



Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Variates Australia (*Psidium Guajava Variates Pyriferia*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* ATCC 25922 Dengan Metode Difusi Dan Dilusi

Fevi Indri Oktaviani¹, Desy Ayu Irma Permatasari², Danang Raharjo³

^{1,2,3} Program Studi Farmasi Universitas Duta Bangsa Surakarta

Alamat: Jl. Pinang Raya Turi, Cemani, Kec. Grogol, Kab. Sukoharjo, Jawa Tengah 57552

Korespondensi penulis: fhevyindri18@gmail.com

Abstract. Diarrhea is a disease characterized by frequent bowel movements with watery or watery stool conditions. Symptoms are infections in the intestinal tract due to bacteria, viruses, or other parasitic microorganisms. Not a few cases of diarrhea caused by *Escherichia coli* bacteria. Plants that can be used as antibacterial one of them is guava leaves variates Australia. Has biological activity as an antibacterial, because it contains several active compounds, such as: tannins, terpenoids, alkaloids, flavonoids, and essential oils. The purpose of this study was to determine the active compounds contained in guava leaves of Australian variates and their antibacterial activity. The extraction method used is maceration with 70% ethanol solvent. Testing its antibacterial activity with the disc diffusion method to see the inhibition zone, then testing the KHM value with liquid diffusion and testing the KBM value with solid diffusion. The results showed that guava leaf extract of Australian variates has antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 bacteria. The average diameter of the inhibitory zone in Australian guava leaf extract concentrations of 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.562%, respectively was 6.6 mm, 3.3 mm, 2.6 mm, 0.83 mm, 1.33 mm. The KHM and KBM values of the liquid dilution test and solid dilution of Australian guava leaf extract in this study were expressed at a concentration of 12.5%.

Keywords: Antibacterial, Australian Guava Leaf Variates, *Escherichia Coli*

Abstrak. Diare merupakan penyakit yang ditandai sering buang air besar dengan kondisi tinja yang encer atau berair. Gejalanya berupa infeksi disaluran usus akibat bakteri, virus, atau mikroorganisme parasit lainnya. Tidak sedikit kasus diare disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*. Tumbuhan yang dapat dipakai sebagai antibakteri salah satunya adalah daun jambu biji variates Australia. Memiliki aktivitas biologis sebagai antibakteri, karena didalamnya terkandung beberapa senyawa aktif, seperti: tanin, terpenoid, alkaloid, flavonoid, dan minyak atsiri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam daun jambu biji variates Australia dan aktivitas antibakterinya. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dengan pelarut etanol 70%. Pengujian aktivitas antibakterinya dengan metode *disc diffusion* untuk melihat zona hambatnya, kemudian dilakukan pengujian nilai KHM dengan difusi cair dan pengujian nilai KBM dengan difusi padat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji variates Australia memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Rata-rata diameter zona hambat pada ekstrak daun jambu biji Australia konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,562%, berturut-turut adalah 6,6 mm, 3,3 mm, 2,6 mm, 0,83 mm, 1,33 mm. Nilai KHM dan KBM dari uji dilusi cair dan dilusi padat ekstrak daun jambu biji Australia pada penelitian ini dinyatakan pada konsentrasi 12,5%.

Kata kunci: Antibakteri, Daun Jambu Biji Variates Australia, *Escherichia coli*

LATAR BELAKANG

Diare merupakan penyakit yang sering buang air besar dengan kondisi tinja yang encer atau berair, gejalanya berupa infeksi disaluran usus akibat bakteri, virus, atau mikro organisme parasit lainnya. Tidak sedikit kasus diare disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek dengan panjang sekitar 2 µm, diameter 0,7 µm, lebar 0,4 µm - 0,7 µm, dan bersifat anaerob fakultatif. Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri patogen entrik. Sehingga bisa menyebabkan dehidrasi (UNICEF, 2018).

Received Juli 30, 2023; Revised Agustus 2, 2023; Accepted September 14, 2023

* Fevi Indri Oktaviani, fhevyindri18@gmail.com

Tumbuhan yang dapat dipakai sebagai antibakteri salah satunya adalah Daun jambu biji varietas Australia (*Psidium guajava variates pyriferia*). Daun jambu biji varietas Australia (*Psidium guajava variates pyriferia*) dapat bersifat sebagai antibakteri, karena didalamnya terkandung beberapa senyawa aktif, seperti: tannin, terpenoid, alkaloid, flavonoid, dan minyak atsiri yang memiliki efek anti bakteri. Ekstrak Daun jambu biji varietas Australia dilaporkan memiliki aktivitas yang baik sebagai antibakteri. Berbagai cara dapat dilakukan untuk mengatasi masalah infeksi akibat bakteri. Salah satunya ialah pemberian antibiotik. Antibiotik merupakan suatu senyawa alami yang mempunyai efek menekan atau menghentikan proses biokimia didalam organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh mikroba (Soleha, 2015).

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Icharizky Chrismonita tahun (2021). Didapatkan hasil diameter zona hambat terbesar ekstrak etanol Daun jambu biji Australia terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar 15,95 mm pada konsentrasi 100%. Rata-rata diameter zona hambat terkecil yaitu pada konsentrasi 20% sebesar 10,10 mm. Rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 10%; 30%; 40%; 50%; 60%; 70%; 80%, dan berturut-turut yaitu 10,63mm; 10,81mm; 11,72mm; 12,44mm; 12,44mm; 12,83 mm; 14,07mm; 14,64mm; dan 14,79mm. Kontrol positif (Ciprofloxacin 5µg/50 mL) memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 32,02 mm dan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat atau tidak memiliki aktivitas antibakteri (Chrismonita, 2021).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air Daun jambu biji varietas Australia (*Psidium guajava variates pyriferia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dari fraksi teraktif tersebut.

KAJIAN TEORITIS

Klasifikasi

Klasifikasi tanaman jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) adalah sebagai berikut (Parimin, 2007) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Division	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Class	: <i>Dicotyledone</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Family	: <i>Myrtaceae</i>
Genus	: <i>Psidium</i>

Spesies : *Psidium guajava* L

Morfologi

Jambu biji Australia mempunyai ciri khusus yaitu bagian tumbuhan berwarna merah kecoklatan (Haryadi & Hidayati, 2018). Jambu biji Australia tergolong dalam tanaman perdu yang memiliki tinggi 3 - 7 meter dan batang tumbuh tegak, memiliki percabangan ranting (Febryana, 2020). Daun jambu biji varietas Australia berbentuk bulat memanjang dengan ukuran 12-13 cm dan lebar 6 sampai 7 cm (Parimin, 2007), berjenis daun tunggal, dengan daun ujung yang tumpul, pangkal membulat tepi rata berhadapan, dan tulang daun menyirip. Bunga merupakan bunga tunggal dengan bentuk seperti corong yang terletak dibagian ketiak daun.

Manfaat

Tanaman jambu biji terutama pada bagian daun sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pengobatan untuk beberapa penyakit seperti diare akut dan kronis, perut kembung pada bayi dan anak, peningkatan kadar kolesterol, luka, sariawan, dan demam berdarah (Yani *et al.*, 2020).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini meliputi uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol Daun Jambu Biji Varietas Australia (*Psidium guajava variates pyriferia*) Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental. Variabel bebas dalam penelitian ini ialah seri konsentrasi ekstrak etanol daun jambu biji varietas Australia dalam beberapa konsentrasi yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625%. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter daya hambat ekstrak etanol dan fraksi Daun jambu biji varietas Australia terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kain hitam, loyang, oven (*Memmert UN30 Oven Lab*), blender (*Cosmos*), pengayak No. 40, timbangan digital (*Durascale*), botol kaca berwarna coklat, batang pengaduk, kertas saring, beker gelas (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), rotary evaporator (*RV 10*), cawan porselin, pipet tetes, *waterbath* (*Memmert*), tabung reaksi (*Pyrex*), timbangan milliGram (*Durascale*), corong pisah (*Pyrex*), erlenmeyer (*Pyrex*), sarung tangan, masker, sendok tanduk, batang pengaduk, cawan petri (*Normax*), *spreader glass*, bunsen, jarum ose, kapas, aluminium foil, autoklaf (*GEA*), mikropipet, *incubator* (*Memmert*), *Laminar Air Flow* (LAF), penggaris (*Snowpeak*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Daun jambu biji varietas Australia, etanol 96%, aquadest, etil asetat, *n*-heksan, air, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH 1%, FeCl₃

1%, HCl 2N, dragendoff, mayer, *liberman burchada*, DMSO 1%, NaCl steril, kloroform, bakteri *Escherichia coli*, media *Nutrient agar*, media MHA (*Mueller Hinton Agar*), Ciprofloxacin, kertas cakram.

Preparasi sampel

Sampel daun jambu biji variates Australia di ambil dari desa Bakaran, Kecamatan Jumantono, Kabupaten Karanganyar sebanyak 2 kg. Melalui penyortiran dengan memilih daun yang masih segar kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih melekat Dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari dengan penutup kain hitam. Setelah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh no.40 untuk mendapatkan serbuk yang seragam.

Standarisasi simplisia

Susut pengeringan dilakukan penimbangan 2 Gram dan masukkan kedalam krus tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan di oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara keringkan pada suhu 105°C ulangi 2-3 kali hingga bobot tetap. Sebelum dan setiap pengeringan oven, biarkan krus dalam keadaan tertutup mendingin di desikator hingga suhu kamar (Depkes RI, 2000).

Uji kadar air Simplisia dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Penetapan kadar air ekstrak dilakukan dengan memasukkan masing-masing 2 Gram sampel simplisia ke dalam alat *moisture balance*, suhu diatur 105°C dan proses pengerjaan selama 5 menit dan tunggu hingga alat memperlihatkan hasil kadar air dengan satuan % (Indriana *et al.*, 2021).

Pembuatan ekstrak

Dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ditimbang 450gram Daun Jambu Biji Variates Australia dilakukan selama 3x24 jam dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Nugroho, 2021).

Standarisasi Ekstrak

Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun jambu biji varietas Australia dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudiandipanaskan. Hasil positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Agustie & Samsumaharto, 2013).

Uji Susut Pengeringan. Ekstrak Daun jambu biji varietas Australia dilakukan dengan memasukkan masing-masing 2 gram sampel ekstrak ke dalam alat *moisture balance*, suhu diatur 105°C dan ditunggu hingga alat memperlihatkan hasil kadar air dengan satuan % (Indriana *et al.*, 2021).

Uji Kadar Air Uji kadar air ekstrak dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Penetapan kadar air ekstrak dilakukan dengan memasukkan masing-masing 2 gram sampel ekstrak ke dalam alat *moisture balance*, suhu diatur 105°C dan ditunggu hingga alat memperlihatkan hasil kadar air dengan satuan % (Indriana *et al.*, 2021).

Skrining Fitokimia Ekstrak

Uji Flavonoid. Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan 0,5 Gram serbuk magnesium dan 10 tetes HCl pekat, bila bereaksi positif akan menghasilkan larutan berwarna jingga, merah muda atau merah (Hanani, 2015).

Uji alkaloid. Ekstrak etanol Daun jambu biji varietas Australia sebanyak 1 mL dimasukkan dalam 3 tabung reaksi. Ditambahkan 1-2 tetes pereaksimayer, dragendorf, dan bouchardat. Sampel positif mengandung alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih kekuningan pada pereaksi mayer, endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan pada pereaksi dragendorf, dan endapan berwarna coklat sampai muda pada pereaksi wagner (Nofita *et al.*, 2020).

Uji tannin. Ekstrak etanol Daun jambu biji varietas Australia, sebanyak 100 mg dilarutkan dengan 10 mL akuades, kemudian dididihkan dan disaring, ambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Hanani, 2015).

Uji saponin. Larutan ekstrak etanol Daun jambu biji varietas Australia sebanyak 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL aquades dan dikocok kuat selama 10 menit. Hasil positif apabila buih terbentuk stabil selama tidak kurang dari 10 menit (Hanani, 2015).

Uji terpenoid. Dimasukkan 1ml sampel kedalam tabung reaksi dan ditambah 10 tetes anhidrida asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna biru dan terbentuknya warna merah jingga atau ungu untuk positif adanya triterpenoid (Hanani, 2015).

Kromatografi Lapis Tipis pada ekstrak

Pemisahan dengan kromatografi Lapis Tipis dilakukan menggunakan fase diam plat KLT silika gel GF245 dengan ukuran panjang 7 x 2 cm dengan jarak elusi 5 cm. bercak pada plat KLT dimonitor di bawah lampu UV 254 nm dan 365 nm. Penentuan golongan senyawa dapat dilihat setelah dilakukan penyemprotan pada plat KLT dengan beberapa pereaksi. Komponen kimia yang diuji dari ekstrak meliputi flavonoid, alkaloid, fenol, terpenoid, dan saponin.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri *Escherichia coli* dalam media MHA yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil sebanyak 1 ose dan masukkan dalam tabung reaksi yang berisi NaCl steril 1 ml. Lalu homogenkan dengan vortex dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian bandingkan kekeruhannya dengan 0,5 Mc Farland (Hudaya, 2014).

Pengujian aktivitas antibakteri *escherichia coli*

Metode difusi

Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan disk cakram steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan kedalam media MHA dengan metode perataan. Media didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi kedalam media. Kertas disk cakram direndam 5 menit dengan ekstrak pada konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,562%, ciprofloxacin 0,5% sebagai kontrol positif dan control negatif DMSO 1%. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Diameter zona hambat sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan mm.

Metode Dilusi

Metode tersebut menggunakan 8 tabung steril. Konsentrasi larutan stock yang dibuat adalah 50%, kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 1%. Dibuat deret konsentrasi dibawahnya yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,562% Kontrol normal yaitu media NB, Kontrol negatif DMSO 1% ditambah 1 mL biakan bakteri, control positif yaitu antibiotik ciprofloxacin 0,5% ditambah 1 mL biakan bakteri. Media NB dimasukkan 0,5 mL pada setiap tabung. Masukkan 1 mL larutan stok yang akan diuji, dari tabung 50% dipipet 0,5 mL dimasukkan kedalam tabung 12,5% begitu seterusnya sampai tabung 1,562% kemudian dibuang 0,5 mL. tambahkan biakan bakteri 0,5 mL biakan bakteri dari tabung 50% sampai tabung terakhir. Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Tabung reaksi dengan larutan jernih konsentrasi terendah merupakan konsentrasi hambat minimum. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menginokulasikan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada media MHA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan jamur dengan melihat ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh.

Analisis Data

Data yang dianalisis adalah diameter zona hambat yang diperoleh dari penentuan zona hambat ekstrak etanol daun jambu biji varietas Australia (*Psidium guajava variates pyrifera*) konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,5625%. Untuk mengetahui kenormalan distribusi data dan homogenitas data dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji

homogenitas varian Levene's Test. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan analisis parametrik One-Way ANOVA, jika menunjukkan adanya perbedaan statistik yang bermakna, maka dilakukan uji lanjutan Tukey HSD untuk mengetahui kelompok uji mana yang memperlihatkan perbedaan efek. Semua uji statistik dilakukan dengan tingkat kepercayaan 95% (Vebliani *et al.*, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak Etanol 70% Daun Jambu Biji Variates Australia

Daun jambu biji variates Australia dikeringkan dibawah sinar matahari selama 5 hari ditutup kain hitam. Simplisia yang telah kering dihaluskan dengan blender sampai halus dan diayak dengan ayakan mesh no.40. Hasil randemen simplisia diperoleh 40,8%. Dan randemen serbuk diperoleh 84,5%. Susut pengeringan simplisia diperoleh 9,15%, kadar air 7,6%.

Pembuatan ekstrak Daun jambu biji variates Australia dengan metode maserasi .dilakukan 3 hari dan dimaserasi 2 hari sesekali sambal diaduk, setelah itu disaring dengan kain dan diperoleh hasil maserat. Hasil fitrat diuapkan dengan *Rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Lalu di kentalkan menggunakan *waterbath* pada suhu 70°C. Hasil pada tabel 1 menunjukkan presentase randemen ekstrak pada daun jambu biji variates Australia sebanyak 15,83%. Hasil uji bebas etanol menunjukkan ekstrak Daun jambu biji variates Australia murni tanpa terkontaminasi.

Skrining fitokimia ekstrak

Berdasarkan tabel 2 dapat dilihat hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak Daun jambu biji variates Australia menunjukkan terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, tannin, dan saponin.

Tabel 1. Hasil randemen ekstrak Daun jambu biji variates Australia

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Randemen (%) b/b
450	71,266	15,83

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak Daun jambu biji variates Australia

Kandungan Senyawa	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	Terdapat warna merah
Tannin	+	Terdapat warna hijau kehitaman
Saponin	+	Terbentuk buih/busa stabil
Terpenoid	+	Terbentuk cincin kekuningan

Alkaloid	+	Terdapat endapan
----------	---	------------------

Menurut penelitian Nofita *et al.* (2020) menghasilkan skrining fitokimia ekstrak Daun jambu biji varietas Australia (*Psidium guajava variates pyrifer*) menggunakan pelarut etanol 96% menunjukkan kandungan fitokimia pada Daun jambu biji varietas Australia yaitu flavonoid, tannin, saponin, dan alkaloid. Menurut penelitian Chrismonita (2021) mendapatkan hasil skrining fitokimia ekstrak Daun jambu biji varietas Australia menggunakan pelarut etanol 70% menunjukkan kandungan fitokimia pada Daun jambu biji varietas Australia yaitu flavonoid, tannin, saponin, dan negatif alkaloid.

Kromatografi Lapis Tipis pada ekstrak

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan KLT hanya dilakukan pada ekstrak Daun jambu biji varietas Australiadapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid, dan saponin.

Tabel 3. Hasil identifikasi kromatografi lapis tipis pada ekstrak

Senyawa	Referensi	Hasil	Nilai <i>Rf</i> (cm)
Alkaloid	Adanya spot berwarna orange pada sinar tampak (Widyaningsih <i>et al.</i> , 2016)	Hasil positif, terdapat Spot berfluoresensi merah UV pada 366nm dan berwarna orange pada sinar tampak	0,88
Flavonoid	Adanya spot berwarna kuning pada sinar tampak (Sopiah <i>et al.</i> , 2019)	Hasil positif, terdapat spot Befluoresensi biru pada UV 366nm, warna coklat kekuningan pada sinar tampak	0,86
Tanin	Adanya spot berwarna biru kehitaman pada sinar tampak (Sopiah <i>et al.</i> , 2019)	Hasil positif, terdapat spot warna hijau kecoklatan UV 366 dan warna hijau kecoklatan pada sinar tampak	0,68
Terpenoid	Adanya warna hijau kebiruan pada sinar tampak	Hasil positif, terdapat warna keunguan pada UV 366 dan warna hijau pada sinar 254	0,26
Saponin	Adanya warna hijau pada sinar tampak	Hasil positif, terdapat warna hijau pada sinar UV 254 dan spotwarna ungu pada sinar UV 366	0,82

Pengujian aktivitas antibakteri *Escherichia coli*

Metode Difusi

Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak yang diperoleh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan ditunjukkan adanya daya hambat disekitas disk. Berdasarkan hasil pada tabel 4 pengujian antibakteri dapat dilihat semakin besar konsentrasi maka semakin besar daya hambat masing-masing. Tetapi pada konsentrasi 3,125% dan 1,562% didapatkan lebih besar konsenrasi terkecil dikarenakan pada saat proses inokulasi tidak merata menyebabkan pada konsentrasi terendah tidak mendapatkan zona hambat paling kecil.

Tabel 4. Hasil Pengujian Antibakteri Bahan Uji Teraktif dengan Metode

Disc Diffusion Test

Konsentrasi Bahan Uji (%)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata (mm)
	I	II	III	
25	7,5	6,0	6,5	6,6
12,5	3,5	3,0	3,5	3,3
6,25	3,0	2,5	2,5	2,6
3,125	1,0	1,0	0,5	0,83
1,5625	1,5	1,5	1,0	1,3
Ciprofloxacin disc 5µg	22,5	21,5	23,0	23,3
DMSO 1%	0,0	0,0	0,0	0,0

Metode dilusi

Metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). KHM dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih atau tidak adanya bakteri tumbuh, setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. didapatkan hasil pada konsentrasi 25% dan 12,5% tidak tampak adanya gumpalan atau selaput yang tumbuh, Sedangkan pada konsentrasi larutan uji 6,25%, 3,125%, 1,562% larutan terlihat keruh dan terdapat gumpalan/selaput yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada larutan tersebut.

Konsentrasi bunuh minimum yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada media MHA pada cawan petri, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. KBM ditentukan pada media MHA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil menunjukkan kosentrasi bunuh minimum pada 25% dan 12,5%. Pada

konsentrasi 12,5%, bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sudah tidak dapat beradaptasi dan bertumbuh. Hal itu menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut mampu digunakan untuk membunuh bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Dengan demikian, nilai KBM dapat dinyatakan pada konsentrasi 12,5%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun jambu biji Australia (*Psidium guajava variates pyrifer*) ialah alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Nilai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak Daun jambu biji varietas Australia (*Psidium guajava variates pyrifer*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 terdapat pada konsentrasi 12,5%.

DAFTAR REFERENSI

- Depkes, R. I. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 3-30.
- Depkes RI. *Farmakope Indonesia edisi VI*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: Kementrian Republik Indonesia;2020.
- Febryana, S. F. A. (2020). Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji ungu (*Psidium guajava variates pyrifer*) menggunakan pelarut yang berbeda. *Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia* (T. V. D. Hadinata & A. Hanif (eds.)). Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Haryadi, I., & Hidayati, N. (2018). Ekstraksi Zat Warna Dari Daun jambu biji varietas Australia (*Psidium guajava variates pyrifer*). *Indonesia Journal of Halal*, 1(2), 97
- Nofita, N., Maria Ulfa, A., & Delima, M. (2020). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun jambu biji varietas Australia (*Psidium guajava variates pyrifer*) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *JFL: Jurnal Farmasi Lampung*, 9(1), 10–17
- Parimin. (2007). *Jambu Biji: Budidaya dan Ragam Pemanfaatannya*. Depok: Penebar Swadaya.
- Soleha, T. U. (2015). Uji kepekaan terhadap antibiotik. *JUKE Unila*, 5(9), 119-123.
- Sandy, M., Wardani, T. S., & Septiarini, A. D., (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (*Centella Asiatica L*) Terhadap *Escherichia Coli* Atcc 25922. *Media Farmasi Indonesia*. 16(2), 1683-1692.
- Yani, I. S., Muthmainah, N., & Yasmina, A. (2020). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung dan Daun Jambu Biji Terhadap *Salmonella typhi* In Vitro. *Homeostasis*, 3(2), 277–282.