

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*PSIDIUM GUAJAVA LINN*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *ESCHERICHIA COLI*

Gary Efrain Girsang, Desi Indria Rini, Rahel Rara Woda

ABSTRAK

Escherichia coli merupakan salah satu penyebab infeksi yang sering terjadi pada masyarakat. *Escherichia coli* yang merupakan flora normal pada usus besar bisa menjadi patogen jika berpindah dari tempatnya ataupun jumlahnya yang semakin bertambah. Meningkatnya angka kejadian infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* menyebabkan terjadinya penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan menyebabkan *Escherichia coli* resisten terhadap antibiotik sehingga pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional dapat menjadi pengobatan alternatif selain antibiotik. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah daun jambu biji. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava Linn*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan seberapa kuat potensi daya hambat yang dihasilkan melalui diameter zona hambat yang terbentuk. Metode Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experiment design* dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Pengujian antibakteri yang digunakan adalah metode difusi agar menggunakan cakram disk. Pada penelitian ini menggunakan 10 kelompok perlakuan yang terdiri dari Ciprofloxacin sebagai control positif, aquades steril sebagai kontrol negatif, dan ekstrak etanol daun jambu biji dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% dimana masing-masing kelompok dilakukan 3 kali pengulangan. Diameter zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur dengan jangka sorong. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p=0,001$ dan nilai $p<0,05$ yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara dua kelompok. Hasil uji *post hoc* menggunakan *Mann-Whitney* juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, sedangkan pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava Linn*) memiliki aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat disekitar kertas cakram. Diameter zona hambat terbesar terdapat pada konsenrasi 100% sebesar 13,63mm dan diameter zona hambat terkecil terdapat pada konsentrasi 25% sebesar 9,23mm. konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% tidak memiliki potensi daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci : Aktivitas antibakteri, daun jambu biji, *Escherichia coli*

Infeksi merupakan salah satu jenis penyakit yang sering dijumpai pada negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu agen penyebab infeksi yang paling sering adalah bakteri. Infeksi dari bakteri biasanya didapatkan dalam komunitas maupun nosokomial. Bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi adalah *Escherichia coli*.⁽¹⁾⁽²⁾

Pada dasarnya *Escherichia coli* merupakan mikrobiota dari saluran pencernaan (usus besar). Selain itu

Escherichia coli juga memiliki peranan penting lainnya, yaitu dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogenik lainnya dengan cara menghasilkan kolisin. *Escherichia coli* dapat menjadi patogen apabila berpindah dari tempatnya yang normal ke tempat yang lain atau apabila jumlahnya melebihi dari jumlah normal. Dalam penularannya, *Escherichia coli* merupakan penyebab 80% infeksi saluran kemih di negara maju, 50% penyebab pneumonia dengan umur rata-rata penderita 53 tahun, penyebab 80% meningitis pada

neonatus, penyebab diare terbanyak kedua setelah *rotavirus* dimana di Indonesia diare merupakan penyebab kematian tertinggi ke-3 setelah Tuberculosis dan juga pneumonia.⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Semakin meningkatnya infeksi bakteri *Escherichia coli* menyebabkan semakin meningkatnya penggunaan antibiotik. Penggunaan antibiotik dalam kurun waktu yang cukup lama dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Di Indonesia sendiri bakteri *Escherichia coli* telah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik, yaitu ampicilin (43,2%), gentamisin (6,2%), kloramfenikol (21,4%), sefotaksim (3,9%), siprofloksasin (7,8%) dan juga trimethoprim sulfametoksazol (35%). Oleh karena itu banyak orang yang sudah mulai mencari antibiotik yang baru, salah satunya adalah mencoba untuk “back to nature” (kembali ke alam) dengan menggunakan obat tradisional.⁽⁶⁾

Indonesia memiliki beragam tanaman obat yang sebagian besar telah digunakan oleh rakyat Indonesia sendiri secara turun temurun. Obat tradisional memiliki banyak keuntungan, yaitu bahan bakunya mudah diperoleh dan harganya yang terjangkau. Salah satu contoh tanaman obat yang bisa dimanfaatkan adalah daun jambu biji (*Psidium Guajava Linn*).⁽⁷⁾

Daun jambu biji mengandung bahan aktif, antara lain kuersetin, polifenolat, kuinon, saponin, alkaloid, flavonoid dan tannin yang berperan sebagai antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia Coli*, *Salmonella Typhi* dan *Shigella dysenteria*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experiment design* dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas

Kedokteran Universitas Nusa Cendana pada bulan September-Desember 2019.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh dari Badan Pengawasan Obat Makanan (BPOM) Kupang. Penelitian ini menggunakan 10 kelompok, yaitu kelompok 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% kontrol negatif dengan aquadest steril dan kontrol positif dengan antibiotik ciprofloksacin dengan 3 kali pengulangan berdasarkan rumus Federer.

Ekstraksi Daun jambu Biji

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Daun jambu biji yang digunakan dalam penelitian ini, diambil sendiri oleh peneliti di wilayah kota kupang secara acak dengan tidak membatasi pada suatu variasi tertentu. Daun yang digunakan tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua. Daun tersebut sebelum dikeringkan, harus dicuci bersih terlebih agar bersih dari debu kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Proses pengeringan berlangsung selama 4 hari. Setelah kering, daun jambu biji dihaluskan dan didapatkan serbuk simplisia. Simplisia tersebut lalu direndam dengan menggunakan etanol 70% selama 3 hari dan dilakukan pengadukan setiap harinya. Setelah 3 hari dilakukan evaporasi.

Uji Bebas Etanol

Ekstrak maserasi daun jambu biji yang kental kemudian dikeringkan didalam oven pada suhu 40°C untuk menghilangkan sisa pelarut agar didapatkan ekstrak kental yang bebas etanol. Bisa juga dengan cara 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 mL kalium dikromat ditambahkan ke dalam larutan uji. Apabila terjadi perubahan dari warna jingga menjadi kebiruan, maka ekstrak tersebut masih mengandung etanol. Cara yang lainnya bisa dengan ditambahkan 1 mL asam asetat dan juga 1 mL asam sulfat yang pekat dibantu dengan pemanasan. Jika

tidak tercium bau ester, maka ekstrak tersebut bebas dari etanol.

Skrining fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan golongan senyawa pada sampel daun jambu biji yang akan diuji aktivitasnya. Uji flavonoid dilakukan dengan cara Sebanyak 0,5 g simplisia ditambahkan dengan 10 mL air panas yang kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu 0,5 g serbuk Mg, 1 mL HCL pekat, dan 1 mL amil alkohol ditambahkan. Campuran kemudian dikocok kuat. Uji positif ditandai dengan munculnya warna merah, kuning jingga pada lapisan amil alkohol.

Uji alkaloid dilakukan dengan cara Sebanyak 0,5 g simplisia diekstraksi dengan 10 mL kloroform dan beberapa tetes NH_4OH pekat. Ekstrak kemudian disaring ke dalam tabung reaksi yang tertutup, kemudian dikocok sambil menambahkan 10 tetes H_2SO_4 2 M. lapisan asam kemudian kemudian dipindahkan ke dalam tabung yang lain, kemudian diteteskan pada lempeng tetes untuk ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Uji positif akan ditandai dengan berturut – turut munculnya endapan yang berwarna putih, cokelat dan juga merah jingga.

Uji Tannin dilakukan dengan cara Sebanyak 0,5 g simplisia dilarutkan dengan 10 mL air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring ke dalam filtrate lalu ditambahkan 10 mL FeCl_3 1%. Uji dinyatakan positif apabila ditandai dengan munculnya warna hitam atau biru tua.

Uji saponin dilakukan dengan cara Sebanyak 0,1 g simplisia ditambahkan 10 ml air panas yang kemudian akan disaring. Filtrate tersebut kemudian akan dikocok selama 10 menit dengan keadaan tertutup. Terbentuknya buih yang stabil

menunjukkan ekstrak tersebut mengandung saponin.

Sterilisasi alat

Alat – alat gelas yang tahan akan pemanasan yang tinggi akan disterilkan dengan oven pada suhu 180°C selama ± 2 jam. Medium, aquades, dan alat – alat lain yang tidak tahan dengan pemanasan tinggi, akan disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama ± 15 menit. Sedangkan alat yang terbuat dari logam seperti ose dan pinset akan disterilkan dengan dicuci menggunakan alkohol dan dipijarkan langsung diatas api Bunsen hingga merah membara.

Pembuatan Variabel Konsentrasi

Ekstrak dengan konsentrasi 100% selanjutnya dibuat menjadi konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% secara manual menggunakan pengenceran bertingkat dengan rumus $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$.

Pembuatan Larutan MacFarland

Biakkan bakteri diambil sebanyak 1-2 ose dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam Densitometer *Mc farland* sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 *Mc Farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri 10^8 CFU/ml.

Pembuatan Media Uji

Timbang 25 gram bubuk media *MacConkey*. Lalu larutkan dengan aquadest sebanyak 1.250ml. Panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media. Kemudian sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Tunggu suhu sampai hangat - hangat kuku (45°C - 50°C). Homogenkan, kemudian tuangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat.

Uji Aktivitas Antibakteri

Suspense yang telah sesuai dengan standar *Mac Farland* kemudian dituangkan sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri yang telah berisi media uji *Escherichia coli*. Biakan bakteri tersebut kemudian diratakan menggunakan kapas lidi steril agar suspense tersebar merata pada media dan didiamkan selama 10 menit agar suspense terserap pada media. Kemudian ke dalam cawan petri tersebut diletakkan 1 buah kertas cakram berdiameter 6 mm dengan pinset steril. Kertas cakram tersebut sebelumnya telah dicelupkan ke dalam setiap konsentrasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium Guajava Linn*) selama 10 – 15 menit. Selanjutnya semua media diinkubasi ke dalam incubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

HASIL

Ekstraksi Daun Jambu Biji

Serbuk simplisia yang didapatkan sebanyak 500 gram. Simplisia yang sudah direndam dengan etanol 70% selama 3 hari dan di evaporasi menghasilkan ekstrak kental 40 gram.

b. Skinning Fitokimia Dan Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan 2 cara, yaitu metode mencium aroma ester dan metode perubahan warna setelah ditambahkan asam asetat glasial dan asam

sulfat. Setelah diuji, tidak tercium aroma ester dan tidak ada perubahan warna, sehingga disimpulkan ekstrak tidak mengandung etanol. Skinning fitokimia yang dilakukan membuktikan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji mengandung flavonoid, tannin, alkaloid dan saponin.

Uji Konfirmasi Bakteri

Uji konfirmasi yang dilakukan adalah pewarnaan gram. Hasil dari pewarnaan gram menunjukkan bakteri berwarna kemerahan dengan morfologi batang pendek (kokobasil). Hasil pewarnaan gram ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah *Escherichia coli*.

Uji Antibakteri

Penelitian ini menggunakan metode kertas cakram (metode difusi agar), yaitu kertas cakram yang direndam dalam ekstrak daun jambu biji dengan jumlah tertentu dan diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri *Escherichia coli* secara merata. Konsentrasi ekstrak etanol daun jambu biji yang digunakan pada penelitian ini adalah 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,56%, kontrol positif menggunakan ciprofloxacin, kontrol negatif menggunakan aquades steril.

Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 100% sampai 25%. Sedangkan pada konsentrasi 12,5% sampai 1,56% tidak terbentuk zona hambat.

Konsentrasi Ekstrak	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Potensi
	Replika 1	Replika 2	Replika 3		
100%	13,2	14,4	13,31	13,63	Kuat
75%	11,26	11,73	12,08	11,69	Kuat
50%	10,31	10,25	10,7	10,42	Kuat
25%	9,5	9,2	9	9,23	Sedang
12,5%	0	0	0	0	Lemah
6,25%	0	0	0	0	Lemah
3,125%	0	0	0	0	Lemah
1,56%	0	0	0	0	Lemah
Kontrol (+)	31,7	35,86	37,5	35,02	Sangat Kuat
Kontrol (-)	0	0	0	0	Lemah

Uji Statistik

Penelitian ini merupakan penelitian komparatif lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Variabel bebas dan variabel terikat dalam penelitian ini menggunakan skala ordinal sehingga uji statistic penelitian ini termasuk uji non parametrik. Uji non parametrik untuk penelitian komparatif lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan adalah uji *Kruskal-wallis*.⁽⁸⁾

Hasil uji *kruskal-wallis* didapatkan nilai signifikan dari p sebesar 0,001. Jika nilai $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan antara dua kelompok, sehingga perlu dilanjutkan dengan analisis *post hoc* menggunakan uji *Mann-whitney* untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan zona hambat.

Hasil dari analisis *post hoc* menggunakan uji *Mann-whitney* untuk konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% memiliki nilai signifikansi $p=0,050$ dan konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% memiliki nilai signifikansi $p=0,037$. Perbedaan yang signifikan juga terdapat antara kelompok konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%. Sedangkan pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% diperoleh nilai signifikansi 1,000 yang artinya tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok konsentrasi tersebut.

PEMBAHASAN

Zona hambat yang terbentuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji memiliki sifat antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil ini sesuai dengan Penelitian yang dilakukan oleh H. Gaitedi dan Ngadiani 2014; yang menunjukkan bahwa sari daun jambu biji dengan konsentrasi 40%, 50% dan 60% memiliki aktivitas antibakteri yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *Escherichia coli*.

Hal ini disebabkan karena Daun jambu biji memiliki kandungan flavonoid,

alkaloid, saponin dan tannin yang memiliki khasiat sebagai antibakteri.

KESIMPULAN

1. Telah didapatkan ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava Linn*) sebanyak 40 gram.
2. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun jambu memiliki senyawa aktif Alkaloid, Flavonoid, Saponin dan Tannin yang berperan sebagai zat yang menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*
3. Ekstrak etanol daun jambu biji memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat rata – rata ekstrak uji yang terbesar terlihat pada konsentrasi 100% sebesar 13,63 mm dan diameter terkecil terdapat pada konsentrasi 25% sebesar 9,23 mm.
4. Ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava Linn*) pada konsentrasi 100%, 75%, dan 50% memiliki potensi daya hambat yang kuat, konsentrasi 25% memiliki potensi daya hambat yang sedang, dan konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% tidak memiliki potensi daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

SARAN

1. Perlu dilakukan uji determinasi bahan uji untuk mengetahui varietas bahan uji
2. Perlu dilakukan penelitian menggunakan bakteri uji lain yang memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mutia GS. Gambaran hasil pemeriksaan feses pasien diare di bagian rawat inap anak RSUP Dr. M.

- Djamil Padang. Univ Andalas [Internet]. 2017;151:10–7. Available from: <http://scholar.unand.ac.id/25617/>
2. Fitriana IN. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun adas (*Foeniculum Vulgare* Mill.) terhadap *Staphylococcus aureus* atcc 6538 dan *Escherichia coli* atcc 11229 secara in vitro. Univ Muhammadiyah Surakarta [Internet]. 2013;32 : 117. Available from: <http://eprints.ums.ac.id/22645/>
 3. Bakri, Z. Hatta, M, & Massi, M N. Deteksi keberadaan bakteri *Escherichia coli* o157:h7 pada feses penderita diare dengan metode kultur dan pcr, JST Kesehatan, Universitas Hasanuddin Makassar, ISSN 2252-5416. 2015;5(2):184–92.
 4. Rios P. Analisis cemaran bakteri *Escherichia coli* (e. coli) o157:h7 pada nalisis cemaran bakteri *Escherichia coli* (e. coli) o157:h7 pada daging sapi di kota Makassar. Biomass Chem Eng. 2015;49(23–6).
 5. Purnomo, Rafri Aditya EZS. Perilaku mencuci tangan dan kejadian diare pada anak usia prasekolah di Paud Desa Kalikotes Klaten. Univ Muhammadiyah Surakarta [Internet]. 2016;1–7. Available from: <http://eprints.ums.ac.id/46279/>
 6. Jaelani Al Zukruf, and Muhammad YR. Potensi isolat rare *actinomyces* dari pasir pantai baron gunung Kidul Yogyakarta sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. 2016;14–5. Available from: <http://eprints.ums.ac.id/46209/>
 7. Ngadiani HG, Biologi P, Universitas FM, Adi P, Surabaya B. Efektifitas sari daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*) sebagai zat anti bakteri *Escherichia coli* , dan *Staphylococcus epidermidis*. 2014;07(02):32–6.
 8. M. Sopiudin Dahlan dr. ME. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan.6th ed. Jakarta; 2014.