Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *J Teknik Kimia* 10: 58-64.
- Zirihi GN, Mambu L, Guede-Guina F, Bodo B, Grellier P. 2005. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of 33 West African plants used for treatment of malaria. *J Ethnopharm* 98: 281-285. DOI: 10.1016/j.jep.2005.01.004.
- Zubair M, Nyboma H, Lindholmb C, Rumpunena K. 2011. Major polyphenols in aerial organs of greater plantain (*Plantago major* L.), and effects of drying temperature on polyphenol contents in the leaves. *Scientia Horticulturae* 128: 523-529. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.03.001.