

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI  
AUSTRALIA (*Psidium guajava* L) TERHADAP BAKTERI *Shigella*  
*dysenteriae* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ICHARIZKY CHRISMONITA**

**NIM. 17620093**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI  
AUSTRALIA (*Psidium guajava L.*) TERHADAP BAKTERI *Shigella*  
*dysenteriae* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ICHARIZKY CHRISMONITA**

**NIM: 17620093**

**diajukan Kepada:**

**Fakultas Sains dan Teknologi**

**Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang**

**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam**

**Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI  
AUSTRALIA (*Psidium guajava L.*) TERHADAP BAKTERI *Shigella*  
*dysenteriae* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

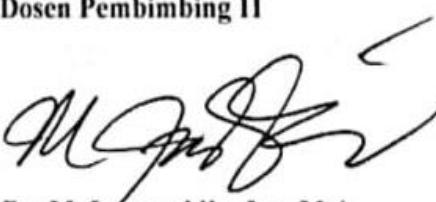
Oleh:  
**ICHAIRIZKY CHRISMONITA**  
NIM: 17620093

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
pada tanggal 5 Desember 2021

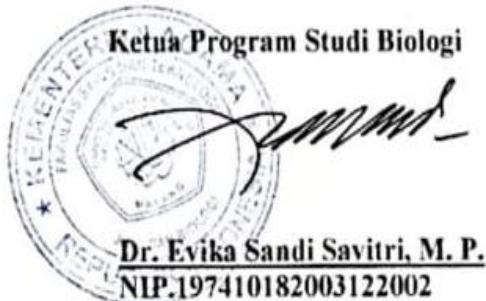
Dosen Pembimbing I

  
Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc  
NIP.19900428 20160801 2062

Dosen Pembimbing II

  
Dr. M. Imamuddin, Lc., M.A  
NIP.197406022009011010

Mengetahui,



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI  
AUSTRALIA (*Psidium guajava L.*) TERHADAP BAKTERI *Shigella*  
*dysenteriae* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

Oleh:

**ICHARIZKY CHRISMONITA  
NIM: 17620093**

telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai  
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)

Tanggal: 22 Desember 2021

Ketua Penguji	Prof. Dr.Ulfah Utami, M.Si NIP: 19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji 1	Dr. Nur Kusmiyati, M.Si NIP: 19890816 2016080 1 2061	
Anggota Penguji 2	Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc NIP: 19900428 2016080 1 2062	
Anggota Penguji 3	Dr. M. Imamuddin, Lc., M.A NIP: 197406022009011010	

Mengesahkan,

**Ketua Program Studi Biologi**

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.  
NIP.197410182003122002

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

Skripsi ini dipersembahkan untuk semua orang yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Ayah dan ibu saya tercinta yang telah merawat, mendidik, mendoakan serta selalu memberikan semangat dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Keluarga besar saya yang selalu memberikan semangat dan doa.
3. Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
4. Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku dosen pembimbing skripsi bidang biologi yang dengan penuh kesabaran membimbing dan mengarahkan penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Dr. M. Imamuddin, Lc., M.A selaku dosen pembimbing skripsi bidang integrasi islam dan sains yang dengan sabar membimbing penulis.
6. Teman-teman yang bekerja di laboratorium mikrobiologi yang telah berjuang bersama dan banyak membantu dalam proses penelitian khususnya Farida Qudsiyah.
7. Teman-teman Wolves Biologi 2017, Biologi C 2017 serta M. Kholilur Rahman dan Sandra Rafika Devi yang selalu memberikan semangat dan doa kepada penulis untuk menyelesaikan studi dengan baik.

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Icharizky Chrismonita  
NIM : 17620093  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil tiruan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 30 November 2021

Yang membuat Pernyataan



Icharizky Chrismonita  
NIM.17620093

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

## MOTTO

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

**Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan (QS. Al-Insyirah: 6)**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI  
AUSTRALIA (*Psidium guajava* L) TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae*  
SECARA IN VITRO**

Icharizky Chrismonita, Prilya Dewi Fitriasari, dan M.Imamuddin

**ABSTRAK**

Disentri atau shigellosis merupakan jenis penyakit diare akut dengan feses cair yang bercampur dengan lendir dan darah yang disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*. Pengobatan disentri basiler dilakukan dengan pemberian antibiotik. *Shigella dysenteriae* telah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik seperti trimethoprim-sulfamethoxazole, kloramfenikol, dan ampicilin. Solusi alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah dengan memanfaatkan senyawa aktif dari daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam daun jambu biji australia dan aktivitas antibakterinya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis dengan uji lanjut Mann Whitney pada tingkat kepercayaan 95%. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dengan pelarut etanol 70%. Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi (Kirby-bauer) dan microdilution tube (uji KHM dan uji KBM). Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol 70% daun jambu biji australia mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tannin, dan saponin. Kadar total tannin sebesar 18,62 mgTAE/g dan kadar total flavonoid sebesar 117,05 mgQE/g. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) ditunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *S.dysenteriae* dengan rata-rata tertinggi  $15,95 \pm 0,52$  mm dan terendah  $10,10 \pm 3,24$  mm. Nilai KHM diperoleh pada konsentrasi 2,5% dengan jumlah sel  $5,4 \times 10^3$  CFU/mL dan nilai KBM diperoleh pada konsentrasi 10%.

Kata kunci: Antibakteri, Daun jambu biji australia, *Shigella dysenteriae*

**ANTI-BACTERIAL ACTIVITY OF AUSTRALIAN GUAVA (*Psidium guajava L.*)  
LEAVES EXTRACT AGAINST *Shigella dysenteriae* BACTERIA IN VITRO**

**Icharizky Chrismonita, Prilya Dewi Fitriasari, and M.Imamuddin**

**ABSTRACT**

Dysentery or shigellosis is a type of acute diarrheal disease with liquid feces mixed with mucus and blood caused by the bacterium *Shigella dysenteriae*. Bacillary dysentery is treated with antibiotics. *Shigella dysenteriae* has developed resistance to several antibiotics such as trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol, and ampicillin. An alternative solution to overcome this problem is to utilize the active compound from the leaves of guava australia (*Psidium guajava L.*) as an antibacterial. The purpose of this study was to determine the active compounds contained in Australian guava leaves and their antibacterial activity. This research is a laboratory experimental research with Posttest Only Control Group Design. Data analysis used Kruskal-Wallis test with Mann Whitney further test at 95% confidence level. The extraction method used is maceration with 70% ethanol as solvent. Antimicrobial activity test was carried out by diffusion method (Kirby-baurer) and microdilution tube (MIC test and MBC test). The results of phytochemical screening showed that 70% ethanol extract of Australian guava leaves contained active compounds such as flavonoids, tannins, and saponins. The total tannin content was 18.62 mgTAE/g and the total flavonoid content was 117.05 mgQE/g. The antibacterial activity of the ethanolic extract of Australian guava leaves (*Psidium guajava L.*) was shown to be inhibitory against *S.dysenteriae* bacteria with the highest average being  $15.95 \pm 0.52$  mm and the lowest being  $10.10 \pm 3.24$  mm. The MIC value was obtained at a concentration of 2.5% with a cell count of  $54 \times 10^2$  CFU/mL and the MBC value was obtained at a concentration of 10%.

Keywords: Antibacterial, Australian guava leaves, *Shigella dysenteriae*

# نشاط مضاد البكتيريا لمستخلص الإيثانول لورقة الجوافة الأسترالية (*Psidium guajava* L) على

بكتيريا *Shigella dysenteriae* IN VITRO بشكل

إيجا رزقي كرسونيتا ، بريليا ديوبي فطرياساري ، محمد إمام الدين

## الملخص

الزحار أو *shigellosis* هو نوع من أمراض الإسهال الحاد المصحوب ببراز سائل ممزوج بالمخاط والدم بسبب بكتيريا الشيفغيلة الزهارية. يعالج الزحار العصوي بالمضاد الحيوي. خضعت الشيفغيلة الزهارية مقاومة لبعض المضادات الحيوية مثل *sulfamethoxazo-trimethoprim* و *ampicilin*. الحل البديل للتغلب على هذه المشكلة هو استخدام المركب الفعال من ورقة الجوافة الأسترالية ( *Psidium guajava* L.) كالمضاد للبكتيريا. يهدف هذا البحث إلى وصف المركبات النشطة الموجودة في أوراق الجوافة الأسترالية ومدى نشاط المضاد للبكتيريا. هذا البحث عبارة عن البحث التجاريي المعملي مع تصميم Posttest Only Control Group مع الاختبار الإضافي Mann Whitney بمستوى الاعتقاد 95%. طريقة الاستخلاص المستخدمة هي النقع بنسبة 70% من مذيب الإيثانول. إجراء اختبار النشاط لمضاد الميكروبات باستخدام طريقة الانتشار (Kirby-baurer) وأنبوب *microdilution* (اختبار KHM واختبار KBM). أظهرت نتائج الفحص الكيميائي النباتي أن مستخلص الإيثانول 70% من ورقة الجوافة الأسترالية يحتوي على المركبات النشطة مثل *flavonoid* و *tannin* و *saponin*. بلغ مجموع *tannin* 18.62 ملigram TAE/Gram وقدر مجموع *flavonoid* 117.05 QE/Gram. يدل نشاط مضاد البكتيريا لمستخلص الإيثانول لورقة الجوافة الأسترالية (*Psidium guajava* L) إلى أن هناك تأثير مثبت على بكتيريا الشيفغيلة الزهارية بأعلى متوسط  $15.95 \pm 0.52$  مليمتر وأقلها  $10.10 \pm 3.24$  مليمتر. تكتسب قيمة KHM بتركيز 2.5٪ مع عدد خلايا  $54 \times 10^2$  CFU / mL و تكتسب قيمة KBM بتركيز 10٪.

الكلمات المفتاحية: المضاد للبكتيريا ، ورقة الجوافة الأسترالية ، الشيفغيلة الزهارية

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Wr. Wb.*

*Bismillahirrohmanirrohim*, Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro”. Tidak lupa shalawat dan salam penulis panjatkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakan diinul islam yang terpatri hingga akhirul zaman Aamiin.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberi dorongan dan bimbingan sampai terselesaiannya tugas akhir ini khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H.M.Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Kaprodi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc dan Dr. M. Imamuddin, Lc., M.A selaku dosen pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga terselesaiannya tugas akhir ini.
5. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
6. Seluruh dosen dan laboran di program studi biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang dengan setia menemani dan membantu penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.

7. Ayah dan Ibuku serta segenap keluarga besar tercinta yang telah memberikan doa dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan program studi.
8. Terimakasih kepada teman-teman biologi angkatan 2017 yang telah memberikan semangat.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis menjadi pahala dan semoga mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis dengan baik dan cermat, apabila terdapat kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

*Wassalamualaikum Wr. Wb.*

Malang, 30 November 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....	vii
MOTTO .....	viii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT .....	x
الملخص .....	xi
KATA PENGANTAR .....	xii
DAFTAR ISI .....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xix
DAFTAR SINGKATAN .....	xx
BAB I PENDAHULUAN .....	21
1.1 Latar Belakang .....	21
1.2 Rumusan Masalah .....	25
1.3 Tujuan .....	25
1.4 Hipotesis .....	25
1.5 Manfaat Penelitian .....	26
1.6 Batasan Masalah .....	26
BAB II KAJIAN PUSTAKA .....	28
2.1 Jambu Biji Australia ( <i>Psidium guajava</i> L.) .....	28
2.1.2 Manfaat Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> L.) .....	29
2.1.3 Fitokimia .....	30
2.2 <i>Shigella dysenteriae</i> .....	34
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi .....	34
2.2.2 Struktur Antigen .....	35

2.2.3 Toksin .....	36
2.3 Disentri Basiler.....	36
2.3.1 Definisi.....	36
2.3.2 Epidemiologi.....	37
2.3.3 Patogenesis dan Patologi .....	37
2.3.4 Tanda Klinis.....	39
2.3.5 Pencegahan, dan Pengobatan.....	39
2.4 Antimikroba.....	40
2.4.1 Aktivitas Antimikroba .....	40
2.4.2 Mekanisme Kerja Antimikroba .....	41
2.5 Uji Antimikroba .....	44
2.5.1 Metode Difusi Cakram.....	44
2.5.2 Metode Dilusi .....	44
1. Dilusi Cair .....	45
2. Dilusi Agar .....	45
2.6 Metode Ekstraksi .....	46
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>48</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	48
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	48
3.3 Variabel Penelitian .....	48
3.3.1 Variabel Bebas.....	48
3.3.2 Variabel Terikat .....	48
3.3.3 Variabel Terkendali .....	48
3.4 Alat dan Bahan .....	49
3.4.1 Alat.....	49
3.4.2 Bahan .....	49
3.5 Prosedur Penelitian.....	49
3.5.1 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji Australia ( <i>Psidium guajava L.</i> ). 49	49
3.5.1.1 Preparasi Sampel.....	49
3.5.1.2 Proses Ekstraksi .....	49
3.5.2 Uji Kualitatif Senyawa Fitokimia.....	50
3.5.2.1 Identifikasi Flavonoid .....	50

3.5.2.2 Identifikasi Tanin .....	50
3.5.2.3 Identifikasi Saponin .....	50
3.5.2.4 Identifikasi Alkaloid .....	50
3.5.3 Penentuan Kadar Senyawa Fitokimia.....	51
3.5.3.1 Penentuan Kadar Tanin .....	51
3.5.3.2 Penentuan Kadar Flavonoid .....	51
3.5.4 Pengenceran .....	52
3.5.5 Pembuatan Larutan Ciprofloxacin .....	52
3.5.6 Uji Antimikroba.....	53
3.5.6.1 Sterilisasi Alat.....	53
3.5.6.2 Pembuatan Media.....	53
3.5.6.3 Peremajaan Biakan Bakteri .....	54
3.5.6.4 Pembuatan Larutan <i>McFarland</i> .....	54
3.5.6.5 Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....	54
3.5.6.6 Uji Zona Hambat.....	55
3.5.6.7 Uji KHM dan Uji KBM .....	56
3.6 Analisis Data .....	57
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>58</b>
4.1 Skrining Fitokimia.....	58
4.2 Aktivitas Antimikroba Berdasarkan Uji Kirby-baurer (Uji Zona Hambat) .....	64
4.3 Aktivitas Antimikroba Berdasarkan <i>Microdilution Test</i> (Uji KHM & Uji KBM).....	70
4.3.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	70
4.3.2 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).....	72
4.4 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> Berdasarkan Sudut Pandang Islam.....	75
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>79</b>
5.1 Kesimpulan.....	79
5.2 Saran .....	79
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>80</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>90</b>

## **DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
2.1. Skrining Fitokimia Daun Jambu biji Australia ( <i>Psidium guajava L.</i> ) .....	31
3.1. Pengenceran Ekstrak .....	52
3.2. Kategori Penghambatan Pertumbuhan Mikroba .....	56
4.1 Hasil Ekstraksi Daun Jambu Biji Australia.....	58
4.2. Hasil Skrining Fitokimia Secara Kualitatif .....	59
4.3. Hasil Pengujian Zona Hambat ( <i>Kirby-baurer</i> ) .....	64
4.4. Hasil Uji KHM Secara Kualitatif ( <i>Microdilution Test</i> ) .....	70
4.5. Hasil Perhitungan Cawan ( <i>Total Plate Count</i> ) .....	73

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
2.1. Tanaman Jambu Biji Australia.....	29
2.2. Struktur Dasar Senyawa Flavonoid.....	32
2.3. Ikatan Senyawa Tanin Dengan Protein Sel Bakteri. ....	33
2.4. Struktur Dasar Saponin. ....	34
2.5. Struktur Dasar Alkaloid. ....	34
2.6. Proses Infeksi Dinding Usus Oleh Shigella. ....	39
2.7. Penghambatan Sintesis Dinding Sel. ....	41
2.8. Penghambatan Fungsi Membran Sel.....	42
2.9. Penghambatan Sintesis Protein .....	43
2.10. Mekanisme Kerja Antibakteri Pada Sel Bakteri. ....	44
3.1. Pembuatan Suspensi Mikroba.....	55
3.2. Peletakan Kertas Cakram Pada Cawan Petri.....	56
4.1. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia.....	65
4.2. <i>Total Plate Count (TPC)</i> .....	73

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Rancangan Penelitian .....	90
Lampiran 2. Rumus-rumus .....	91
Lampiran 3. Hasil Ekstraksi.....	93
Lampiran 4. Gambar Data Hasil Uji Fitokimia Secara Kualitatif.....	93
Lampiran 5. Hasil Pengukuran Absorbansi Asam Tanat .....	94
Lampiran 6. Hasil Pengukuran Absorbansi Quercetin.....	95
Lampiran 7. Diameter Zona Hambat .....	96
Lampiran 8. Uji Normalitas Data Zona Hambat.....	97
Lampiran 9. Uji Homogenitas Data Zona Hambat .....	97
Lampiran 10. Uji <i>Kruskal-Wallis</i> .....	98
Lampiran 11. Uji <i>Mann-Whitney</i> .....	98
Lampiran 12. Gambar Data Hasil Uji Microdilution Tube.....	98
Lampiran 13. Gambar Data <i>Total Plate Count</i> .....	100
Lampiran 14. Gambar Dokumentasi Penelitian .....	102
Lampiran 15. Lembar Konsultasi.....	107
Lampiran 16. Lembar Cek Plagiasi.....	109

## **DAFTAR SINGKATAN**

<b>Simbol/singkat</b>	<b>Keterangan</b>
nm	nanometer
mm	milimeter
TAE	<i>Tannic Acid Equivalent</i>
QE	<i>Quercetin Equivalent</i>
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
MHB	<i>Mueller Hinton Broth</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Diare diartikan sebagai buang air besar dengan feses yang cair lebih dari tiga kali dalam 24 jam. Feses dapat disertai dengan atau tanpa lendir, darah, dan nanah. Penyakit diare yang sebagian besar diakibatkan oleh infeksi bakteri merupakan penyebab kematian nomor dua di dunia sebanyak lima juta orang setiap tahun (Rohilla, 2010). Diare menjadi masalah kesehatan utama yang mengakibatkan morbiditas dan mortalitas pada anak di bawah 5 tahun, sekitar 10% diare yang terjadi adalah diare berdarah atau disentri (Abdullah *et al.*, 2012; Yusuf, 2011). Disentri merupakan jenis penyakit diare akut dengan feses cair yang bercampur dengan lendir dan darah. Hal ini terjadi karena bakteri penyebab disentri menembus dinding kolon dan menyebabkan feses yang melewati kolon berjalan dengan cepat tanpa adanya proses penyerapan air (Tarigan, 2018).

Berdasarkan profil kesehatan Indonesia tahun 2018, Indonesia mengalami kejadian luar biasa (KLB) diare sebanyak 10 kali yang tersebar di beberapa kabupaten atau kota dengan jumlah penderita sekitar 756 orang dan jumlah kematian 36 orang (CFR 4,6%). Hasil rekapitulasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan bahwa angka kematian atau *case fatality rate* (CFR) diare dari tahun 2013 hingga 2018 masih cukup tinggi ( $>1\%$ ). Padahal, angka kematian atau CFR saat KLB diare diharapkan  $<1\%$ . Diare menyumbang angka morbiditas sebesar 20% pada kelompok umur satu sampai lima tahun dari tahun 2013 hingga 2018 (Kemenkes RI, 2019).

Diare berdarah atau disentri basiler ini berasal dari bakteri genus *Shigella* (Bangkele & Greis, 2015). *Shigella spp.* dibagi menjadi empat spesies, yaitu *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, dan *Shigella sonnei* (Nafianti & Sinuhaji, 2005). *Shigella dysenteriae* dan *Shigella boydii* merupakan penyebab disentri basiler di negara berkembang dengan kebersihan dan sanitasi yang buruk (Prihantoro *et al.*, 2006). Perbedaan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan *E.coli* yaitu *S.dysenteriae* dapat menyebabkan infeksi dengan dosis yang lebih rendah dibandingkan *E.coli* yaitu  $10^3$  sedangkan bakteri *E.coli* dengan dosis

sebesar  $10^6$ - $10^9$ . Selain itu, *S.dysenteriae* memiliki kemampuan untuk membentuk proteksi terhadap aktivitas antibakteri (Silviani & Utomo, 2017). *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri patogen pada usus yang bersifat gram negatif, berbentuk batang pendek, tidak berspora, tidak berflagel, mempunyai kapsul, dan mempunyai dua jenis toksin yaitu endotoksin dan eksotoksin (Radji, 2009). Toksin shiga yang dihasilkan oleh *S.dysenteriae* menimbulkan kerusakan sel. Gejala sistemik yang timbul dari proses patologis antara lain yaitu demam, nyeri perut, rasa lemah, feses berdarah dan berlendir (Zein *et al.*, 2004).

Pengobatan disentri basiler yang diakibatkan oleh bakteri *Shigella* sp. dilakukan dengan pemberian antibiotik (Sari *et al.*, 2018). Berdasarkan pedoman WHO 2005, ciprofloxacin direkomendasikan sebagai pengobatan pilihan pertama untuk shigellosis, sedangkan antimikroba pivmecillinam dan ceftriaxone digunakan apabila strain lokal *Shigella* resisten terhadap ciprofloxacin (P. Williams & Berkley, 2016). Ciprofloxacin merupakan antibiotik dari golongan fluoroquinolone yang bekerja secara bakterisidal (Thai *et al.*, 2021). Secara umum, mekanisme kerja antibiotik dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan bakterisidal (membunuh bakteri) (R. H. Pratiwi, 2017). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten sehingga pengobatan terhadap infeksi menjadi tidak efisien (Amalia *et al.*, 2016). Resistensi antibiotik sering terjadi di dunia saat penggunaan antibiotik (Hussen *et al.*, 2019), bahkan bakteri *Shigella* sp. resisten terhadap beberapa antibiotik diantaranya yaitu trimethoprim-sulfamethoxazole, kloramfenikol dan ampicilin (Riedel *et al.*, 2019; P. Williams & Berkley, 2016).

Solusi alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah dengan menemukan senyawa antibiotik baru yang belum mengalami resistensi. Senyawa ini dapat diperoleh dari tanaman (Amalia *et al.*, 2016). Saat ini, tanaman obat semakin banyak digunakan karena murah, relatif lebih aman, mudah didapatkan, tidak menimbulkan resistensi, dan tidak berbahaya untuk lingkungan sekitar (Sine & Fallo, 2016). Tanaman herbal yang sudah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat diare adalah tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) (Fadiah *et al.*, 2014; Fratiwi, 2015). Jambu biji (*P. guajava*) merupakan tanaman yang mempunyai banyak khasiat terutama pada daunnya antara lain sebagai antidiare,

antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba (Handayani *et al.*, 2017; Juliantoni & Mufrod, 2013). Hal tersebut merupakan kelebihan tumbuhan yang telah diberikan oleh Allah SWT. sebagai bentuk kekuasaan-Nya dan agar dimanfaatkan oleh manusia dengan baik. Hal tersebut sejalan dengan firman Allah yaitu pada surat Ash-Syu'ara (26) ayat 7 yang berbunyi:

أَوْلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كُمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ رَوْحٍ كَرِيمٍ

Artinya: “*Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?*”

Menurut tafsir *Fi Zhilalil-Qur'an* pada surah Ash-Syu'ara (26) ayat 7, tanaman-tanaman itu mulia dengan segala kehidupan di dalamnya yang berasal dari Allah Yang Mahamulia. Sebagai manusia hendaknya menerima dan merespons ciptaan Allah dengan sikap yang memuliakan, memperhatikan, dan memperhitungkannya, bukan dengan melalaikan, menghinakan, dan meremehkannya (Quthb, 2004).

Ayat diatas dapat disimpulkan bahwa Allah SWT. menyuruh manusia untuk berfikir bahwa segala sesuatu yang diciptakan di bumi mempunyai tujuan. Seperti halnya Allah telah menciptakan berbagai macam jenis tumbuh-tumbuhan dengan kelebihan masing-masing yang mempunyai banyak manfaat bagi manusia. Salah satunya adalah daun jambu biji yang sudah lama dimanfaatkan sebagai alternatif obat herbal yang bermanfaat untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Darsono & Artemisia, 2003).

Tanaman jambu biji banyak dijumpai di Indonesia dengan berbagai macam jenis, satu diantaranya yaitu jambu biji australia. Jambu biji australia merupakan tumbuhan yang tumbuh alami di daerah tropis dan subtropis dengan ciri khusus yaitu seluruh bagian tumbuhan berwarna merah kecoklatan (Ahmad & Hidayati, 2018; Haryadi & Hidayati, 2018). Kandungan senyawa aktif daun jambu biji australia yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba yaitu tannin, flavonoid, saponin, alkaloid, dan terpenoid (Nofita *et al.*, 2020). Penelitian oleh Stella & Siregar (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji australia

memiliki total flavonoid tertinggi yaitu 99,52 mg QE/g dibandingkan ekstrak etanol daun jambu kristal (29,22 mg QE/g) dan ekstrak etanol daun jambu sukun merah (31,63 mg QE/g).

Senyawa bioaktif yang digunakan sebagai parameter (fenolik dan flavonoid) bersifat polar sehingga pelarut yang digunakan harus bersifat polar (Handarni *et al.*, 2020). Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70%, karena etanol bersifat polar dan mempunyai kemampuan untuk mengekstrak senyawa polar seperti flavonoid, saponin, dan tannin lebih banyak (Saputri *et al.*, 2019). Etanol 70% mempunyai polaritas yang lebih tinggi dibandingkan dengan etanol murni (Tiwari *et al.*, 2011). Selain itu, etanol juga memiliki beberapa keuntungan antara lain bersifat netral, tidak beracun, dapat bercampur dengan air, dan menetralkan enzim-enzim yang dapat merusak metabolit sekunder (Wicaksono & Ulfah, 2017). Ekstrak etanol daun jambu biji menunjukkan aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus mutans* (Girsang *et al.*, 2019).

Penelitian Qonita *et al.* (2019), ekstrak daun jambu biji memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *Vibrio cholera* dengan diameter zona hambat 6,43 mm hingga 8,17 mm pada konsentrasi 10%. Berdasarkan penelitian Aulia *et al.* (2020), ekstrak etanol daun jambu biji mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi* pada konsentrasi 6,25% dan 50% dengan diameter zona hambat yang terbentuk berturut-turut 6,60 mm dan 14,99 mm. Penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak yang mengacu pada penelitian Imran *et al.* (2018) dan Natali *et al.* (2021) dengan modifikasi yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Berdasarkan Imran *et al.* (2018) konsentrasi yang digunakan untuk uji yaitu 10%, 20%, 30%, dan 40%. Ekstrak etanol daun jambu biji pada konsentrasi 10% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella pullorum* dengan diameter zona hambat 13,6 mm dan zona hambat tertinggi terbentuk pada konsentrasi 40% yaitu 19 mm. Penelitian Natali *et al.* (2021) menunjukkan ekstrak etanol daun jambu biji mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan diameter zona hambat 13 mm pada konsentrasi 100%.

Aktivitas antibakteri dapat diuji melalui beberapa metode, antara lain metode difusi kertas cakram (*Kirby-Baurer*) dan metode *microdilution test* (uji KHM dan KBM). Dikarenakan daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) memiliki kandungan senyawa aktif dengan aktivitas antibakteri dan masih jarang penelitian terhadap jambu biji Australia serta bakteri *Shigella dysenteriae*, maka penting dilakukan penelitian untuk menguji potensi antibakteri daun jambu biji Australia terhadap bakteri *S. dysenteriae*.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apa kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) berdasarkan uji skrining fitokimia?
2. Bagaimana nilai zona hambat dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae*?
3. Bagaimana nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui metabolit sekunder ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) berdasarkan uji skrining fitokimia.
2. Untuk mengetahui nilai zona hambat dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae*.
3. Untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) terdapat metabolit sekunder yang berbeda.

2. Ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari adanya penelitian ini adalah sebagai sumber informasi secara ilmiah bagi mahasiswa, peneliti, dan masyarakat bahwa tanaman jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) terutama bagian daun dapat digunakan sebagai kandidat obat herbal untuk mengobati disentri basiler yang disebabkan oleh *Shigella dysenteriae*.

### **1.6 Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Sampel tumbuhan yang digunakan yaitu daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) diambil dari Desa Kromengan, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang, Jawa Timur.
2. Isolat mikroba yang digunakan adalah *Shigella dysenteriae* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Ekstraksi metabolit sekunder menggunakan metode maserasi dengan pelarut yang digunakan yakni etanol 70%.
4. Parameter yang digunakan untuk menguji kandungan metabolit sekunder yaitu uji skrining fitokimia kualitatif meliputi identifikasi flavonoid, tannin, alkaloid, dan saponin.
5. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dengan menggunakan dua metode yaitu metode difusi cakram (diameter zona hambat) dan metode *Microdilution Test* (uji KHM dan uji KBM). Uji KHM dilihat dari tingkat kekeruhan dari setiap perlakuan. Uji KBM dilakukan untuk konfirmasi jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada cawan petri (*Total Plate Count*).
6. Konsentrasi ekstrak daun jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.
7. Konsentrasi ekstrak daun jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dengan metode *Microdilution*

*Test* (uji KHM dan uji KBM) yaitu 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,3125%, 0,15625%, 0,078125%.

## **BAB II**

### **KAJIAN PUSTAKA**

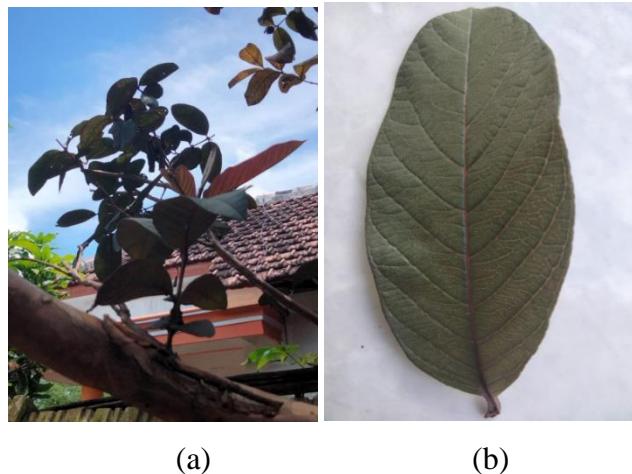
#### **2.1 Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.)**

##### **2.1.1 Morfologi dan Taksonomi**

Jambu biji australia mempunyai ciri khusus yaitu seluruh bagian tumbuhan berwarna merah kecoklatan (Haryadi & Hidayati, 2018). Jambu biji australia tergolong dalam tanaman perdu yang memiliki tinggi 3-7 meter dengan batang tumbuh tegak, memiliki percabangan dan ranting (Febryana, 2020). Daun jambu biji australia berbentuk bulat memanjang dengan ukuran 12 sampai 13 cm dan lebar 6 sampai 7 cm (Parimin, 2007), berjenis daun tunggal dengan ujung daun tumpul, pangkal membulat, tepi rata berhadapan, dan tulang daun menyirip. Bunga merupakan bunga tunggal dengan bentuk seperti corong yang terletak di bagian ketiak daun. Mahkota bunga memiliki panjang ±1,5 cm dengan bentuk bulat telur (Gambar 2.1). Buah tipe buni dengan bentuk bulat telur, berbiji kecil dan keras (Febryana, 2020).

Tanaman jambu biji australia bisa tumbuh pada daerah tropis dan subtropis di dataran rendah hingga dataran tinggi pada ketinggian sampai 1000 mdpl dengan kondisi penyinaran terus sepanjang hari dan curah hujan antara 1000-2000 mm/tahun (Haryadi & Hidayati, 2018; Rochmasari, 2011). Menurut Kamath *et al.* (2008), tanaman jambu biji tumbuh subur di daerah tropis karena mudah berkembang biak dan bisa tumbuh di berbagai jenis tanah. Klasifikasi tanaman jambu biji australia adalah sebagai berikut (Parimin, 2007):

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Ordo	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: Psidium
Spesies	: <i>Psidium guajava</i> L.



(a)

(b)

**Gambar 2.1 (a) Tumbuhan jambu biji australia, (b) Morfologi daun jambu biji australia (dokumen pribadi).**

### 2.1.2 Manfaat Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Allah SWT berfirman dalam QS. Ali Imran ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قَيَاماً وَقُعُوداً وَعَلَى جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خُلُقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا حَكَفَتْ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), ‘Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka.’”

Ayat di atas mengisyaratkan bahwa Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini mengandung hikmah yang mendalam bagi umat yang berfikir. Seperti halnya dalam penciptaan berbagai macam tanaman dengan kandungan senyawa metabolit sekunder didalamnya yang bermanfaat bagi manusia. Berbagai macam tumbuhan yang telah Allah SWT. tumbuhkan di bumi, sebagaimana firman Allah swt. dalam QS. An-Naba ayat 14-16:

وَآتَنَا مِنَ الْمُعْصِرَاتِ مَاءً ثَجَاجاً - ١٤ لَئِنْخْرَجَ بِهِ حَبَّا وَنَبَاتاً - ١٥ وَجَنَّتِ الْأَفَافِ - ١٦

Artinya: “dan Kami turunkan dari awan, air hujan yang tercurah dengan hebatnya, untuk Kami tumbuhkan dengan air itu biji-bijian dan tanam-tanaman, dan kebun-kebun yang rindang.”

Allah menurunkan air hujan dari awan yang memberi manfaat, terutama untuk menumbuhkan tumbuhan-tumbuhan yang berguna bagi manusia. Dalam ayat ini, Allah menyebut bermacam-macam tanaman yang tumbuh di bumi, di antaranya ada yang mempunyai batang dan ada yang tidak. Ada yang menghasilkan buah dan ada yang menghasilkan biji-bijian untuk bahan makanan manusia (Kemenag, 2021). Salah satu manfaat yang dapat diambil dari tumbuhan adalah penggunaan bagian-bagian tertentu dari tumbuhan sebagai obat seperti bagian daun pada tanaman jambu biji australia. Rasulullah SAW bersabda:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزُلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً، جَهَلَةٌ مَنْ جَهَلَهُ وَعَمِيلَةٌ مَنْ عَمِيلَهُ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersama. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.” (HR. Ahmad 1/377, 413, dan 453. Dan hadist ini dishahihkan dalam Ash-Shahihah no 451).

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, sakit gigi, dan demam berdarah (Yani *et al.*, 2020). Ekstrak dari daun jambu biji (*P. guajava*) dilaporkan mempunyai sifat antimikroba (Mushtaq *et al.*, 2014). Hal ini disebabkan adanya senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun jambu biji yang berperan sebagai antimikroba seperti golongan fenolik, flavonoid, karenoid, triterpene, terpenoid, tannin, saponin, dan alkaloid (Handarni *et al.*, 2020; Ihsan *et al.*, 2020; Qonita *et al.*, 2019). Selain itu, terdapat juga kandungan minyak atsiri yang kaya dengan sineol (Handayani, dkk., 2017). Menurut Girsang *et al.* (2019), aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji ditunjukkan melalui penghambatan pertumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus mutans*.

### **2.1.3 Fitokimia**

Fitokimia merupakan ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi senyawa kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan (Julianto, 2019). Metabolit sekunder pada tumbuhan bersifat spesifik dalam hal fungsi. Biosintesis metabolit sekunder terjadi di seluruh organ tumbuhan (Anggraito *et al.*, 2018). Senyawa metabolit

sekunder adalah sumber bahan kimia alami yang dapat ditemukan di alam yang berkhasiat untuk obat-obatan, pestisida, dan antibakteri patogen (Darminto *et al.*, 2009). Hasil analisis fitokimia ekstrak daun jambu biji yang dilakukan oleh Hirudkar *et al.* (2019) ditemukan senyawa flavonoid, fenol, tannin, alkaloid, steroid, dan karbohidrat dalam jumlah besar sedangkan saponin ditemukan dalam jumlah yang sedikit. Senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antibakteri antara lain yaitu tannin, triterpenoid, saponin, dan flavonoid khususnya quercetin (Handarni *et al.*, 2020; Kamath *et al.*, 2008).

Penelitian Febryana (2020), skrining fitokimia pada daun jambu biji Australia dengan menggunakan pelarut berbeda memperoleh hasil berbeda. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70% dan methanol 70%. Metabolit sekunder yang ditemukan pada daun jambu biji australia yaitu flavonoid, tannin, saponin, alkaloid, dan terpenoid (Tabel 2.1).

**Tabel 2.1. Skrining Fitokimia Daun Jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) Menggunakan Pelarut Etanol 70% dan Metanol 70%**

Fitokimia	Etanol 70%	Methanol 70%
Flavonoid	+++	+++
Tannin	+++	++
Saponin	++	+
Alkaloid	++	-
Terpenoid	+( Triterpenoid)	-

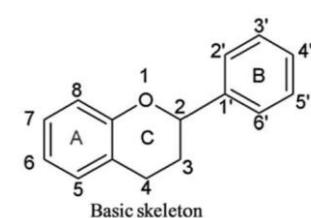
Sumber: Febryana, 2020

Keterangan: +++ = tinggi, ++ = sedang, + = rendah, - = tidak terdapat

Flavonoid merupakan kelompok senyawa polifenol yang banyak ditemukan pada tumbuhan (Zhang *et al.*, 2014). Struktur dasar flavonoid mengandung kerangka bifenil propane, yaitu dua cincin benzene (cincin A dan cincin B) yang dihubungkan oleh tiga rantai karbon yang membentuk cincin heterosiklik dan mengandung oksigen (cincin C) (Biharee *et al.*, 2020) (Gambar 2.2). Flavonoid memiliki beberapa subkelompok yang meliputi chalcones, flavones, flavonol, dan isoflavon (Panche *et al.*, 2016). Quersetin merupakan senyawa turunan flavonoid yang ditemukan dalam daun jambu biji dan berpotensi sebagai antidiare dengan cara menekan pelepasan asetilkolin sehingga menurunkan kontraksi usus akibat

adanya iritasi pada usus yang disebabkan oleh bakteri patogen penyebab diare (Fratiwi, 2015). Selain itu, quersetin juga memiliki kemampuan mengistirahatkan otot intestinum dan menurunkan permeabilitas pembuluh darah pada perut (Ihsan *et al.*, 2020).

Senyawa flavonoid dapat merusak sel bakteri dan denaturasi protein yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri (Handarni *et al.*, 2020). Aktivitas antibakteri flavonoid melalui tiga cara yaitu membunuh bakteri, mengaktifkan antibiotik secara sinergis, dan melemahkan patogenitas bakteri. Selain itu, senyawa flavonoid juga dapat menghentikan sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sel, dan metabolisme energi. Cincin B senyawa flavonoid berperan pada proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk asam basa nukleat yang mengakibatkan sintesis DNA dan RNA terhambat (Xie *et al.*, 2015). Terganggunya fungsi membrane sel oleh senyawa flavonoid terjadi melalui ikatan komplek dengan protein ekstrakseluler yang memiliki sifat larut sehingga dapat menganggu integritas membrane sel bakteri (Rahman *et al.*, 2017).



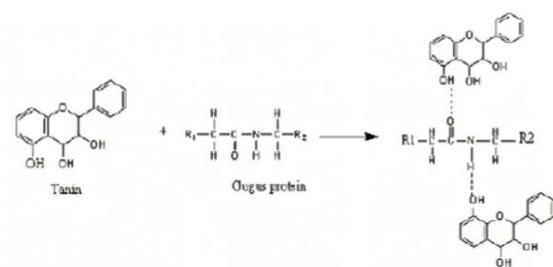
**Gambar 2.2. Struktur dasar senyawa flavonoid** (Panche *et al.*, 2016)

Tanin merupakan senyawa fenolik yang mempunyai rasa pahit dan sepat, dapat bereaksi dengan protein maupun senyawa organik lain yang mengandung asam amino (Julianto, 2019). Penelitian Qonita *et al.* (2019) menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji (*P. guajava*) dipengaruhi oleh kadar tannin dalam daun jambu biji dimana semakin tinggi kadar tannin dalam daun jambu biji maka semakin tinggi juga zona hambat yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan senyawa tannin memiliki aktivitas antibakteri yang diidentifikasi memiliki kemampuan untuk menonaktifkan adhesiion bakteri, menghambat aktivitas enzim, dan menghambat transport protein pada selubung sel. Senyawa tannin juga memiliki sifat sebagai penghelat dengan efek spasmolitik yang dapat

mengekerutkan usus sehingga berkurangnya gerak peristaltik pada usus. Efek spasmolitik ini juga yang mengakibatkan dinding sel bakteri mengkerut sehingga permeabilitas sel bakteri terganggu (Fratiwi, 2015).

Gugus fenol pada tannin digunakan sebagai antibakteri dikarenakan bersifat seperti alkohol antiseptik yang digunakan menjadi komponen antimikroba. Studi pendahuluan yang telah dilaksanakan Mailoa *et al.* (2014) menunjukkan bahwa bakteri gram-negatif dengan konsentrasi ekstrak tannin yang rendah memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan bakteri gram-positif. Hal tersebut terjadi karena bakteri gram-negatif mempunyai dinding sel lebih tipis dibandingkan dengan bakteri gram-positif. Dinding sel bakteri bakteri gram-negatif dengan ketebalan 10-15 nm tersusun atas tiga lapisan yaitu mukopeptida, lipopolisakarida, dan lipoprotein, sedangkan dinding bakteri gram-positif mengandung peptidoglikan mukopeptida dengan ketebalan dinding sel yaitu 25-30 nm.

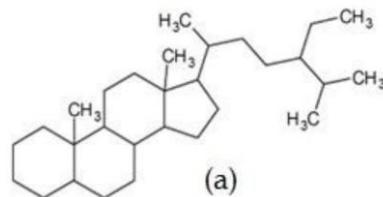
Senyawa tannin dan gugus protein pada sel bakteri membentuk ikatan hidrogen (Gambar 2.3), terbentuknya ikatan hidrogen antara tannin dan protein ini menyebabkan denaturasi protein sehingga metabolisme sel bakteri terganggu. Tannin menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghancurkan membrane plasma sel yang terdiri dari 60% protein dan 40% lipid (berbentuk fosfolipid). Di dalam membran sel, tannin bereaksi membentuk ikatan hidrogen, dan bereaksi dengan fosfolipid yang mengakibatkan membrane sel rusak sehingga terjadi kebocoran metabolit esensial serta menonaktifkan sistem enzim bakteri (Mailoa *et al.*, 2014).



**Gambar 2.3. Ikatan senyawa tanin dengan protein sel bakteri** (Mailoa *et al.*, 2014).

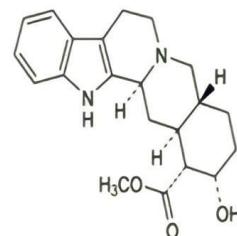
Saponin merupakan jenis glikosida sterol yang mampu menaikkan permeabilitas membrane sehingga terjadi kerusakan sel. Aktivitas antibakteri

saponin dengan cara mengakibatkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri (Sapara & Waworuntu, 2016). Saponin telah dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, khususnya sebagai obat, selain itu saponin juga memiliki sifat fisik, sintetik dan organik yang sangat spesifik. (Handarni *et al.*, 2020). Struktur kimia saponin dapat dilihat pada Gambar 2.4.



**Gambar 2.4. Struktur dasar saponin** (Liem *et al.*, 2013).

Alkaloid merupakan senyawa aktif yang mengandung atom nitrogen basa heterosiklik (Gambar 2.5) (Yuslianti, 2018). Sebagai senyawa antibakteri, alkaloid menghambat sintesis dinding sel (komponen pepditoglikan) yang menyebabkan sel lisis sehingga mengalami kematian (Dwicahyani *et al.*, 2018; D. Pratiwi *et al.*, 2013). Alkaloid juga dikenal sebagai interkalator DNA dan menghambat enzim topoisomerase dalam sel mikroba (Saputri *et al.*, 2019).



**Gambar 2.5. Struktur dasar alkaloid** (Yuslianti, 2018).

## 2.2 *Shigella dysenteriae*

### 2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi

*Shigella* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, tidak memiliki flagel, tidak berspora, bersifat aerobik maupun anerobik fakultatif, tumbuh optimum pada suhu 37°C, koloni melingkar cembung dan transparan dengan tepi rata, diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam (Aini, 2018; Carroll *et al.*, 2016), tergolong dalam family Enterobacteriaceae yang terdiri dari empat spesies yaitu *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, dan *Shigella sonnei* (Williams & Berkley, 2018). Berbagai macam karbohidrat dapat difermentasikan

oleh *Shigella* kecuali laktosa, dan menghasilkan asam tanpa terbentuknya gas (Radji, 2009).

*Shigella dysenteriae* adalah bakteri pathogen pada usus yang bersifat gram negatif dengan ukuran  $0,5\text{-}0,7 \mu\text{m} \times 2\text{-}3 \mu\text{m}$ , berbentuk batang pendek, tidak berspora, tidak berflagel, dapat memiliki kapsul, dan mempunyai dua jenis toksin yaitu endotoksin dan eksotoksin (Radji, 2009). *S.dysenteriae* adalah bakteri penyebab disentri yang paling serius karena membentuk endotoksin yang menyebabkan epidemi parah di daerah tropis dan subtropis (M. Azizah & Ekawati, 2017). Suhu pertumbuhan optimum untuk *S.dysenteriae* adalah  $37^\circ\text{C}$  dan pH optimum 6,4-7,8 (Radji, 2009). Menurut Bergey's (2005), klasifikasi *Shigella dysenteriae* adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Bacteria
Filum	:	Proteobacteria
Kelas	:	Gammaproteobacteria
Ordo	:	Enterobacteriales
Famili	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	Shigella
Spesies	:	<i>Shigella dysenteriae</i>

Daya tahan *S.dysenteriae* terhadap berbagai zat kimia tergolong rendah, hanya mampu bertahan hidup selama 5 jam dalam fenol 0,5% dan selama 1 jam dalam fenol 1%, dan akan mati pada suhu  $55^\circ\text{C}$ . Akan tetapi, bakteri ini dapat bertahan dalam suhu dan kelembaban yang rendah, yaitu selama 2 bulan di dalam lemari es dan selama 2-5 bulan di air laut (Radji, 2009).

## 2.2.2 Struktur Antigen

*Shigella* memiliki pola antigen yang kompleks yaitu antigen O somatik. Antigen O somatik ini merupakan lipopolisakarida yang spesifitas serologisnya bergantung pada polisakarida. Terdapat lebih dari 40 serotype (Riedel *et al.*, 2019), serotype dibedakan berdasarkan komponen minorantigen O. *Shigella dysenteriae* memiliki 10 jenis serotype (Radji, 2009). Berdasarkan pada karakteristik biokimia dan antigen, *Shigella* dibagi menjadi empat serogrup yaitu *S.dysenteriae* (grup A), *S. flexneri* (grup B), *S. boydii* (grup C), dan *S. sonnei* (grup D). Antigen O adalah bagian terluar dari dinding sel lipopolisakarida yang bersifat alkohol dan tahan

panas, bisa terdeteksi melalui aglutinasi bakteri. IgM merupakan antibody utama terhadap antigen O (Riedel *et al.*, 2019).

### **2.2.3 Toksin**

*Shigella dysenteriae* mempunyai dua jenis toksin yaitu endotoksin dan eksotosin (Silviani & Utomo, 2017). Setelah autolisis, semua *Shigella* melepaskan toksik lipopolisakarida yang berkontribusi pada iritasi dinding usus. Protein antigenik yang memicu produksi antitoksin serta mampu mematikan hewan coba disebut eksotosin. *Shigella dysenteriae* memproduksi eksotoksin tidak tahan panas yang memengaruhi usus dan sistem saraf pusat (Carroll *et al.*, 2016). Eksotosin terdiri dari enterotoksin, neurotoksin, dan sitotoksin (Radji, 2009). Enterotoksin LT (termolabil) yang dihasilkan oleh bakteri *S. dysenteriae* mampu menyerang kolon. Enterotoksin memicu sekresi enzim adenilat siklase pada mukosa ileum. Permeabilitas epitel usus meningkat sehingga terjadi peningkatan cairan dalam usus. Hal ini yang menjadi penyebab diare berair (*watery diarrhea*). Toksin ini menembus usus besar dan mengakibatkan disentri (Radji, 2009).

Neurotoksin mengakibatkan rasa sakit yang parah dan infeksi *S. dysenteriae* bersifat fatal diamati dari reaksi susunan saraf pusat (misalnya meningismus, koma) (Carroll *et al.*, 2016). Sitotoksin yang dihasilkan oleh *S. dysenteriae* merupakan suatu proteinpoten yang disebut toksin Shiga dan terdiri atas dua struktur subunit yaitu subunit fungsional dan subunit pengikat. Subunit fungsional dalam sitoplasma mengkatalisis dan menghidrolisis RNA 28S dari subunit 60S ribosom sehingga menghentikan sintesis protein dan terjadi kematian sel. Subunit pengikat adalah glikolipid Gb<sub>3</sub> (globotriaosilseramide) yang berperan sebagai pengikat reseptor seluler tertentu. Pengikatan ini dilanjutkan dengan aktivasi mediator reseptor endositosis dari toksin yang dihasilkan (Nafianti & Sinuhaji, 2005).

## **2.3 Disentri Basiler**

### **2.3.1 Definisi**

Disentri basiler adalah penyakit infeksi yang terjadi di usus besar yang diakibatkan oleh bakteri *Shigella*. Gejala klinisnya ditandai dengan diare akut yang encer (tinja bercampur darah, lendir, dan nanah), umumnya disertai demam, sakit perut, dan tenemus (Bangkele & Greis, 2015).

### **2.3.2 Epidemiologi**

Berdasarkan laporan epidemiologi terdapat 600 ribu dari 140 juta pasien shigellosis diseluruh dunia meninggal setiap tahunnya (Bangkele & Greis, 2015). Tahun 2010 terjadi sekitar 188 juta kasus shigellosis secara global, termasuk 62,3 juta kasus pada anak-anak di bawah 5 tahun (Kotloff et al., 2017). Balita menempati prevalensi tertinggi yaitu 16,7% (Wulandari et al., 2012). Disentri basiler mengakibatkan 29% kematian pada kelompok umur 1-4 tahun (Bangkele & Greis, 2015). Analisis molekuler kuantitatif dari Global Enteric Multicentre Study (GEMS) pada tahun 2016 telah mengidentifikasi peningkatan beban Shigellosis dan melaporkannya sebagai patogen utama dari enam patogen lain yang mengakibatkan diare pada anak-anak (P. Williams & Berkley, 2016).

*Shigella dysenteriae* banyak ditemukan di Amerika Tengah dan Asia Timur, termasuk di Indonesia. Bakteri ini dapat tersebar melalui manusia, baik yang terinfeksi maupun *carrier* (Radji, 2009). *Shigella* disebarluaskan dapat melalui makanan dan minuman, jari atau tangan yang kotor, tinja, dan lalat dari manusia ke manusia (Carroll et al., 2016). Di Indonesia, infeksi sigelosis telah menjadi endemi dan anak-anak yang berusia 1-4 tahun merupakan kelompok yang paling rentan terinfeksi (Radji, 2009).

### **2.3.3 Patogenesis dan Patologi**

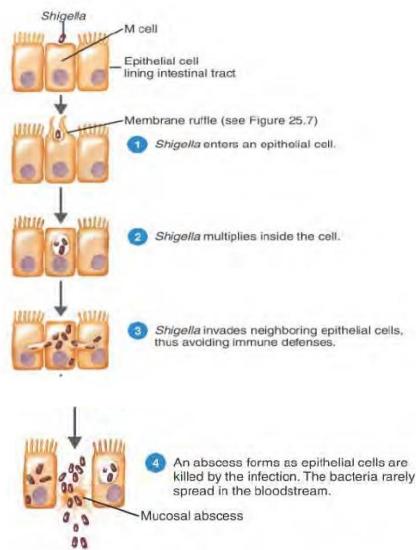
Infeksi *Shigella* terbatas pada saluran pencernaan, jarang terjadi invasi ke aliran darah. Penularan *Shigella* terjadi pada dosis infektif  $10^3$  organisme, melalui sejumlah mekanisme feses/oral, kontak orang ke orang, air yang terinfeksi, atau benda mati yang telah terpapar oleh *Shigella* sedikitnya 10-100 organisme. Setelah terinfeksi, spesies *Shigella* berkembang biak dan menyebabkan perdarahan diare akut dengan menyerang epitel usus besar di mana sitokin proinflamasi dikeluarkan dan terjadi reaksi inflamasi berikutnya (menarik sejumlah sel polimorfonuklear) merusak sel epitel yang melapisi mukosa usus, selanjutnya memungkinkan invasi langsung oleh *Shigella* (Carroll et al., 2016;Williams & Berkley, 2018).

*Shigella dysenteriae* memiliki daya invasi menembus ke dalam sel-sel epitel mukosa usus pada ileum terminal dan kolon. Selanjutnya, *S.dysenteriae* memperbanyak diri yang mengakibatkan mengelupasnya lapisan sel mati sehingga terjadi luka pada mukosa usus. Reaksi infeksi dapat mengakibatkan

demam (Radji, 2009). Invasi sel epitel mukosa (misalnya sel M) diinduksi oleh fagositosis, keluar dari vakuola fagositik, berkembang biak dalam sitoplasma, dan menyebar ke mukosa sel yang berdekatan. Mikroabses pada dinding ileum terminal dan kolon mengakibatkan nekrosis pada selaput lendir, ulserasi superfisial, perdarahan dan terbentuknya pseudomembran di daerah ulserasi yang terdiri atas fibrin, leukosit, sel debris, membran mukosa nekrotik, dan bakteri. Saat penyakit mereda, jaringan granul akan berubah menjadi luka dan membentuk jaringan parut (Carroll *et al.*, 2016) (Gambar 2.6).

Shigella dapat bertahan pada lingkungan asam lambung dan mikrobiota usus untuk mencapai ileum terminal, usus besar, dan rectum, dimana akan menembus lapisan mukosa. Shigella menggunakan berbagai protein efektor bakteri untuk menyerang (misalnya, IpaA-IpaD), mereplikasi, dan menyebar ke seluruh epitel usus (misalnya, VirG/IcsA). Protein ini diinjeksikan ke dalam sitosol sel inang oleh sistem sekresi tipe III (Kotloff *et al.*, 2017). Secara selektif, shigella menempel pada sel M kemudian transcytose ke dalam makrofag. Di dalam makrofag, shigella bergerak dari fagosom menuju sitoplasma dan mengaktifkan sinyal kematian sel (apoptosis) (Ryan, 2018). Setelah menyebabkan kematian makrofag dan menembus sel epitel sekitar, shigella bereplikasi dan menyebar ke seluruh mukosa dengan menginduksi penyusunan ulang sitoskeletal, polimerisasi aktin, dan perubahan lain pada sel epitel (Kotloff *et al.*, 2017; Ryan, 2018).

Respon imun inang yang terjadi yaitu pengerahan neutrofil dan pengeluaran sitokin inflamasi, yang akhirnya mengatasi infeksi dan menyebabkan abses epitel, ulserasi, dan kerusakan. Kemampuan shigella untuk bertahan hidup secara intraseluler dan menghindar dari fagositik bergantung pada efektor yang menekan respons inflamasi dengan menghambat jalur persinyalan pro-inflamasi pada sel inang dan produksi sitokin, serta menurunkan aktivitas sel-B dan sel-T (Kotloff *et al.*, 2017).



**Gambar 2.6. Proses infeksi dinding usus oleh Shigella.** Bakteri menempel pada sel M dari dinding epitel yang terletak di atas patch peyer, dan merupakan daerah yang diadaptasi untuk memfasilitasi transfer antigen melintasi mukosa usus (Tortora *et al.*, 2010).

### 2.3.4 Tanda Klinis

Gejala klinis ditandai dengan infeksi usus akut atau radang usus yang disertai dengan diare, feses bercampur darah, lendir, dan nanah. Sighellosis memiliki masa inkubasi selama 1-7 hari (umumnya 4 hari) (Radji, 2009). Terjadinya diare diakibatkan oleh pengaruh eksotoksin dalam usus kecil. Jika infeksi sudah mencapai usus bawah dan usus besar, tinja semakin banyak disertai lendir dan darah dengan cairan yang sedikit. Dalam 2-5 hari demam dan diare reda secara spontan. Kehilangan air dan elektrolit pada penderita sighellosis dapat menyebabkan dehidrasi, acidosis, dan mungkin kematian (Carroll *et al.*, 2016)

### 2.3.5 Pencegahan, dan Pengobatan

Pencegahan infeksi sighellosis dilakukan dengan beberapa cara sebagai berikut: (1) menjaga kebersihan lingkungan, (2) menjaga kebersihan makanan dan minuman, (3) melindungi makanan dan minuman dari pencemar seperti lalat, (4) melakukan klorinasi air minum, (5) membuang dan mengolah limbah dengan memperhatikan sanitasi lingkungan (Radji, 2009). Ketika manusia menjadi *host pathogenic shigella*, kontrol diarahkan untuk pengurangan organisme dengan cara sebagai berikut: (1) kontrol sanitasi air, makanan, dan pembuangan sampah, (2) desinfektan dan pengisolasi pasien, (3) pendekripsi penyebab dan kasus

subklinis, (4) pengobatan dengan antibiotik pada penderita sigelosis (Carroll *et al.*, 2016).

Pengobatan sigelosis dilakukan dengan pemberian antibiotik, seperti ciprofloxacin, ampicilin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, dan chloramphanecol yang dapat menghambat shigella dan menekan invasi disentri akut serta memperpendek jangka waktu gejala (Carroll *et al.*, 2016). WHO merekomendasikan ciprofloxacin sebagai pilihan pertama untuk mengobati disentri pada anak-anak dan orang dewasa, azitromisin, ceftriaxone, dan pivmecilinam sebagai pengobatan lini kedua (Kotloff *et al.*, 2017).

## 2.4 Antimikroba

### 2.4.1 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba merupakan bahan kimia yang digunakan untuk mengobati penyakit menular dengan menghambat atau membunuh patogen *in vivo* (Engelkirk & Duben-Engelkrik, 2011). Antimikroba sintetik diperoleh di laboratorium dari senyawa organik lainnya melalui reaksi kimia (Talaro & Chess, 2002). Antimikroba yang digunakan dalam pengobatan penyakit yang diakibatkan oleh bakteri patogen disebut antibiotik. Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme (jamur dan bakteri tertentu) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain (Engelkirk & Duben-Engelkrik, 2011). Secara terapeutik, antibiotik menyerang organisme infeksius dan membunuh bakteri lain yang tidak menyebabkan penyakit. Antibiotik dibagi menjadi dua golongan, yaitu bakteriostatik dan bakterisidal (Amin, 2014).

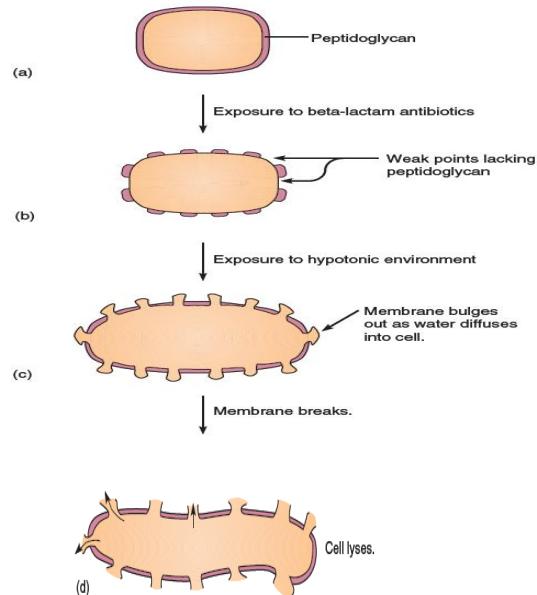
Bakteriostatik merupakan aktivitas antibiotik menghambat perkembangan bakteri. Contoh antibakteri yang bersifat bakteriostatik yaitu tetrasiklin, chloramphenicol, clindamycin, ethambutol, macrolide, trimethoprim, dan sulfonamide. Bakterisidal merupakan antibiotik yang mampu membunuh bakteri dengan menghambat pembentukan dinding sel dan bersifat toksin terhadap sel bakteri. Contoh antibiotik yang bersifat bakterisidal adalah penisilin,  $\beta$ -lactam, metronidazole, aminoglycoside, dan kuinolon (Amin, 2014; R. H. Pratiwi, 2017).

Lingkup mikroorganisme yang dipengaruhi oleh aktivitas antibiotik disebut dengan spektrum kerja antibiotik. Spektrum antibakteri dibedakan menjadi tiga yaitu, spektrum luas, spektrum sempit, dan spektrum terbatas. Antibiotik

dikatakan berspektrum luas apabila efektif melawan prokariota, membunuh atau menghambat berbagai bakteri gram positif maupun gram negatif. Antibiotik yang efektif hanya melawan bakteri gram positif atau gram negative saja dikatakan berspektrum sempit. Dikatakan berspektrum terbatas apabila efektif melawan organisme atau penyakit tunggal (Todar, 2005).

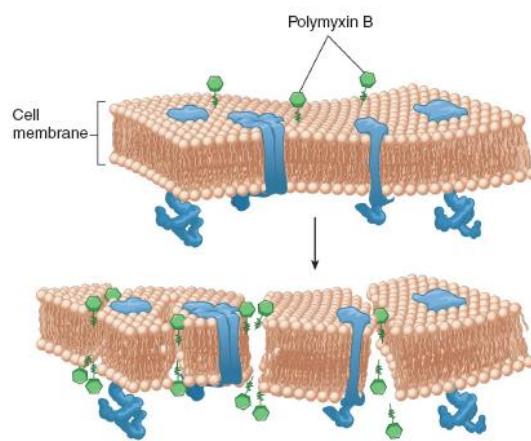
#### 2.4.2 Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme kerja antimikroba melalui beberapa cara antara lain menghambat sintesis dinding sel, menghambat sintesis atau fungsi asam nukleat, menghambat sintesis protein, dan menganggu fungsi membran sel (Talaro & Chess, 2002) (Gambar 2.10). Inhibitor sintesis dinding sel umumnya menghambat beberapa langkah sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri (Todar, 2005). Antibiotik dengan efek ini tergolong dalam bakterisidal karena menyebabkan sel bakteri lisis (Gambar 2.7). Contoh antibiotik yang memiliki mekanisme menghambat sintesis dinding sel adalah penicillin dan cephalosporins. Penicillin dan cephalosporins mengikat dan memblokir peptidase yang mengikat molekul glycan sehingga menganggu sintesis dinding sel (Talaro & Chess, 2015).



**Gambar 2.7. Penghambatan sintesis dinding sel.** (a) sel bakteri terpapar antibiotic  $\beta$ -lactam (cephalosporin), (b) peptidoglikan pada dinding sel bakteri berkurang sehingga terbentuk *weak point* (titik lemah), (c) sel bakteri yang melemah terpapar lingkungan hipotonik sehingga terbentuk tonjolan membran ke luar dinding sel saat air berdifusi masuk dalam sel, (d) sel bakteri lisis (Talaro & Chess, 2002).

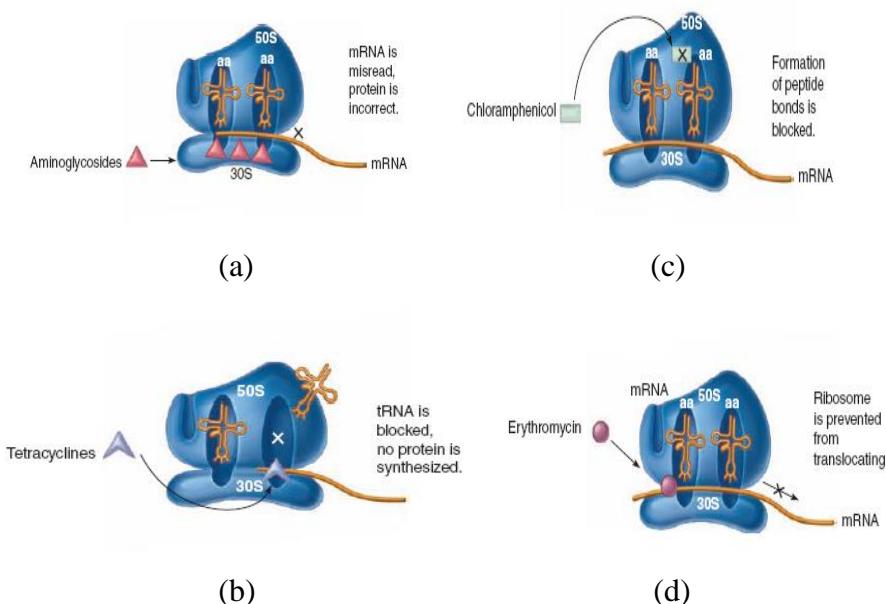
Inhibitor membran sel merusak struktur ataupun mengganggu fungsi membran sel. Integritas sitoplasma dan membrane luar sangat penting bagi bakteri, dan senyawa yang menghambat fungsi membran dapat dengan cepat membunuh sel. Antibiotik yang memiliki mekanisme menghambat fungsi membran sel adalah Polymyxin yang diproduksi oleh *Bacillus polymyxis* (Todar, 2005). Polymyxin berinteraksi dengan membrane fosfolipid menyebabkan kebocoran protein dan basa nitrogen, khususnya pada bakteri gram negatif (Gambar 2.8) (Talaro & Chess, 2015).



**Gambar 2.8. Penghambatan Fungsi membran sel. Polymixin mengikat membrane sel luar dan membentuk bukaan abnormal yang menyebabkan kebocoran dan lisis (Talaro & Chess, 2015).**

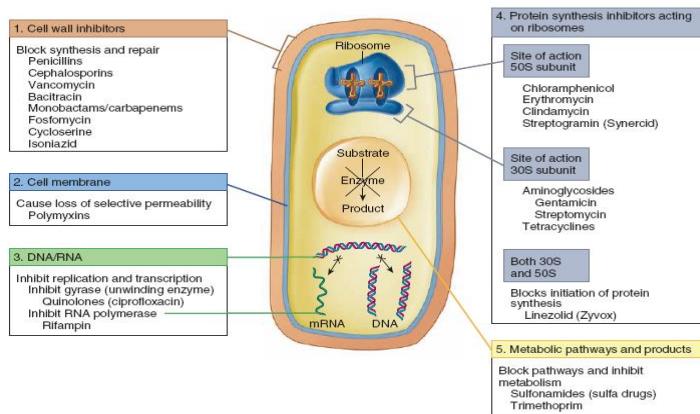
Penghambatan sintesis protein dilakukan dengan cara bereaksi dengan kompleks ribosom-mRNA sel bakteri. Target penghambatan dalam ribosom adalah subunit 30S dan subunit 50S (Talaro & Chess, 2015). Antibiotik yang mempunyai mekanisme menghentikan sintesis protein adalah tetrasiklin, kloramfenikol, makrolida (contohnya eritromisin), dan aminoglikosida (contohnya streptomisin) (Todar, 2005). Aminoglikosida masuk dalam subunit 30S yang menyebabkan kesalahan membaca mRNA sehingga menghasilkan protein abnormal. Tetrasiklin memblokir perlekatan tRNA pada aseptor A dan secara efektif menghentikan sintesis protein. Antibiotik kloramfenikol dan eritromisin menempel pada subunit 50S dan menghambat terbentuknya ikatan peptida

(kloramfenikol) atau perpindahan subunit selama translasi (eritromisin) (Gambar 2.9) (Talaro & Chess, 2015).



**Gambar 2.9. Penghambatan sintesis protein pada ribosom sel bakteri** (a) Aminoglikosida masuk dalam subunit 30S menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA, (b) tetrasiklin melekat pada reseptor A sehingga menghentikan sintesis protein, (c) kloramfenikol menghambat terbentuknya ikatan peptida, (d) eritomisin menghambat proses translasi (Talaro & Chess, 2015).

Antibiotik menghambat sintesis asam nukleat dengan cara memblokir sintesis nukleotida, menghambat replikasi atau menghentikan transkripsi. Beberapa antimikroba menghambat sintesis DNA. Antibiotik quinolones menghambat enzim helikase yang melepas DNA sehingga replikasi dan perbaikan DNA (Talaro & Chess, 2015). Target utama quinolone adalah enzim DNA gyrase yang merupakan anggota kelas topoisomerase tipe II. Enzim ini diperlukan untuk replikasi DNA, transkripsi pada operon tertentu, perbaikan dan rekombinasi. Salah satu contoh antibiotik golongan quinolone adalah ciprofloxacin (Vance-Bryan et al., 1990).



**Gambar 2.10. Mekanisme kerja antibakteri pada sel bakteri** (Talaro & Chess, 2015).

## 2.5 Uji Antimikroba

### 2.5.1 Metode Difusi Cakram

Difusi cakram merupakan metode pengujian aktivitas antimikroba yang sering digunakan pada laboratorium klinis. Keuntungan menggunakan metode difusi cakram adalah sederhana, biaya lebih rendah, mempunyai kemampuan menguji sebagian besar mikroorganisme dan agen antimikroba, serta hasil yang diperoleh mudah untuk dianalisis. Metode difusi cakram juga memiliki kelemahan diantaranya yaitu tidak dapat membedakan efek bakterisidal dan bakteriostatik dari suatu antimikroba, dan tidak tepat untuk menentukan nilai KHM karena tidak dapat menghitung jumlah agen antimikroba yang terdifusi ke dalam media agar (Balouiri *et al.*, 2016).

Prosedur yang dilakukan yaitu dengan inokulasi bakteri uji diatas media agar. Kertas cakram berdiameter 6 mm dimasukkan pada ekstrak lalu diletakkan diatas permukaan media agar. Cawan petri diinkubasi pada suhu yang sesuai. Senyawa antibakteri berdifusi dalam media agar dan pertumbuhan bakteri uji terhambat, kemudian diameter zona hambat diukur (Balouiri *et al.*, 2016).

### 2.5.2 Metode Dilusi

Metode dilusi adalah yang paling tepat digunakan untuk menentukan nilai KHM dan KBM, karena metode ini memperkirakan konsentrasi agen antimikroba yang diuji dalam dilusi agar maupun dilusi cair (makrodilusi dan mikrodilusi). KHM merupakan konsentrasi terendah dari antimikroba yang sepenuhnya dapat

menghambat pertumbuhan mikroba uji, dinyatakan dalam mg/ml atau mg/L. Nilai KHM ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ukuran inokulum, jenis media pertumbuhan, dan persiapan inokulum. KBM merupakan konsentrasi terendah antimikroba yang diperlukan untuk membunuh 99,9% dari inokulum akhir setelah diinkubasi selama 24 jam (Balouiri *et al.*, 2016). Terdapat dua metode dilusi yakni dilusi cair dan dilusi agar (Pratiwi, 2008).

### **1. Dilusi Cair**

Dilusi cair dilakukan dengan cara membuat dua kali pengenceran senyawa antimikroba pada media cair pada tabung reaksi dengan minimal 1 ml (makrodilusi) atau menggunakan plat well mikrotitasi 96 (mikrodilusi) dengan volume yang lebih kecil. Suspensi mikroba uji yang telah disesuaikan dengan standar skala 0,5 Mc Farland diinokulasikan pada setiap tabung atau sumuran. Diinkubasi pada suhu yang sesuai (optimum) dan ditentukan nilai KHM yang merupakan konsentrasi terendah dari zat antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Setelah pengenceran (makrodilusi atau mikrodilusi), nilai KBM dapat ditentukan dengan mensubkultur sampel dari sumur atau tabung (Balouiri *et al.*, 2016).

KHM ditentukan dengan mengamati pertumbuhan mikroba uji dalam larutan antimikroba. Larutan antimikroba yang tampak jernih karena tidak ada pertumbuhan mikroba uji, dikultur pada media cair dengan tidak menambahkan agen antimikroba maupun mikroba uji dan diinkubasi selama 18-24 jam. Jika setelah inkubasi terdapat media yang terlihat jernih maka ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008). Mikroba yang tumbuh setelah inkubasi dihitung dan dinyatakan dalam CFU/ml ((Balouiri *et al.*, 2016).

### **2. Dilusi Agar**

Metode dilusi agar dilakukan dengan cara mencampurkan berbagai konsentrasi agen antimikroba yang diinginkan kedalam media agar-agar cair, biasanya digunakan seri pengenceran dua kali. Diinokulasikan inokulum diatas permukaan media agar dan diinkubasi selama 24 jam (Balouiri *et al.*, 2016; Choma & Grzelak, 2011). Konsentrasi terendah agen antimikroba ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme uji (Choma & Grzelak, 2011). Dilusi agar

sering direkomendasikan sebagai metode standar untuk mikroorganisme anaerob dan genus *Helicobacter* (Balouiri *et al.*, 2016).

## 2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah langkah awal yang dilakukan untuk memisahkan produk alami yang diinginkan dari bahan mentah. Terdapat berbagai macam metode ekstraksi seperti maserasi, distilasi, pengepresan dan sublimasi sesuai dengan prinsip ekstraksi (Zhang *et al.*, 2018). Maserasi merupakan metode sederhana yang banyak digunakan dengan merendam simplisia secara keseluruhan dalam pelarut (Handarni *et al.*, 2020). Tahapan maserasi meliputi perendaman bahan tanaman berbentuk simplisia dalam wadah tertutup dengan pelarut dan didiamkan pada suhu ruang dengan batas waktu minimum 3 hari. Perendaman bertujuan untuk melunakkan dan merusak dinding sel tumbuhan sehingga senyawa aktif yang ada dalam tumbuhan dilepaskan. Senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi dari tanaman ditentukan oleh pelarut yang digunakan (Nn, 2015). Maserasi memiliki kelebihan yaitu mampu menarik senyawa bioaktif yang tidak tahan panas, alat yang digunakan sederhana, dan mudah dilakukan (Wicaksono & Ulfah, 2017).

Senyawa bioaktif yang digunakan sebagai parameter (fenolik dan flavonoid) merupakan senyawa polar sehingga pelarut yang digunakan harus bersifat polar. Hal tersebut dikarenakan suatu senyawa hanya terlarut dalam pelarut yang mempunyai sifat yang sama. Contoh pelarut dengan sifat polar yaitu air, aseton, etanol, dan methanol. Kemampuan pelarut dalam mengekstrak senyawa bioaktif juga dipengaruhi oleh konsentrasi dari pelarut (Handarni *et al.*, 2020). Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol lebih efektif dalam degradasi dinding sel sehingga polifenol mudah dilepaskan dari sel dan terlarut dalam pelarut. Etanol juga lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari tanaman (Tiwari *et al.*, 2011) dan dapat menarik zat aktif seperti flavonoid, glikosida, tannin, saponin, kumarin, antrakinon, dan alkaloid basa (Wicaksono & Ulfah, 2017).

Etanol juga memiliki beberapa keuntungan antara lain bersifat netral, tidak beracun, dapat bercampur dengan air, dan menetralkan enzim-enzim yang dapat merusak metabolit sekunder (Wicaksono & Ulfah, 2017). Konsentrasi pelarut

etanol yang digunakan yaitu 70%. Etanol 70% mempunyai polaritas yang lebih tinggi dibandingkan dengan etanol murni. Dengan menambahkan air ke etanol murni hingga 30% untuk menyiapkan etanol 70%, polaritas pelarut meningkat (Tiwari *et al.*, 2011).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Penelitian ini menguji kemampuan antimikroba ekstrak etanol daun jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) terhadap *Shigella dysenteriae* secara in vitro.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus-November 2021 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Laboratorium Biokimia, dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.3 Variabel Penelitian**

Berikut variabel yang terdapat dalam penelitian ini:

##### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak etanol daun jambu biji australia (*Psidium guajava* L.), kontrol positif yaitu ciprofloxacin sebagai antibakteri, serta kontrol negatif yakni DMSO sebagai pelarut bahan organik.

##### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu diameter zona hambat yang terbentuk pada difusi kertas cakram (*paper disc diffusion*). Pada metode dilusi cair yaitu tingkat kekeruhan yang terlihat pada media MHB, dengan suspensi media cair yang jernih setelah diinkubasi (uji KHM). Kemudian jumlah koloni bakteri yang muncul pada media agar padat untuk uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

##### **3.3.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkendali pada penelitian ini yaitu variabel yang diperlakukan dalam keadaan yang sama antara lain suhu, kelembaban, media, kertas cakram, dan masa inkubasi.

### **3.4 Alat dan Bahan**

#### **3.4.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel daun jambu biji australia yaitu kantong plastik, gunting, kertas label, dan alat tulis. Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi dan uji antimikroba yaitu wadah maserasi, timbangan analitik, *rotary vacuum evaporator*, alumunium foil, ayakan 40 mesh, beaker glass, blender, kertas saring, batang pengaduk/spatula, gelas ukur, corong kaca, sheker, *colony counter*, autoklaf, spektrofotometer, cawan petri, ose, inkubator, LAF, bunsen, korek api, hot plate, kertas cakram, tabung reaksi, pinset, mikropipet, pipet tetes, jangka sorong, kapas, kasa, rak tabung reaksi, masker, handscoon, tip, plastik anti leleh 3 kg, plastik 1 kg, plastik wrap.

#### **3.4.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun jambu biji australia, etanol 70%, akuades, media MHA (*Muller Hinton Agar*), media MHB (*Muller Hinton Broth*), kultur murni *Shigella dysenteriae*, ciprofloxacin, DMSO, spirtus, NaCl 0,9%, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,175%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,36 N, FeCl<sub>3</sub> 10%, HCl, serbuk Mg, HgCl<sub>2</sub>, KI, asam tanat, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, pereaksi *folin denis*, AlCl<sub>3</sub> 10%, dan kalium asetat 120 mM.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.)**

##### **3.5.1.1 Preparasi Sampel**

Preparasi sampel meliputi persiapan bahan, pengeringan, pembuatan simplisia daun jambu biji australia (*P. guajava*), dan persiapan ekstraksi (Febryana, 2020). Daun jambu biji australia ditimbang sebanyak 800 gram, dicuci bersih menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung sampai kadar air habis. Pembuatan serbuk simplisia yaitu dengan menghaluskan daun yang sudah kering menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 60 mesh (Qonita *et al.*, 2019).

##### **3.5.1.2 Proses Ekstraksi**

Ekstraksi yang dilakukan yaitu metode maserasi. Ditimbang 50 g simplisia daun jambu biji australia kemudian dimasukkan kedalam wadah maserasi dan ditambah 500 ml etanol 70%. Diaduk selama 30 menit dengan stirrer kemudian didiamkan selama 3x24 jam. Setelah itu, disaring sampel dengan kertas

saring. Filtrat yang didapatkan dari penyaringan dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C dengan tekanan rendah sampai diperoleh ekstrak kental (Ihsan *et al.*, 2020). Setelah itu, dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 2 jam hingga didapatkan ekstrak kering dan dihitung nilai rendemen (Tampedje *et al.*, 2016). Rendemen dapat dihitung dengan **Persamaan 1** (Sungkar *et al.*, 2018):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat bahan yang diekstrak}} \times 100\% \quad (1)$$

### **3.5.2 Uji Kualitatif Senyawa Fitokimia**

#### **3.5.2.1 Identifikasi Flavonoid**

Satu milliliter ekstrak daun jambu biji australia yang telah diencerkan, dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,5 mg serbuk Mg dalam tabung reaksi dan ditunggu hingga serbuk Mg tercampur secara sempurna. Dua hingga tiga tetes larutan HCl pekat dimasukkan secara perlahan. Warna merah atau kuning yang muncul dalam 3 menit menunjukkan sampel positif mengandung flavonoid (Handarni *et al.*, 2020).

#### **3.5.2.2 Identifikasi Tanin**

Satu milliliter ekstrak daun jambu biji australia dimasukkan dalam tabung reaksi. Dimasukkan larutan FeCl<sub>3</sub> 10% sebanyak 2-3 tetes. Sampel positif mengandung tannin ditunjukkan dengan berubahnya warna sampel menjadi hitam kebiruan atau hijau (Handarni *et al.*, 2020).

#### **3.5.2.3 Identifikasi Saponin**

Dimasukkan 0,5 ml ekstrak daun jambu biji australia ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 5 ml akuades yang telah didihkan 2-3 menit. Tabung reaksi dikocok dengan kuat selama satu menit. Terbentuknya buih yang stabil (buih tidak menghilang) menunjukkan sampel positif mengandung saponin (Handarni *et al.*, 2020).

#### **3.5.2.4 Identifikasi Alkaloid**

Sebanyak 50 mg ekstrak daun jambu biji australia dilarutkan dalam 5 mL HCl, kemudian disaring. Sampel dimasukkan dalam 3 tabung reaksi masing-masing sebanyak 0,5 mL. Ditambahkan 1-2 tetes pereaksi mayer, 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 kehitaman pada pereaksi bouchardat (Nofita *et al.*, 2020).

### **3.5.3 Penentuan Kadar Senyawa Fitokimia**

#### **3.5.3.1 Penentuan Kadar Tanin**

##### **a. Pembuatan Larutan Asam Tanat dan Pembuatan Kurva Baku**

Sebanyak 0,1 g asam tanat ditimbang dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 mL (1000 ppm). Diencerkan larutan standar asam tanat dengan seri pengenceran 8, 10, 12, 14, dan 16 ppm. Dipipet 1 mL larutan dari masing-masing seri pengenceran dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang didalamnya sudah berisi akuades sebanyak 7,3 mL. Pereaksi *folin ciocalteu* sebanyak 0,2 mL ditambahkan, didiamkan selama 3 menit. Ditambahkan 1 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dan didiamkan selama 30 menit. Pengukuran kurva baku pada panjang gelombang 760 nm (Astuti *et al.*, 2019).

##### **b. Penentuan Kadar Sampel**

Ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan dalam 10 mL akuades. Diambil 1 mL larutan sampel dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang didalamnya sudah berisi akuades sebanyak 7,3 mL. Pereaksi *folin ciocalteu* sebanyak 0,2 mL ditambahkan, didiamkan 3 menit. Ditambahkan 1 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dan didiamkan 30 menit. Pengukuran kurva baku pada panjang gelombang 760 nm (Astuti *et al.*, 2019)

#### **3.5.3.2 Penentuan Kadar Flavonoid**

##### **a. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin**

Baku standar kuersetin ditimbang 25 mg dan dilarutkan dalam etanol sebanyak 25 mL. Larutan induk dibuat dengan cara dipipet 1 mL larutan kuersetin dan ditambahkan etanol sebanyak 10 mL sehingga menghasilkan konsentrasi 100 ppm. Setelah itu dibuat seri pengenceran 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm. Setiap seri pengenceran diambil 1 mL, ditambahkan 1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Didiamkan 60 menit, kemudian diukur absorbansi dengan panjang gelombang maksimum 430 nm (Nofita *et al.*, 2020).

### **b. Penentuan Kadar Sampel**

Lima belas milligram ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL etanol, dihasilkan konsentrasi 1500 ppm. Diambil 1 mL larutan induk dan ditambahkan etanol sebanyak 10 mL. Kemudian dipipet larutan sampel sebanyak 1 mL, ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  10% dan kalium asetat 120 mM sebanyak 1 mL. Didiamkan selama 60 menit, kemudian diukur absorbansi dengan panjang gelombang maksimum 430 nm (Nofita *et al.*, 2020).

#### **3.5.4 Pengenceran**

Pengenceran dilakukan untuk menghasilkan berbagai konsentrasi dengan pelarut DMSO yang akan digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.dysenteriae*. Konsentrasi yang digunakan mengacu dari penelitian Natali *et al.*, (2021) dan Imran *et al.* (2018) yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%.

**Tabel 3.1. Pengenceran Ekstrak**

Konsentrasi Ekstrak	Pengenceran (Ekstrak + DMSO)
10%	100 $\mu\text{L}$ + 900 $\mu\text{L}$
20%	200 $\mu\text{L}$ + 800 $\mu\text{L}$
30%	300 $\mu\text{L}$ + 700 $\mu\text{L}$
40%	400 $\mu\text{L}$ + 600 $\mu\text{L}$
50%	500 $\mu\text{L}$ + 500 $\mu\text{L}$
60%	600 $\mu\text{L}$ + 400 $\mu\text{L}$
70%	700 $\mu\text{L}$ + 300 $\mu\text{L}$
80%	800 $\mu\text{L}$ + 200 $\mu\text{L}$
90%	900 $\mu\text{L}$ + 100 $\mu\text{L}$

#### **3.5.5 Pembuatan Larutan Ciprofloxacin dan Kloramfenikol**

Kontrol positif menggunakan sediaan obat ciprofloxacin 500 mg. Dihaluskan satu tablet ciprofloxacin, kemudian sebanyak 50 mg ciprofloxacin dilarutkan dengan 50 ml akuades steril sehingga diperoleh konsentrasi 50  $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$ . Setelah itu, dipipet 1 ml larutan dan diencerkan dengan 10 ml akuades steril sehingga didapatkan larutan ciprofloxacin 5 $\mu\text{g}/50 \text{ mL}$  (Dhuha *et al.*, 2016).

Larutan kloramfenikol dibuat dengan melarutkan 50 mg kloramfenikol dalam 50 ml akuades steril menghasilkan konsentrasi 0,1%. Diambil 1 ml larutan

kloramfenikol 0,1% dan dilarutkan dalam 10 ml akuades steril sehingga konsentrasi akhir 0,01% (M. Azizah *et al.*, 2020).

### **3.5.6 Uji Antimikroba**

#### **3.5.6.1 Sterilisasi Alat**

Semua alat yang akan digunakan untuk uji antimikroba dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian ditutup mulut gelas ukur, tabung reaksi, dan erlenmeyer menggunakan kapas, sedangkan untuk cawan petri dibungkus menggunakan kertas. Dimasukkan semua alat dalam plastik tahan panas dan disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara membakar ujungnya pada api bunsen (Berlian *et al.*, 2016).

#### **3.5.6.2 Pembuatan Media**

##### **1. Media MHA (*Muller Hinton Agar*)**

Media MHA (*Muller Hinton Agar*) ditimbang sebanyak 6,8 gram lalu ditambahkan akuades 200 ml dalam erlenmeyer. Dipanaskan media di atas hot plate pada suhu 200°C kemudian dihomogenkan dengan menggunakan magnetic stirer hingga media berwarna kuning jernih. Lalu disterilkan media dengan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sepuluh milliliter media dituangkan dalam cawan petri dengan kedalaman 5 mm. Setelah itu, media didinginkan sampai konsistensi seperti agar atau memadat dalam suhu kamar (Rianto *et al.*, 2015).

##### **2. Media MHB (*Muller Hinton Broth*)**

Media MHB (*Muller Hinton Broth*) ditimbang sebanyak 1,3 gram kemudian ditambahkan akuades 100 ml. Dipanaskan media di atas hot plate pada suhu 200°C kemudian dihomogenkan dengan menggunakan magnetic stirer hingga media berwarna kuning jernih. Lalu disterilkan media dengan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Triatmoko *et al.*, 2018).

##### **1 Media NA (Nutrien Agar)**

Media NA ditimbang sebanyak 2,3 gram lalu ditambahkan akuades 100 ml dalam erlenmeyer. Dipanaskan media diatas hot plate dengan sesekali diaduk sampai media larut. Dituang 7 ml media ke dalam tabung reaksi dan ditutup menggunakan kapas. Disterilkan media menggunakan autoclave pada suhu 121°C

dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Didinginkan media pada posisi miring sehingga terbentuk media agar miring (Rianto *et al.*, 2015)

### **3.5.6.3 Peremajaan Biakan Bakteri**

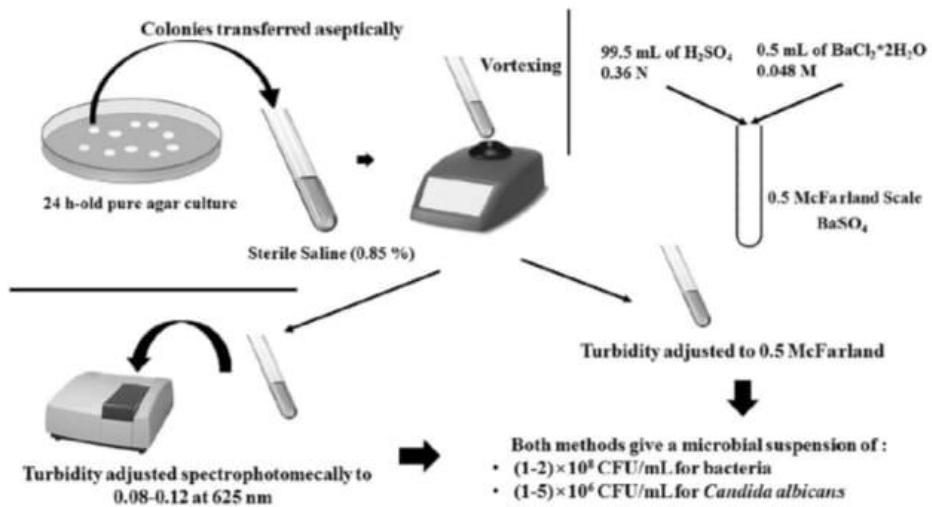
Biakan *S.dysenteriae* diinokulasikan dalam media cair MHB. Diambil 1 ose bakteri uji dari media cair. Disubkultur pada media agar menggunakan metode *streak plate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Identifikasi kemurnian bakteri uji dilakukan berdasarkan koloni yang terbentuk di permukaan media agar (jika bentuk, warna, dan jenis koloni seragam maka dinyatakan murni) (Rohma, 2020). Biakan murni bakteri diremajakan pada media NA miring dengan menggoreskan 1 ose bakteri secara aseptis, kemudian tabung reaksi ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C (Berlian *et al.*, 2016).

### **3.5.6.4 Pembuatan Larutan McFarland**

Sebanyak 0,5 ml larutan BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,175% (b/v) dicampurkan dengan 99,5 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,36 N dalam erlemenyer dan diaduk secara konstan sampai larutan menjadi keruh. Verifikasi standar kekeruhan dengan mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm. Untuk standar 0,5 McFarland nilai absorbansi yaitu 0,08 hingga 0,13 (CLSI, 2009).

### **3.5.6.5 Pembuatan Suspensi Bakteri *Shigella dysenteriae***

Hasil peremajaan biakan murni diambil sebanyak 4-5 koloni menggunakan ose steril kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang sudah berisi 10 ml NaCl 0,9 %, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah itu, dibandingkan dengan standart 0,5 Mc Farland dengan kepadatan bakteri sebanyak 10<sup>8</sup> CFU/ml (Gambar 3.1). Suspensi bakteri dengan kepadatan 10<sup>8</sup> CFU/ml, diencerkan dengan NaCl 0,9%. Suspensi bakteri diambil 0,1 ml dan dimasukkan dalam tabung yang berisi 9,9 ml NaCl 0,9%, kemudian dihomogenkan. Didapatkan suspensi bakteri sebanyak 10<sup>6</sup> sel/ml dan siap diujikan (Mawea *et al.*, 2019).



**Gambar 3.1.** Pembuatan suspensi mikroba dan dibandingkan dengan 0,5 McFarland seperti yang direkomendasikan oleh pedoman CLSI (Balouiri *et al.*, 2016).

### 3.5.6.6 Uji Zona Hambat (*Kirby-bauer*)

Pengujian zona hambat dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* diinokulasikan pada permukaan media MHA sebanyak 0,1 mL dan diratakan menggunakan *cotton swab* (Balouiri *et al.*, 2016). Inokulasi dilakukan dengan menggores seluruh permukaan media agar, diulangi dengan menggores dua kali dan di putar cawan sekitar 60° setiap kali menggores untuk memastikan pemerataan inokulum (Farhana, 2017).

Disediakan 36 buah kertas cakram kemudian dibagi menjadi 12 kelompok untuk ekstrak daun jambu biji australia dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, ciprofloxacin (kontrol positif), dan DMSO (kontrol negatif) dengan 3 ulangan. Dibuat 3 zona, pada masing-masing zona diletakkan 3 kertas cakram dengan konsentrasi ekstrak yang sama. Diambil kertas cakram yang sudah direndam dalam ekstrak menggunakan pinset steril dan diletakkan dengan jarak terhadap tepi cawan petri tidak kurang dari 15 mm dan jarak antar kertas cakram tidak kurang dari 24 mm (Gambar 3.2). Diinkubasi cawan petri pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Farhana, 2017). Pengukuran zona bening pada media padat dengan menggunakan jangka sorong. Zona bening yang terbentuk menjadi penanda tidak adanya bakteri uji yang tumbuh dan efek

antibakteri dinyatakan positif (Rianto *et al.*, 2015). Diameter zona hambat dapat diukur dengan **Persamaan 2** (Sungkar *et al.*, 2018):

$$\text{Diameter Zona Hambat (mm)} = \text{Diameter keseluruhan yang terbentuk (mm)} - \text{Diameter kertas cakram (mm)}$$

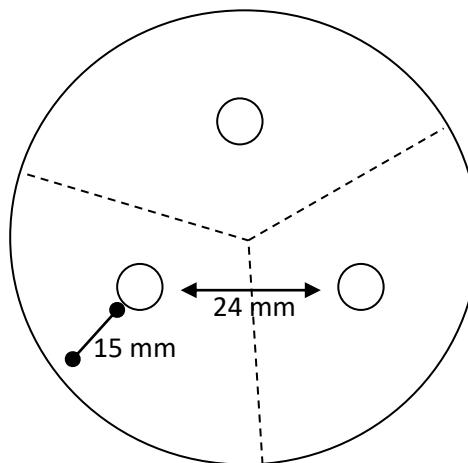
(2)

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji australia dikategorikan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk (Tabel 3.2).

**Tabel 2.2. Kategori Penghambatan Pertumbuhan Mikroba**

Zona hambat	Kategori
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-19 mm	Kuat
20 mm	Sangat kuat

Sumber: (Pangestu *et al.*, 2017)



**Gambar 3.2. Peletakan kertas cakram pada cawan petri**

### 3.5.6.7 Microdilution Test (Uji KHM dan Uji KBM)

Metode uji KHM dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi yaitu dengan menggunakan *96-well plate* yang berisi 0,1 mL media cair (Holland *et al.*, 2009). *Microdilution test* merupakan adaptasi dari *macrodilution* yang menggunakan volume lebih kecil (Schwalbe *et al.*, 2007). Larutan stock (ekstrak etanol daun jambu biji australia) diencerkan 1:10 (10%) dalam media MHB steril. Dimasukkan larutan uji sebanyak 200  $\mu$ L dalam sumuran pertama. Dilakukan pengenceran bertingkat pada larutan uji dengan mengambil 100  $\mu$ L larutan uji

dari sumuran pertama dan dimasukkan dalam sumuran selanjutnya yang didalamnya sudah diberi media cair sebanyak 100  $\mu\text{L}$ . Suspensi mikroba *S.dysenteriae* yang telah disesuaikan dengan 0,5 McFarland ( $1\times10^8$  CFU/mL) diencerkan 1:200 dalam media MHB steril menghasilkan  $5\times10^6$  CFU/mL. dimasukkan 100  $\mu\text{L}$  suspensi bakteri dalam setiap sumuran (CLSI, 2015). Diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C (Wirasisya *et al.*, 2018).

Hasil KHM diperoleh konsentrasi terendah dari antimikroba yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan (media jernih). Lalu dilanjutkan dengan uji kadar bunuh mikroba (KBM) dengan menginokulasikan 100  $\mu\text{L}$  suspensi dari setiap sumuran pada *microplate* dengan cara pour plate pada media agar (MHA) dan dilakukan 3 kali pengulangan. Setelah itu, diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C (CLSI, 2015). Uji konfirmasi koloni mikroba dilakukan menggunakan metode *Total Plate Count* (Yuan *et al.*, 2019). Untuk perhitungan koloni mikroba dilakukan dengan pengamatan langsung menggunakan alat *digital colony counter* (Yunita *et al.*, 2015).

### 3.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara statistik dengan uji *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan syarat data homogen dan terdistribusi normal. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene Test*. Jika terdapat perbedaan statistik yang signifikan maka dilakukan uji lanjutan *Tukey HSD* untuk mengetahui kelompok mana yang menunjukkan perbedaan efek. Apabila data tidak terdistribusi normal maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* dan jika hasilnya menunjukkan perbedaan statistik yang signifikan dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Mann Whitney*. Analisis statistik menggunakan SPSS versi 25 dengan tingkat kepercayaan 95% atau  $\alpha=0,05$ .

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Skrining Fitokimia**

Ekstraksi daun jambu biji australia dengan menggunakan metode maserasi. Simplisia daun jambu biji australia direndam menggunakan pelarut polar etanol 70%. Ekstrak kental daun jambu biji australia yang diperoleh berwarna coklat kehitaman (Lampiran 3). Hasil ekstraksi daun jambu biji australia dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 3.1. Hasil Ekstraksi Daun Jambu Biji Australia**

Pelarut	Berat Simplisia	Berat Hasil Ekstraksi	Rendemen	Warna
Etanol 70%	50 gram	11,7116 gram	23,42%	Coklat kehitaman

Tabel 4.1 menunjukkan hasil rendemen ekstrak daun jambu biji australia sebesar 23,42%. Rendemen merupakan kadar metabolit sekunder yang terekstrak oleh pelarut. Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan semakin banyak metabolit sekunder yang terekstrak. Hasil ekstrak dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Penelitian Nofita *et al.* (2021) menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 18,67% dengan metode maserasi dan 30,67% dengan metode ultrasonik. Hal ini menunjukkan bahwa hasil rendemen ekstrak daun jambu biji australia dapat dipengaruhi oleh konsentrasi pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan. Rendemen tertinggi dihasilkan dengan menggunakan metode ultrasonik. Metode ultrasonik merupakan metode ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik yang menyebabkan dinding sel dari bahan alam mudah dipecah sehingga senyawa dalam daun jambu biji australia dapat keluar dengan mudah (Sholihah, 2017).

Berdasarkan data yang diperoleh nilai rendemen pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan metode ekstraksi yang sama yaitu maserasi, akan tetapi konsentrasi pelarut berbeda. Hal

ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun jambu biji australia bersifat polar sehingga akan mudah larut dalam pelarut yang bersifat polar. Polaritas etanol 70% lebih tinggi dibandingkan dengan etanol murni (Tiwari *et al.*, 2011). Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam daun jambu biji australia yang berperan sebagai antibakteri antara lain yaitu flavonoid, tannin, saponin, dan alkaloid. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2. Hasil Skrining Fitokimia Secara Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia**

Kandungan Fitokimia	Hasil	Kadar Total	Kadar Total (%)
Flavonoid	+	117,05 mgQE/g	11,705 %
Tanin	+	18,62 mgTAE/g	1,862 %
Saponin	+	-	-
Alkaloid	-	-	-

Keterangan: (+) : mengandung senyawa yang diuji  
(-) : tidak mengandung senyawa yang diuji

Hasil uji fitokimia kualitatif ekstrak etanol daun jambu biji australia mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tannin, dan saponin, sedangkan senyawa golongan alkaloid tidak ditemukan. Penelitian Febryana (2020) menunjukkan senyawa aktif ekstrak etanol 70% daun jambu biji australia antara lain yaitu flavonoid, tannin, saponin, dan alkaloid. Penelitian Nofita *et al.* (2020) memperlihatkan bahwa skrining fitokimia ekstrak daun jambu biji australia menggunakan pelarut etanol 96% menunjukkan kandungan fitokimia pada daun jambu biji australia yaitu flavonoid, tannin, saponin, dan alkaloid.

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% daun jambu biji australia pada penelitian ini berbeda dari penelitian sebelumnya karena tidak mengandung senyawa alkaloid. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu jenis pelarut yang digunakan, metode pengujian dan lokasi pengambilan sampel. Terdapat kemungkinan senyawa fitokimia daun jambu biji australia tidak banyak yang terlarut dalam pelarut etanol 70% ketika dilakukan ekstraksi. Menurut

(Purwati *et al.*, 2017), setiap jenis pelarut memiliki kemampuan yang berbeda dalam melarutkan senyawa fitokimia pada sampel yang digunakan. Selain itu, jumlah senyawa alkaloid dari proses ekstraksi yang sedikit mungkin tidak dapat terdeksi dengan metode pengujian yang digunakan. Menurut Lumowa & Bardin (2018), kepekaan metode uji yang digunakan dapat mempengaruhi keberhasilan uji fitokimia. Penggunaan pelarut dan metode uji yang berbeda akan memperlihatkan hasil yang berbeda juga.

Perbedaan kondisi lingkungan pengambilan sampel dan umur daun pada penelitian ini dan penelitian sebelumnya juga dapat mempengaruhi jenis dan jumlah senyawa fitokimia dalam daun jambu biji australia. Hal ini diduga oleh unsur tanah dan iklim yang berbeda dari daerah pengambilan sampel. Pada penelitian ini, analisis skrining fitokimia dilakukan dengan tes uji warna (Lampiran 4). Uji identifikasi flavonoid dilakukan dengan metode *wilstatter* yaitu dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pekat pada sampel. Perubahan warna sampel menjadi merah menunjukkan dalam sampel terkandung flavonoid. Warna sampel yang berubah menjadi merah menunjukkan adanya reaksi antara senyawa flavonoid pada sampel dengan pereaksi magnesium dan HCl membentuk garam flavigium.

Ekstrak etanol dain jambu biji australia mengandung senyawa tannin yang ditandai dengan berubahnya warna sampel menjadi warna biru kehitaman setelah penambahan larutan  $\text{FeCl}_3$  10%. Perubahan warna tersebut menunjukkan tannin yang ada pada ekstrak daun jambu biji australia merupakan tannin hidrolisis. Menurut Sangi *et al.* (2008), salah satu gugus hidroksil dalam tannin bereaksi dengan larutan  $\text{FeCl}_3$ , pada tannin hidrolisis menunjukkan perubahan warna menjadi biru kehitaman sedangkan tannin kondensasi menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

Identifikasi saponin dilakukan dengan metode *Forth* yaitu dengan menambahkan akuades yang sudah didihkan dan dikocok dengan kuat. Hasil positif saponin pada sampel ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil. Menurut Sangi *et al.* (2008), senyawa saponin mempunyai gugus polar yaitu glikosil dan gugus nonpolar yang terdiri dari gugus steroid dan triterpenoid. Terbentuknya buih di permukaan setelah pengocokan dikarenakan gugus polar

dan nonpolar pada senyawa saponin bersifat aktif di permukaan sehingga saat dikocok dengan akuades akan membentuk misel. Gugus polar pada struktur misel mengarah ke luar sedangkan gugus nonpolar mengarah ke dalam. Kondisi seperti ini yang terlihat seperti busa atau buih pada sampel.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada penelitian ini, ekstrak etanol daun jambu biji australia menunjukkan hasil negatif pada uji alkaloid. Senyawa alkaloid di uji dengan menggunakan 3 pereaksi yaitu Mayer, Bouchardat, dan Dragendorf. Metode ini memiliki prinsip yaitu terjadinya reaksi pengendapan karena adanya penggantian ligan. Menurut Lumowa & Bardin (2018), hasil negatif pada pengujian alkaloid menunjukkan tidak terbentuknya ikatan kovalen antara nitrogen dengan ion  $K^+$  sehingga tidak membentuk endapan kalium alkaloid.

Uji kuantitatif kandungan total tannin dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 760 nm. Penentuan kadar total tannin diukur menggunakan kurva standar tannin yaitu asam tanat. Penggunaan asam tanat sebagai pembanding dalam pengukuran kadar total tannin karena asam tanat termasuk dalam golongan tannin terhidrolisis. Penetapan kandungan tannin total berdasarkan pada penambahan reagen *folin ciocalteu*. Reaksi yang terjadi yaitu reaksi oksidasi dimana tannin sebagai reduktor dan *folin ciocalteu* sebagai oksidator sehingga menghasilkan warna biru. Penggunaan *folin ciocalteu* dikarenakan senyawa tannin dapat bereaksi dengan folin sehingga menghasilkan larutan berwana yang dapat dibaca absorbansinya.

Reagen *folin ciocalteu* mengoksidasi garam alkali dan gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (*Fosfomolibdat-fosfotungstat*) pada *folin ciocalteu* sehingga membentuk suatu kompleks *Molibdenum-tungsten*. Reaksi ini hanya akan terjadi dalam keadaan basa karena pada suasana basa dapat terjadi disosiasi proton senyawa fenolik menjadi ion fenolat (Noviyanty *et al.*, 2020). Suasana basa dibuat dengan penambahan larutan  $Na_2CO_3$  sehingga reaksi reduksi *folin ciocalteu* oleh gugus hidroksil dari senyawa fenolik dalam sampel dapat membentuk suatu kompleks *Molibdenum-tungsten* berwarna biru (Pratama *et al.*, 2019).

Persamaan regresi linier yang dihasilkan dari pengukuran absorbansi asam tanat adalah  $y=0,014x-0,013$  dengan nilai linieritas sebesar 0,947 (Lampiran 5). Nilai linieritas atau koefisien korelasi ( $R$ ) mendekati 1 menunjukkan bahwa konsentrasi dan absorbansi memiliki korelasi yang kuat. Persamaan linier tersebut digunakan sebagai pembanding dalam analisis kuantitatif pengukuran kadar total tannin. Penetapan kadar total tannin dinyatakan sebagai ekivalen asam tanat dalam mg/g ekstrak (Lampiran 5).

Kadar tannin total ekstrak daun jambu biji australia yaitu sebesar 18,62 mgTAE/g atau 1,86% (Lampiran 5). Kadar total tannin pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Penelitian Nofita *et al.* (2021) menunjukkan kandungan tannin total pada ekstrak etanol jambu biji australia sebesar 3,36% dengan metode ekstraksi ultrasonik dan 3,11% menggunakan metode ekstraksi maserasi. Penelitian lain menunjukkan kadar total tannin ekstrak etanol daun jambu biji tertinggi yaitu sebesar 7,092% (Qonita *et al.*, 2019). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi hal tersebut seperti perbedaan konsentrasi pelarut dan metode yang digunakan. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% untuk proses ekstraksi, sedangkan pada penelitian sebelumnya menggunakan etanol 96% sebagai pelarut.

Riwanti *et al.* (2020) menyatakan ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil kadar suatu senyawa aktif salah satunya yaitu konsentrasi pelarut yang digunakan. Menurut Widarta & Arnata (2017), semakin tinggi konsentrasi pelarut etanol yang digunakan maka total tannin yang dihasilkan meningkat. Selain itu, perbedaan metode yang digunakan juga dapat mempengaruhi kadar tannin total, diduga tannin total dalam daun jambu biji australia tidak mudah tersari dengan menggunakan metode maserasi. Menurut Hossain *et al.* (2020), ekstraksi senyawa bioaktif dari tumbuhan dipengaruhi banyak faktor seperti pelarut, metode, dan waktu ekstraksi.

Kandungan total flavonoid ditentukan dengan metode alumunium klorida. Prinsip metode  $\text{AlCl}_3$  ini yaitu flavon dan flavonol membentuk senyawa keton pada atom C-4 dengan alumunium klorida, dan pada atom C-3 atau C-5 terbentuk gugus hidroksi (Chang *et al.*, 2002). Penentuan kandungan total flavonoid menggunakan kurva standar quersetin (Lampiran 5). Penggunaan kuersetin

sebagai kurva standar dikarenakan quersetin merupakan senyawa flavonoid dari kelompok flavonol yang mempunyai gugus keto pada atom C-4 serta gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 (D. N. Azizah *et al.*, 2014). Penambahan kalium asetat pada penentuan kadar flavonoid digunakan untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil. Selain itu, inkubasi pada suhu ruang selama 60 menit sebelum pengukuran dengan tujuan agar reaksi dapat berlangsung dengan sempurna dan menghasilkan intensitas warna secara maksimal.

Pengukuran total flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 430 nm. Kurva baku standar didapatkan dari konsentrasi dan absorbansi quersetin dengan persamaan regresi linier yaitu  $y=0,017x+0,011$  dengan nilai koefisien korelasi  $=0,968$  (Lampiran 6). Menurut D. N. Azizah *et al.* (2014), nilai R yang mendekati 1 menunjukkan bahwa kurva kalibrasi linier dan terdapat korelasi antara konsentrasi quercetin dengan absorbansi. Kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% daun jambu biji australia sebesar 117,05 mgQE/g atau 11,705% (Lampiran 6). Penelitian Stella & Siregar (2020) memperlihatkan bahwa kadar flavonoid total ekstrak daun jambu biji australia sebesar 99,52 mgQE/g dengan pelarut etanol 95%. Hasil penelitian lain menunjukkan kadar flavonoid total ekstrak daun jambu biji australia dengan menggunakan pelarut 96% sebesar 2,93% (Nofita *et al.*, 2021). Kadar total flavonoid pada penelitian ini hampir sama dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan metode ekstraksi serupa yaitu maserasi. Perbedaan kadar flavonoid dari penelitian ini dengan penelitian sebelumnya dapat disebabkan dari perbedaan pelarut yang digunakan.

Flavonoid dalam tanaman berbentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula sehingga bersifat polar. Perbedaan konsentrasi dari suatu pelarut dapat berpengaruh pada tingkat polaritas dari pelarut itu sendiri. Menurut Tiwari *et al.* (2011) etanol 70% mempunyai polaritas lebih tinggi dibandingkan dengan etanol murni. Menurut Riwanti *et al.* (2020), gugus hidroksil (OH) dari etanol membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksi dari senyawa flavonoid sehingga kelarutan senyawa flavonoid dalam etanol meningkat. Konsentrasi etanol yang semakin tinggi menunjukkan semakin rendah tingkat kepolaran pelarutnya. Hal inilah yang menyebabkan kandungan total flavonoid ekstrak daun jambu biji australia dengan pelarut etanol 70% pada penelitian ini lebih tinggi

dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut etanol murni. Kekurangan dari penelitian ini yaitu tidak dilakukannya penetapan kadar total saponin dan alkaloid ekstrak etanol daun jambu biji australia.

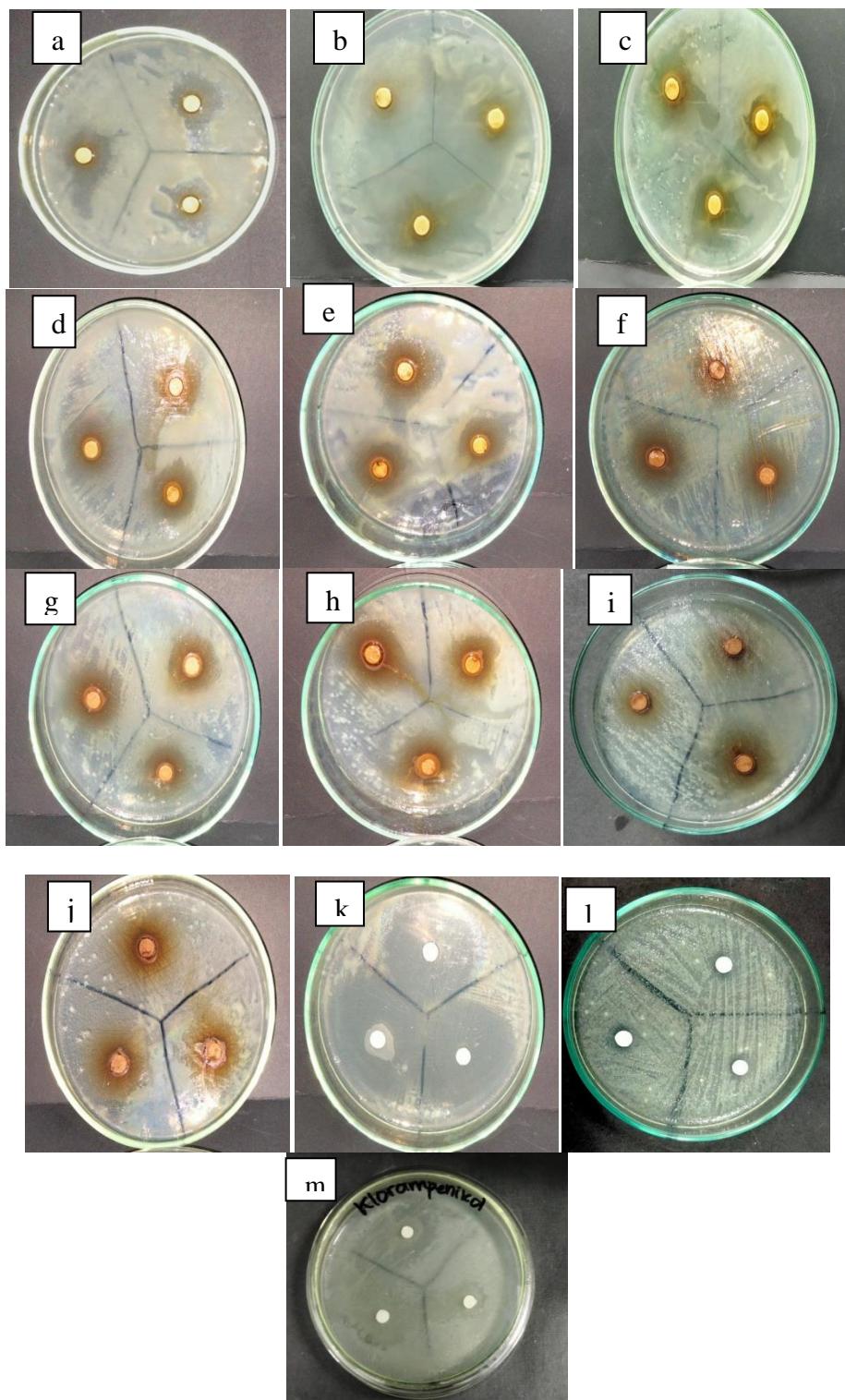
#### **4.2 Aktivitas Antimikroba Berdasarkan Uji Kirby-baurer (Uji Zona Hambat)**

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji australia dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode ini menggunakan kertas cakram yang sudah direndam dalam ekstrak etanol daun jambu biji australia dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, ciprofloxacin (5 $\mu$ g/50 ml), dan DMSO. Kertas cakram diletakkan di atas permukaan media MHA yang telah diinokulasikan suspensi bakteri uji. Hasil yang diperoleh yaitu terbentuknya zona bening dengan diameter yang ditunjukkan pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.1.

**Tabel 4.3 Hasil Pengujian Zona Hambat (Kirby-baurer) Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae***

Perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD	Kategori Zona Hambat
<b>Kontrol negatif</b>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	Tidak ada
<b>Kloramfenikol</b>	2,00 $\pm$ 1,00 <sup>b</sup>	Lemah
<b>10%</b>	10,63 $\pm$ 1,86 <sup>c</sup>	Kuat
<b>20%</b>	10,10 $\pm$ 3,24 <sup>cd</sup>	Kuat
<b>30%</b>	10,81 $\pm$ 4,16 <sup>cd</sup>	Kuat
<b>40%</b>	11,72 $\pm$ 1,18 <sup>c</sup>	Kuat
<b>50%</b>	12,44 $\pm$ 2,81 <sup>cd</sup>	Kuat
<b>60%</b>	12,83 $\pm$ 2,03 <sup>cd</sup>	Kuat
<b>70%</b>	12,84 $\pm$ 0,95 <sup>cd</sup>	Kuat
<b>80%</b>	14,64 $\pm$ 2,54 <sup>cde</sup>	Kuat
<b>90%</b>	14,79 $\pm$ 1,45 <sup>de</sup>	Kuat
<b>100%</b>	15,95 $\pm$ 0,52 <sup>e</sup>	Kuat
<b>Kontrol positif</b>	32,03 $\pm$ 0,90 <sup>f</sup>	Sangat kuat

Keterangan: K- : DMSO, K+: Ciprofloxacin



**Gambar 4.1. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun jambu biji australia**  
a) konsentrasi 10%, b) konsentrasi 20%, c) konsentrasi 30%, d)  
konsentrasi 40%, e) konsentrasi 50%, f) konsentrasi 60%, g)  
konsentrasi 70%, h) konsentrasi 80%, i) konsentrasi 90%, j)  
konsentrasi 100%, k) kontrol positif (ciprofloxacin), l) kontrol  
negatif (DMSO), m) kloramfenikol.

Data di atas menunjukkan bahwa bakteri *S.dysenteriae* telah mengalami resistensi terhadap antibiotik kloramfenikol ditandai dengan diameter zona hambat yang terbentuk kecil yaitu 2 mm. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang bersifat bakteriostatik dengan spektrum luas, artinya dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan gram positif (Amin, 2014). Mekanisme kerja kloramfenikol yaitu berikatan dengan subunit 50S pada ribosom sehingga sintesis protein terhambat (Yulneriwarni *et al.*, 2016). Adanya kloramfenikol mengakibatkan terjadinya distorsi pada komponen ribosom sehingga pembentukan ikatan peptida mRNA terganggu (Nurtami & Auerkari, 2002).

Resistensi antibiotik merupakan kemampuan mikroba untuk tetap bertahan hidup terhadap efek antibiotik. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor satu diantaranya yaitu penggunaan antibiotik yang berlebihan. Resistensi dapat terjadi karena adanya gen resisten yang didapatkan bakteri dari mutasi DNA bakteri (Pratiwi, 2017). Gen resisten akan meningkatkan aktivitas enzim yang dapat merusak antibiotik atau menggantikan molekul bakteri yang dapat berikatan dengan antibiotik. Akibat dari perubahan ini yaitu tertutupnya pintu masuk antibiotik ke dalam sel bakteri atau adanya kemampuan untuk mengeluarkan antibiotik dari sel sebelum mencapai target intraseluler (Nurtami & Auerkari, 2002).

Tabel 4.3 memperlihatkan bahwa rata-rata diameter zona hambat terbesar ekstrak etanol daun jambu biji australia terhadap *S.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 ekstrak etanol daun jambu biji australia terhadap bakteri *S.dysenteriae* pada konsentrasi 10%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% secara berturut-turut yaitu 10,63 mm, 10,81 mm, 11,72 mm, 12,44 mm, 12,83 mm, 14,07 mm, 14,64 mm, dan 14,79 mm. Kontrol positif (Ciprofloxacin 5 µg/50 mL) memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 32,02 mm dan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat atau tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Berdasarkan kategori zona hambat menurut Pangestu *et al.* (2017), dapat diketahui ekstrak etanol daun jambu biji australia pada konsentrasi 10%, 20%,

30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% menunjukkan daya hambat kuat terhadap pertumbuhan bakteri *S.dysenteriae*. Kontrol positif menunjukkan daya hambat sangat kuat terhadap pertumbuhan bakteri *S.dysenteriae* dan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S.dysenteriae*.

Ciprofloxacin merupakan antibiotik kelas fluoroquinolon yang bekerja secara bakterisidal dan mempunyai aktivitas yang kuat terhadap bakteri gram negatif. Mekanisme kerja antibakteri quinolon, termasuk ciprofloxacin yaitu dengan mengganggu replikasi dan transkripsi DNA melalui penghambatan DNA gyrase/topoisomerase II dan DNA topoisomerase IV bakteri, selanjutnya mencegah DNA bakteri terlepas dan duplikasi. Dengan demikian, terbentuk kompleks quinolone-enzim-DNA yang mengarah pada produksi racun seluler dan kematian (Masadeh *et al.*, 2015).

Sampel untuk uji aktivitas antibakteri dilarutkan dengan menggunakan DMSO. Selain itu, DMSO juga digunakan sebagai kontrol negatif untuk memastikan bahwa aktivitas antimikroba hanya berasal dari ekstrak etanol daun jambu biji australia. Penggunaan DMSO sebagai pelarut berdasarkan pada penelitian Galvao *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) merupakan pelarut aprotik yang dapat melarutkan berbagai macam molekul polar dan nonpolar yang sukar larut. Selain itu, menurut Bora *et al.* (2013), DMSO tidak memiliki efek terhadap pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun gram negatif.

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun jambu biji australia maka semakin besar rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan konsentrasi ekstrak yang tinggi lebih banyak mengandung senyawa metabolit sekunder didalamnya. Menurut Afifi & Erlin (2017), konsentrasi ekstrak yang berbeda menghasilkan daya hambat yang dihasilkan berbeda-beda. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menunjukkan semakin pekatnya larutan uji sehingga jumlah zat antimikroba yang terkandung didalamnya juga semakin banyak. Senyawa aktif dalam tanaman yang memiliki khasiat sebagai antibakteri antara lain yaitu flavonoid dan tannin.

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji australia dapat terjadi karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, dan saponin dalam ekstrak. Penelitian Arima & Danno, (2002), menunjukkan empat senyawa antibakteri yang berhasil diisolasi dari daun jambu biji dari golongan flavonoid antara lain *morin-3-O-arabinoside*, *morin-3-O-lyxoside*, *quercetin*, dan *quercetin-3-O-arabinoside* dengan aktivitas antibakteri yang kuat. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi pada sel bakteri (Cushnie & Lamb, 2005). Mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat oleh flavonoid melalui cincin B flavonoid yang membentuk interkalasi atau ikatan hidrogen sehingga menyebabkan penumpukan asam basa nukleat. Hal inilah yang menyebabkan terhambatnya sintesis asam nukleat (DNA dan RNA) (Xie *et al.*, 2015). Selain itu, flavonoid cenderung mengikat protein yang mengakibatkan aktivitas enzim mikroba terhambat sehingga menganggu proses metabolisme sel bakteri (Purwanti & Susanti, 2016).

Tannin merupakan senyawa polifenol yang sangat kompleks. Efektivitas senyawa antibakteri tannin yang terdapat dalam tumbuhan seperti daun jambu biji dapat dipengaruhi oleh konsentrasi tannin. Konsentrasi tannin yang tinggi maka aktivitas antibakteri akan meningkat. Mekanisme antibakteri tannin yaitu tannin dapat membentuk ikatan hidrogen dengan protein dalam sel bakteri yang mengakibatkan terjadinya denaturasi protein sehingga metabolisme bakteri menjadi terganggu. Selain itu, tannin juga dapat bereaksi dengan fosfolipid pada membrane sel bakteri yang dapat menyebabkan kebocoran metabolit esensial yang menonaktifkan sistem enzim bakteri (Mailoa *et al.*, 2014). Mekanisme antibakteri saponin yaitu dengan meningkatkan permeabilitas membrane sehingga terjadi hemolisis membran yang menyebabkan sel bakteri pecah (Purwanti & Susanti, 2016).

Ekstrak kaya tannin mempunyai nilai zona hambat yang lebih besar pada bakteri gram negatif karena memiliki dinding sel yang tipis sehingga tannin lebih mudah menembus protein pada dinding sel bakteri. Protein adalah salah satu penyusun dinding sel dan membran plasma, jika protein pada dinding sel bakteri terdenaturasi maka akan mudah ditembus oleh zat kimia dan dapat menyebabkan

gangguan pada metabolism bakteri. Ketebalan dinding sel bakteri gram negatif yaitu 10-15 nm yang terdiri dari tiga lapisan yaitu mukopeptida pada bagian dalam, lipopolisakarida dan lipoprotein pada bagian luar (Mailoa *et al.*, 2014).

Analisis statistik data diameter zona hambat menggunakan SPSS dengan uji *One Way ANOVA*. Pengujian *One Way ANOVA* memiliki syarat bahwa data harus berdistribusi normal dan memiliki varian yang homogen. Berdasarkan uji normalitas yang telah dilakukan, data diameter zona hambat berdistribusi normal dengan nilai signifikansi  $p>0,05$  (Lampiran 7). Akan tetapi data yang diperoleh tidak memiliki variasi sama atau tidak homogen yang dibuktikan dengan nilai signifikansi 0,003 ( $p<0,05$ ) pada pengujian homogenitas (Lampiran 8). Karena persyaratan uji parametrik *One Way ANOVA* tidak terpenuhi, uji nonparametrik *Kruskal wallis* dilakukan (Lampiran 9). Pengujian *Kruskal wallis* bertujuan untuk mengetahui perbedaan antara 2 atau lebih variabel bebas terhadap variabel terikat secara statistik. Hasil pengujian *Kruskal wallis* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,007 ( $p<0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan.

Uji lanjutan uji *Mann Whitney* digunakan untuk menunjukkan kelompok perlakuan yang mempunyai perbedaan bermakna yang ditandai dengan nilai signifikansi  $p<0,05$ . Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak daun jambu biji australia pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 80%, 90%, dan 100% (Lampiran 10). Selain itu, kelompok kontrol positif dengan semua kelompok perlakuan ekstrak daun jambu biji australia juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ekstrak daun jambu biji australia pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80% tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Konsentrasi 10%, 40%, dan 90% menunjukkan hasil berbeda nyata sedangkan pada konsentrasi 90% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 100%. Ekstrak etanol daun jambu biji australia dari konsentrasi 10% hingga 70% menunjukkan perbedaan bermakna dengan konsentrasi 100%. Konsentrasi 80%, dan 90% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 100%. Hasil uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada Tabel 4.3 yang ditandai dengan notasi yang berbeda.

### 4.3 Aktivitas Antimikroba Berdasarkan *Microdilution Test* (Uji KHM & Uji KBM)

#### 4.3.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Metode mikrodilusi bertujuan untuk mengevaluasi konsentrasi penghambatan minimum dan untuk menentukan konsentrasi terendah dari antibakteri yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Efektivitas ekstrak dievaluasi dengan mengukur dua konsentrasi yaitu konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bakterisida minimum (KBM). Konsentrasi ini digunakan untuk mengetahui sifat aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak yaitu bakteriostatik atau bakterisida (Senhaji *et al.*, 2020).

Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi terendah dari bahan aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sepenuhnya (Owuama, 2017). Penentuan KHM pada penelitian ini dengan melihat kekeruhan media pada *microplate* setelah diinkubasi selama 24 jam (Lampiran 12). Hasil uji konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun jambu biji australia ditunjukkan pada Tabel 4.4.

**Tabel 4.4. Hasil Uji KHM Secara Kualitatif (*Microdilution Test*)**

Perlakuan	Mikroba Uji	Konsentrasi	Ulangan		
			1	2	3
Ekstrak etanol daun jambu biji australia	<i>Shigella dysenteriae</i>	Kontrol negatif	+++	+++	+++
		Kontrol positif	-	-	-
		10%	-	-	-
		5%	-	-	-
		2,5%	-	-	-
		1,25%	+	+	+
		0,625%	++	++	++
		0,3125%	+++	+++	+++
		0,15625%	+++	+++	+++
		0,078125%	+++	+++	+++

Keterangan :

(-: jernih, +: sedikit keruh, ++: keruh, +++: sangat keruh)

Kontrol negatif : DMSO

Kontrol positif : Ciprofloxacin

Berdasarkan data hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 10%, 5%, dan 2,5% tidak terjadi kekeruhan. Dari hasil pengamatan uji KHM dapat ditentukan nilai KHM ekstrak etanol 70% daun jambu biji australia pada konsentrasi 2,5% (25 mg/mL). Adnyana et al. (2004) melaporkan bahwa nilai KHM ekstrak etanol daun jambu biji daging buah putih terhadap *S.dysenteriae* yaitu 30 mg/ml, sedangkan nilai KHM ekstrak etanol daun jambu biji daging buah merah sebesar 70 mg/ml terhadap *S.dysenteriae*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Ali et al. (2017) memperlihatkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji memiliki nilai KHM terhadap *Shigella spp.* pada konsentrasi 12,5 mg/ml.

Hasil uji mikrodilusi pada penelitian ini dinilai kurang akurat jika ditinjau berdasarkan pengamatan secara visual. Pengukuran konsentrasi hambat minimum dapat dilakukan dengan metode turbidimetri menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Alat ini bekerja dengan mengukur absorbansi sampel sehingga menghasilkan nilai *Optical Density* (OD) sesuai dengan tingkat kekeruhan suspensi. Akan tetapi, penggunaan metode turbidimetri juga memiliki kelemahan yaitu dalam membaca nilai absorbansi yang didasarkan pada kekeruhan sampel sehingga ada potensi nilai absorbansi yang dihasilkan tidak hanya berasal dari jumlah mikroba pada suspensi, akan tetapi juga berasal dari faktor lain selain sel mikroba. Hal ini dapat terjadi karena sampel ekstrak etanol daun jambu biji australia sedikit keruh atau berwarna coklat sehingga kekeruhan suspensi hampir sama dengan kekeruhan suspensi yang benar-benar tumbuh mikroba.

Menurut (Wuon et al., 2018) penentuan KHM baik dengan pengamatan secara langsung atau dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis memiliki beberapa kekurangan. Penentuan KHM secara visual dapat menimbulkan kesalahan saat melakukan pengamatan yang disebabkan oleh subjektivitas dari masing-masing individu. Selain itu, penggunaan metode ini juga tidak dapat membedakan antara sel bakteri yang masih hidup dan yang sudah mati, serta dapat dipengaruhi oleh pencahayaan dalam ruang penelitian. Penentuan KHM dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis juga memiliki kelemahan diantaranya yaitu tidak dapat membedakan sampel dengan partikel lain atau kontaminan yang menyerap cahaya pada panjang gelombang yang sama. Akan tetapi, kelemahan

pada metode ini dapat diminimalisasi dengan menggunakan alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang digunakan untuk memisahkan senyawa spesifik dan dapat digunakan juga untuk mengukur jumlah senyawa dalam larutan.

#### **4.3.2 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)**

Penentuan nilai KBM dapat dilakukan setelah uji mikrodilusi cair dengan mensubkultur 100  $\mu\text{L}$  suspensi dari setiap sumuran pada media agar menggunakan metode *Pour Plate* (Gambar 17). Selain untuk menetapkan nilai KBM, metode ini juga digunakan untuk mengonfirmasi nilai konsentrasi hambat minimum dari hasil uji mikrodilusi sebelumnya agar hasil yang diperoleh lebih valid. Konsentrasi bunuh minimum didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang tidak menunjukkan pertumbuhan mikroba pada media kultur setelah inkubasi (Mahboubi *et al.*, 2015). Mikroba yang tumbuh dihitung dan dinyatakan dalam CFU/mL (Balouiri, 2016).

*Total Plate Count* merupakan metode yang digunakan untuk menganalisa jumlah populasi mikroba (Arifan *et al.*, 2018). Prinsip *Total Plate Count* yaitu dengan menumbuhkan sel mikroba yang masih hidup dalam media agar sehingga sel mikroba dapat tumbuh dan membentuk koloni yang dapat diamati secara langsung (Yunita *et al.*, 2015). Metode ini digunakan untuk mengkonfirmasi jumlah sel bakteri yang masih hidup setelah diberikan perlakuan antibakteri. Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh menggunakan *colony counter* (Lampiran 11). Jumlah koloni yang dihitung dalam cawan yaitu berkisar antara 25-250 koloni. Dikatakan TBUD atau turbidimetri apabila jumlah koloni lebih dari 250 koloni (Affan *et al.*, 2017). Hasil *total plate count* ditunjukkan pada Tabel 4.5 dan Gambar 4.2.

**Tabel 4.5 Hasil Perhitungan Cawan (Total Plate Count)**

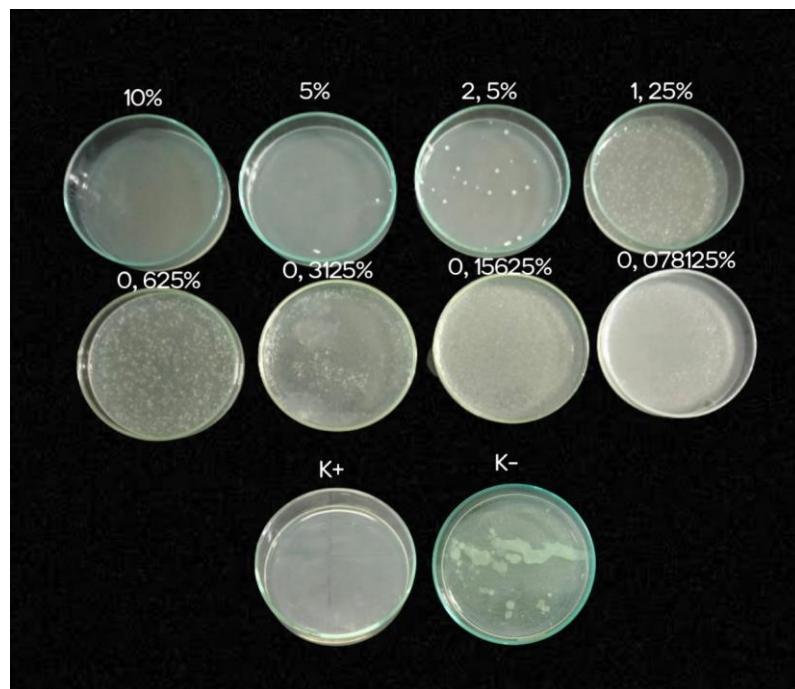
Mikroba Uji	Konsentrasi (%)	Hasil Total Plate Count (CFU/mL)
<i>Shigella dysenteriae</i>	K-	TBUD
	K+	0
	10%	0
	5%	$2 \times 10^2$
	2,5%	$5,4 \times 10^3$
	1,25%	TBUD
	0,625%	TBUD
	0,3125%	TBUD
	0,15625%	TBUD
	0,078125%	TBUD

Keterangan:

TBUD : Terlalu Banyak Untuk Dihitung (jumlah koloni &gt;250)

Warna biru : nilai positif KBM

Warna kuning : KHM kuantitatif

**Gambar 4.2 Total Plate Count (TPC)**

Data diatas menunjukkan nilai KHM kuantitatif ekstrak etanol daun jambu biji australia pada konsentrasi 2,5% (25 mg/mL) yaitu sebanyak  $5,4 \times 10^3$  CFU/mL. Sedangkan nilai KBM (tidak ada pertumbuhan bakteri) ekstrak etanol daun jambu biji australia pada konsentrasi 10% (100 mg/mL). Penelitian Ali *et al.* (2017)

menunjukkan bahwa nilai konsentrasi bunuh minimum ekstrak etanol daun jambu biji terhadap bakteri *Shigella spp.* yaitu pada konsentrasi 25 mg/mL.

Efektivitas zat antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi zat antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, aktivitas metabolisme bakteri, dan pH (Pujojarjo & Herdiyati, 2018; Tuntun, 2016). Konsentrasi zat antibakteri seperti tannin dan flavonoid memiliki korelasi dengan aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak. Kandungan flavonoid dan tannin yang tinggi pada sampel akan meningkatkan aktivitas antibakterinya (Manik *et al.*, 2014; Qonita *et al.*, 2019). Jumlah zat antimikroba yang semakin besar menyebabkan semakin banyak bakteri yang dirusak baik dari struktur sel atau sistem metabolisme sel bakteri sehingga bakteri yang terpapar zat antimikroba akan terhambat pertumbuhannya atau mati (Afifi & Erlin, 2017). Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji australia bersifat bakteriostatik dan bakteriosid. Hal ini dikarenakan ekstrak etanol daun jambu biji australia mampu menghambat dan membunuh bakteri *S.dysenteriae*.

Ekstrak tumbuhan kaya tannin telah menunjukkan efek antimikroba yang tinggi. Tannin merupakan ligan multidentant yang dapat berikatan dengan protein melalui interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen (Kaczmarek, 2020). Membran luar bakteri gram-negatif liopolisakarida memberikan resistensi antibiotik terhadap bakteri gram-negatif. Dinding sel memberikan perlindungan pada sel bakteri dari lingkungan dan mempertahankan bentuk serta integritas bakteri. Tannin dapat menghambat sintesis dinding sel dengan menonaktifkan enzim yang terlibat dalam sintesis dinding sel atau dengan mengikat langsung dinding sel (Farha *et al.*, 2020). Ikatan hidrogen yang terbentuk antara tannin dengan protein dinding sel bakteri akan mengakibatkan protein rusak dan terdenaturasi sehingga metabolism bakteri terganggu. Selain itu, tannin juga bereaksi dengan fosfolipid dalam membrane sel yang mengakibatkan kerusakan pada membrane sel sehingga terjadi kebocoran metabolit esensial yang menonaktifkan sistem enzim bakteri (Mailoa *et al.*, 2014).

Aktivitas antibakteri flavonoid melalui tiga cara yaitu membunuh bakteri, mengaktifkan antibiotik secara sinergis, dan melemahkan patogenitas bakteri.

Selain itu, senyawa flavonoid juga dapat menghentikan sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sel, dan metabolisme energi. Cincin B senyawa flavonoid berperan pada proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk asam basa nukleat yang mengakibatkan sintesis DNA dan RNA terhambat (Xie *et al.*, 2015). Terganggunya fungsi membrane sel oleh senyawa flavonoid terjadi melalui ikatan komplek dengan protein ekstrakseluler yang memiliki sifat larut sehingga dapat menganggu integritas membrane sel bakteri (Rahman *et al.*, 2017).

Efektivitas zat antibakteri dalam daun jambu biji australia dapat ditingkatkan dengan teknologi nanopartikel. Nanopartikel merupakan partikel dengan ukuran 100 nm dengan kemampuan menembus ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal (Martien *et al.*, 2012). Menurut Rizvi & Saleh (2018) semakin kecil ukuran partikel maka rasio luas permukaan dengan volume semakin besar. Hal ini menunjukkan bahwa lebih banyak zat obat yang berada di dekat permukaan partikel dibandingkan dengan molekul yang lebih besar. Zat obat di dekat permukaan partikel akan lebih mudah dilepaskan sehingga lebih mudah ditunjukkan efektivitasnya.

#### **4.4 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Berdasarkan Sudut Pandang Islam**

Kandungan senyawa antibakteri dalam daun jambu biji australia merupakan bukti kekuasaan Allah SWT. Segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah memiliki tujuan dan manfaat. Allah SWT telah memerintahkan manusia untuk selalu memikirkan hakikat penciptaan segala sesuatu di alam semesta ini, dengan harapan manusia dapat mensyukuri nikmat Allah hingga menjadi insan *ulul albab*. Allah SWT berfirman dalam QS. Ali Imran ayat 190 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ الَّيلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولَى الْأَبْلَابِ – ۱۹۰

Artinya :"Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal"

*Ulul albab* merupakan orang yang menggabungkan antara dzikir dan pikir. Manusia *ulul albab* akan selalu mengingat Allah dalam segala keadaan serta

memikirkan penciptaan alam semesta dan segala sesuatu yang di dalamnya tidak sia-sia dan memiliki manfaat. Tafakur alam akan mendekatkan diri kepada Allah SWT dengan mengakui kelemahan sebagai makhluk, mengakui kekuasaan Allah SWT, dan senantiasa berdoa kepada Allah. Sebagai manusia yang berakal diperintahkan untuk selalu belajar dan memahami penciptaan makhluk-makhluk Allah, salah satunya penciptaan daun jambu biji australia.

Atas kuasa Allah SWT, senyawa aktif dalam daun jambu biji australia dapat digunakan sebagai agen antibiotik alami dengan mekanisme kerja yang sudah diatur oleh Allah. Senyawa antibakteri dalam daun jambu biji australia akan bermanfaat bagi manusia jika digunakan dengan takaran atau dosis yang tepat. Oleh karena itu, pengujian konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bakterisida minimum dari zat antimikroba secara in-vitro diperlukan untuk menentukan dosis terendah yang dianggap efektif dalam menghambat dan membunuh mikroba serta mengurangi peluang munculnya resistensi akibat penggunaan antimikroba dalam dosis yang tinggi (Afifi & Erlin, 2017). Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-A'raf ayat 31 yang berbunyi:

يَٰٰيُّٰنِيْ أَدَمَ حُذُوْرًا زِيْنَتُكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُّوَا وَأَشْرَبُوَا وَلَا شُرْفُوَا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Artinya : "Wahai anak cucu Adam! Pakailah pakaianmu yang bagus pada setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, tetapi jangan berlebihan. **Sungguh, Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan.**" (QS.Al-A'raf (7): 31)

Ayat di atas mengatakan bahwa Allah tidak menyukai sesuatu yang berlebihan. Quthb (2004) menjelaskan bahwa "Israf" berarti melampaui batas dari yang semestinya dalam segala sesuatu sehingga tidak memberikan manfaat melainkan mudharat bagi dirinya. Hal ini menunjukkan bahwa segala sesuatu memiliki ukuran atau takaran yang sesuai dengan kebutuhan manusia. Di dalam ilmu kesehatan, penggunaan antibiotik harus sesuai dengan dosisnya tidak boleh melebihi batas yang ditentukan. Dalam QS. Al-Furqan ayat 2, Allah SWT berfirman:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ  
فَقَرَّةً تَقْدِيرًا

Artinya : "Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(-Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat."(QS. Al-Furqan (25): 2)

Ayat di atas mengatakan bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukurannya. Allah telah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan kehendak-Nya yang memiliki hikmah yang mendalam dan Dia menciptakan sesuatu sesuai dengan ukurannya dengan tepat dan teliti (Ash-Siddoeqy, 2011). Dalam penggunaan obat antibakteri penting untuk memperhatikan kadar atau dosis yang tepat guna memperoleh hasil yang maksimal. Dosis atau takaran yang berlebih akan mengakibatkan bakteri resistensi dan menimbulkan efek buruk pada tubuh sehingga pengobatan terhadap infeksi bakteri menjadi tidak efisien dan efektif.

Allah SWT menganjurkan setiap umatnya untuk berikhtiar dalam hal kesembuhan terhadap suatu penyakit. Dalam sebuah hadis riwayat Ahmad, Rasulullah SAW., bersabda," Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersama. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya". Hadist tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan suatu penyakit sudah bersamaan dengan obatnya. Oleh karena itu, sebagai manusia yang berakal ketika mengalami rasa sakit sudah semestinya mengobati rasa sakit yang diderita tersebut, agar penyakit yang dialami cepat sembuh dan kembali pulih seperti semula serta dapat kembali beribadah kepada Allah SWT. Berdasarkan penelitian ini, senyawa aktif dalam daun jambu biji australia memiliki kemampuan sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif terhadap shigellosis yang bermanfaat bagi manusia.

Lingkungan memiliki peran penting bagi manusia untuk memenuhi kebutuhannya, salah satunya yaitu obat-obatan yang dapat diperoleh dari lingkungan. Manusia sebagai khalifah di muka bumi seharusnya memperhatikan segala penciptaan Allah SWT seperti berbagai macam tanaman yang telah ditumbuhkan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ini telah menunjukkan

bahwa tanaman jambu biji australia dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk menanggulangi masalah kesehatan. Selain itu, penggunaan antibiotik dari bahan alam dinilai lebih aman dan tidak berbahaya terhadap lingkungan sekitar.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun jambu biji australia antara lain yaitu tannin, flavonoid, dan saponin. Kadar total tannin ekstrak daun jambu biji australia sebesar 18,62 mgTAE/g. Kadar total flavonoid ekstrak etanol daun jambu biji australia sebesar 117,05 mgQE/g.
2. Nilai zona hambat ekstrak etanol daun jambu biji australia terhadap *S.dysenteriae* pada konsentrasi 10% hingga 100% memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori kuat dengan nilai zona hambat tertinggi  $15,95 \pm 0,52$  mm.
3. Nilai KHM ekstrak etanol daun jambu biji australia terhadap *S.dysenteriae* pada konsentrasi 2,5% sebanyak  $5,4 \times 10^3$  CFU/mL dan nilai KBM pada konsentrasi 10%.

#### **5.2 Saran**

Saran dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan uji senyawa fitokimia yang lebih spesifik sebagai antibakteri dari ekstrak daun jambu biji australia.
2. Perlu dicari metode ekstraksi dan pelarut yang dapat mengekstrak lebih banyak senyawa aktif dalam daun jambu biji australia.
3. Perlu dilakukan penelitian terhadap aktivitas antibakteri nanopartikel daun jambu biji australia.
4. Penelitian perlu lanjut secara *in vivo* terhadap pengaruh ekstrak etanol daun jambu biji australia terhadap bakteri *S.dysenteriae*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. Z., Arsin, A. A., & Dahlan, L. (2012). Faktor Risiko Diare Shigellosis pada Anak Balita Risk Factors of Shigellosis Diarrhea in Children Under Five Years Old. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 7(1), 16–21.
- Adnyana, I. K., Yulinah, E., Sigit, J. I., Fisher, N., & Insanu, M. (2004). Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji Daging Buah Merah Sebagai Antibakteri. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, XXIX(1), 19–27.
- Affan, I., Razali, & Rastina. (2017). Jumlah Cemaran Total Plate Count (TPC) dan Escherichia coli Susu Kambing Segar yang Berasal dari Usaha Ternak Kambing Perah di Kecamatan Syiah Kuala Banda Aceh. *J. Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(1), 17–22. <http://www.jim.unsyiah.ac.id/FKH/article/view/5660>
- Afifi, R., & Erlin, E. (2017). Uji Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat *Propionibacterium acnes* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(2), 321–330.
- Ahmad, A. F., & Hidayati, N. (2018). Pengaruh Jenis Mordan Dan Proses Mordanting Daun Jambu Biji Australia. *Indonesian Journal of Halal*, 1(2), 1–5.
- Aini, F. (2018). Isolasi dan Identifikasi Shigela sp. Penyebab Diare pada Balita. *Bio-Site*, 04(1), 1–40.
- Ali, M., Yahaya, A., Zage, A., & Yusuf, Z. (2017). In-vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Psidium guajava* on Some Enteric Bacterial Isolates of Public Health Importance. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 1–7. <https://doi.org/10.9734/jamps/2017/31126>
- Amalia, S., Wahdaningsih, S., & Untari, E. K. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(2), 61–64. <https://doi.org/10.33096/jffi.v1i2.191>
- Amin, L. Z. (2014). *Pemilihan antibiotik yang rasional*. *Medical Review*. 27(3): 40–5. 27(3), 40–45.
- Anggraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniaristi, A., Lisdiana, WH, N., Habibah, N. A., & Bintari, S. H. (2018). *Metabolit Sekunder Dari Tanaman Aplikasi dan Produksi*. Semarang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Arima, H., & Danno, G. (2002). Isolation of Antimicrobial Compounds from Guava (*Psidium guajava* L.) and their Structural Elucidation Isolation of Antimicrobial Compounds from Guava (*Psidium guajava* L.) and their Structural Elucidation. *Biosci, Biotechnol, Biochem*, 66(8), 1727–1730. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.1727>
- Ash-Shiddoeqy, Tengku Muhammad Hasbi. 2011. *Tafsir Al-Qur'anul Madjid An-Nur Jilid 3*. Jakarta: Cakrawala Publishing.
- Astiti, N. P. A., Sudirga, S. K., & Ramona, Y. (2019). Analysis of Phenolic and Tannin Contents in the Methanol Extract of Sweet and Sour Star Fruit Plants (*Averrhoa carambola* L) Leaves Commonly Used as Raw Materials of

- Lawar (A Balinese Traditional Food). *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*, 3(1), 5. <https://doi.org/10.24843/atbes.2019.v03.i01.p02>
- Aulia, D. R., Muthmainah, N., & Yasmina, A. (2020). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung dan Daun Jambu Biji Terhadap *Salmonella typhi* In Vitro. *Homeostasis*, 3(1), 7–14. <http://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/hms/article/view/1999>
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl<sub>3</sub> Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45–49. <https://doi.org/10.26874/kjif.v2i2.14>
- Azizah, M., & Ekawati, S. (2017). Profil Kromatogram dan Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap Bakteri Penyebab Disentri dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Penelitian Sains*, 19(2), 86–93.
- Azizah, M., Lingga, L. S., & Rikmasari, Y. (2020). Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan madu hutan terhadap beberapa bakteri penyebab penyakit kulit. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(1), 37–44. <http://www.ejurnal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/article/view/547>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bangkele, E. Y., & Greis, S. (2015). Efek Antibakteri dari Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* [ L ] Swartz ) terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Kesehatan Tadulako*, 1(2), 52–60. <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/HealthyTadulako/article/viewFile/5737/4503>
- Bergey's. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. USA: Springer. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01435-0>
- Berlian, Z., Fatiqin, A., & Agustina, E. (2016). Penggunaan Perasan Jeruk Nipis dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* pada Bahan Pangan. *Jurnal Bioilm*, 2(1), 51–58.
- Biharee, A., Sharma, A., Kumar, A., & Jaitak, V. (2020). Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. *Fitoterapia*, 146, 104720. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104720>
- Bora, C., Bharali, P., Baglari, S., Dolui, S. K., & Konwar, B. K. (2013). Strong and conductive reduced graphene oxide/polyester resin composite films with improved mechanical strength, thermal stability and its antibacterial activity. *Composites Science and Technology*, 87, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2013.07.025>
- Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. (2016). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology* (27th Ed.). New York: McGraw-Hill.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colometric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Choma, I. M., & Grzelak, E. M. (2011). Bioautography detection in thin-layer

- chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1218(19), 2684–2691. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.069>
- CLSI. (2009). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests ; Approved Standard* (10th Ed., Vol. 29, Issue 1). Wayne, PA: CLSI.
- CLSI. (2015). *M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Vol. 35 No. 2* (Issue January). [www.clsi.org](http://www.clsi.org).
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Darminto, Ali, A., & Dini, I. (2009). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Potensial Menghambat Pertumbuhan Bakteri. *Chemica*, 10(2), 92–99.
- Darsono, F. L., & Artemisia, S. D. (2003). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Jambu Biji dari Beberapa Kultivar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan Hole-Plate Diffusion Method. *Berkala Penelitian Hayati*, 9(1), 49–51. <https://doi.org/10.23869/bphjbr.9.1.200310>
- Dhuha, S., Bodhi, W., & Kojong, N. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Lamun (*Syiringodium Isoetifolium*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmacon*, 5(1). <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.11246>
- Dwicahyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling Holothuria atra Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J.Peng. & Biotek*, 7(1), 15–24. <https://doi.org/http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jpbhp>
- Engelkirk, P. G., & Duben-Engelkrik, J. (2011). *Burton's Microbiology for the Health Sciences 10th Ed.* (9th Ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Fadiyah, R., Izzah, Z., Isnaeni, & Sugijanto, N. E. N. (2014). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Probiotik (*Bifidobacterium bifidum* dan *Lactobacillus acidophilus*) dengan Infus Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*). *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 3(1), 16–22.
- Farha, A. K., Yang, Q., Kim, G., Li, H., Zhu, F., Liu, H., Gan, R., & Corke, H. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>
- Farhana, J. A. (2017). Antibacterial Effects of Guava (*Psidium guajava* L.) Extracts Against Food Borne Pathogens. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 6(1), 1. <https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20170601.11>
- Febryana, S. F. A. (2020). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji Ungu (*Psidium guajava* L.) Menggunakan Pelarut yang Berbeda. In *Skripsi*. Malang: UIN Malang.
- Fratiwi, Y. (2015). The Potential Of Guava Leaf (*Psidium guajava* L .) For Diarrhea. *Majority*, 4(1), 113–118.
- Galvao, J., Davis, B., Tilley, M., Normando, E., Duchen, M. R., & Cordeiro, M. F. (2014). Unexpected low-dose toxicity of the universal solvent DMSO. *FASEB Journal*, 28(3), 1317–1330. <https://doi.org/10.1096/fj.13-235440>
- Girsang, G. E., Rini, D. I., & Woda, R. R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Cendana Medical Journal*, 3, 450–455. <https://ejurnal.undana.ac.id/CMJ/article/view/2651/1929>

- Handarni, D., Putri, S. H., & Tensiska, T. (2020). Skrining Kualitatif Fitokimia Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 8(2), 182–188. <https://doi.org/10.21776/ub.jkptb.2020.008.02.08>
- Handayani, F., Sundu, R., & Sari, R. M. (2017). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(8), 422–433. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i8.62>
- Haryadi, I., & Hidayati, N. (2018). Ekstraksi Zat Warna Dari Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.). *Indonesia Journal of Halal*, 1(2), 97. <https://doi.org/10.14710/halal.v1i2.4180>
- Hirudkar, J. R., Parmar, K. M., Prasad, R. S., Sinha, S. K., Jogi, M. S., Itankar, P. R., & Prasad, S. K. (2019). Quercetin a major biomarker of *Psidium guajava* L. inhibits SepA protease activity of *Shigella flexneri* in treatment of infectious diarrhoea. *Microbial Phatogenesis*, 138, 103807. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103807>
- Holland, T. L., Woods, C. W., & Joyce, M. (2009). Antibacterial Susceptibility Testing in the Clinical Laboratory. *Infectious Disease Clinics of North America*, 23(4), 757–790. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2009.06.001>
- Hossain, M. A., Disha, N. K., Shourove, J. H., & Dey, P. (2020). Determination of Antioxidant Activity and Total Tannin from Drumstick (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves Using Different Solvent Extraction Methods. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(12), 2749–2755. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i12.2749-2755.4038>
- Hussen, S., Mulatu, G., & Yohannes Kassa, Z. (2019). Prevalence of *Shigella* species and its drug resistance pattern in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 18(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12941-019-0321-1>
- Ihsan, B. R. P., Rahmani, P. A., & Shalas, A. F. (2020). Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Analisis Kuersetin dalam Ekstrak dan Produk Jamu yang Mengandung Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(1), 45–51.
- Imran A. B., A. I. H. A., Jamaluddin, A. W., & Arifah, S. (2018). Uji Efek Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Bakteri *Salmonella pullorum* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(2), 353–360.
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia. <http://library.uui.ac.id;email: perpustakaan@uui.ac.id>
- Juliantoni, Y., & Mufrod. (2013). Formulasi Tablet Hisap Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guava* L.) yang Mengandung Flavonoid dengan Kombinasi Bahan Pengisi Manitol-Sukrosa. *Tradicional Medicine Journal*, 18(2), 103–108. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8038>
- Kaczmarek, B. (2020). Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials-A minireview. *Materials*, 13(14). <https://doi.org/10.3390/ma13143224>
- Kamath, J., Rahul, N., Ashok Kumar, C., & Lakshmi, Sm. (2008). *Psidium guajava* L: A review. *International Journal of Green Pharmacy*, 2(1), 9. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.39155>

- Kemenag. (2021). Qur'an Kemenag. (Online). <https://quran.kemenag.go.id/>. Diakses pada tanggal 25 Maret 2021.
- Kemenkes RI. (2019). *Profil Kesehatan Indonesia 2018 [Indonesia Health Profile 2018]*. [http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Data-dan-Informasi\\_Profil-Kesehatan-Indonesia-2018.pdf](http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Data-dan-Informasi_Profil-Kesehatan-Indonesia-2018.pdf)
- Kotloff, K. L., Riddle, M. S., Platts-Mills, J. A., Pavlinac, P., & Zaidi, A. K. M. (2017). Shigellosis. *The Lancet*, 391(10122), 801–812. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33296-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33296-8)
- Liem, A. F., Holle, E., Gemnafle, I. Y., & Wakum, D. S. (2013). Isolasi Senyawa Saponin dari Mangrove Tanjung (*Bruguiera gymnorhiza*) dan Pemanfaatannya sebagai Pestisida Nabati pada Larva Nyamuk. *Jurnal Biologi Papua*, 5(1), 27–34.
- Lumowa, S. V., & Bardin, S. (2018). Uji Fitokimia Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) Bahan Alam Sebagai Pestisida Nabati Berpotensi Menekan Serangan Serangga Hama Tanaman Umur Pendek. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(9), 465–469. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i9.87>
- Mailoa, M. N., Mahendradatta, M., Laga, A., & Djide, N. (2014). Antimicrobial Activities Of Tannins Extract From Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) On Pathogens Microbial. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 3(1).
- Manik, D. F., Hertiani, T., & Anshory, H. (2014). Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah*, 6(2), 1–11. <https://doi.org/10.20885/khazanah.vol6.iss2.art1>
- Martien, R., Adhyatmika, Irianto, I. D. K., Farida, V., & Sari, D. P. (2012). Perkembangan teknologi nanopartikel dalam sistem penghantaran obat. *Majalah Farmaseutik*, 8(1), 133–144. [https://www.academia.edu/download/41739804/Perkembangan\\_Teknologi\\_Nanopartikel\\_dala20160129-20505-1jxjfbc.pdf](https://www.academia.edu/download/41739804/Perkembangan_Teknologi_Nanopartikel_dala20160129-20505-1jxjfbc.pdf)
- Masadeh, M. M., Alzoubi, K. H., Khabour, O. F., & Al-Azzam, S. I. (2015). Ciprofloxacin-Induced Antibacterial Activity Is Attenuated by Phosphodiesterase Inhibitors. *Current Therapeutic Research - Clinical and Experimental*, 77, 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2014.11.001>
- Mawea, F., Maarisit, W., Datu, O., & Potalangi, N. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Cempedak *Artocarpus integer* Sebagai Antibakteri. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 2(1), 115–122.
- Mushtaq, M., Akhtar, B., Daud, M., Mohsin, F., Rehman, G., Iqbal, S., Iqbal, Z., & Khan, M. Z. (2014). In vitro antimicrobial activity of guava leaves extract against important bacterial and fungal strain. *International Journal of Biosciences*, 6655(23), 188–192.
- Nafianti, S., & Sinuhaji, A. B. (2005). Resisten Trimetoprim – Sulfametoksazol terhadap Shigellosis. *Sari Pediatri*, 7(1), 39–44.
- Natali, O., Tarigan, A. I., Sarumpaet, E., Salim, S., Dewani, Y., Hanida, W., & Yensuari, Y. (2021). Uji efektifitas antibakteri ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. *Jurnal Prima Medika Sains*, 3(1), 29–33. <https://doi.org/10.34012/jpms.v3i1.1776>
- Nn, A. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants,

- Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04(03), 3–8. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Nofita, N., Maria Ulfa, A., & Delima, M. (2020). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *JFL: Jurnal Farmasi Lampung*, 9(1), 10–17. <https://doi.org/10.37090/jfl.v9i1.326>
- Nofita, Tutik, & Garini, T. (2021). Pengaruh Pemilihan Teknik Ekstraksi Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 4(1), 12–22.
- Noviyanty, Y., Hepiyansori, & Agustian, Y. (2020). Identifikasi dan penetapan kadar senyawa tanin pada kstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) metode spekktrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 57–64. [http://jurnal.akfarsam.ac.id/index.php/jim\\_akfarsam/article/view/307](http://jurnal.akfarsam.ac.id/index.php/jim_akfarsam/article/view/307)
- Nurtami, & Auerkari, E. (2002). Mekanisme Inhibisi Sintesis Protein dan Dasar Molekuler Resistensi Antibiotik. In *Jurnal Kedokteran Gigi* (Vol. 9, Issue 1, pp. 25–28).
- Owuama, C. I. (2017). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *African Journal of Microbiology Research*, 11(23), 977–980. <https://doi.org/10.5897/ajmr2017.8545>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, 1–15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Pangestu, N. S., Nurhamidah, & Elvinawati. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Jatropha gossypifolia* L. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1(1), 15–19.
- Parimin.(2007). Jambu Biji: *Budidaya dan Ragam Pemanfaatannya*. Depok: Penebar Swadaya.
- Pratama, M., Razak, R., & Rosalina, V. S. (2019). Analisis Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(2), 368–373. <https://doi.org/10.33096/jffi.v6i2.510>
- Pratiwi, D., Suswati, I., & Abdullah, M. (2013). Efek Anti Bakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Salmonella typhi* Secara in Vitro. *Saintika Medika*, 9(2), 110–115. <https://doi.org/10.22219/sm.v9i2.4139>
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418–429.
- Pratiwi, Sylvia T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Prihantoro, T., Indra, R., & Sumarno. (2006). Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum*) terhadap *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, XXII, No.3.
- Pujoharjo, P., & Herdiyati, Y. (2018). Efektivitas antibakteri tanaman herbal terhadap *Streptococcus mutans* pada karies anak. *Journal of Indonesian Dental Association Departemen Kedokteran Gigi Anak Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 1(1), 51–56. <http://jurnal.pdggi.or.id/index.php/ijpd/article/view/317>
- Purwanti, N. U., & Susanti, R. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri dan Antifungal Ekstrak Etanol *Rimpang acorus* sp. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*, 2(1), 256–268.

- Purwati, S., Lumora, S. V. T., & Samsurianto. (2017). Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana camara* L) Sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Holtikultura di Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2017*, 153–158.
- Qonita, N., Susilowati, S. S., & Riyandini, D. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*. *Acta Pharm Indo*, 7(2), 51–57. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3707071>
- Quthb, S. (2004). *Tafsir Fi Zhilalil-Qur'an* (A. Yasin (ed.); Jilid 8). Jakarta: Gema Insani Press.
- Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. W. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>
- Rianto, L., Handayani, I. A., & Septiyani, A. (2015). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai Antidiare yang Disebabkan Oleh Bakteri *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 181. <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.33>
- Riedel, S., Morse, S. A., Mietzner, T., & Miller, S. (2019). *Jawetz, Melnick, & Adelbergs Medical Microbiology* (28th Ed.). New York: McGraw-Hill.
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96%. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), 82–95.
- Rizvi, S. A. A., & Saleh, A. M. (2018). Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(1), 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.10.012>
- Rochmasari, Y. (2011). Senyawa Kimia dalam Fraksi Netral Daun Jambu Biji Australia ( *Psidium guajava* L.). *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia, 82.
- Rohilla, A. (2010). *Handbook of Bacteriology*. New Delh: Oxford Book Company.
- Rohma, I. S. (2020). *Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Jeringau (Acorus calamus L.) Tersalut Kitosan terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus, Escherichia coli, dan Candida albicans*. Malang: UIN Malang.
- Ryan, K. J. (2018). *Sherris Medical Microbiology* (7th editio). New York: McGraw-Hill.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., & Simbala, H. E. I. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*, 1(1), 47–53. <https://doi.org/10.35799/cp.1.1.2008.26>
- Sapara, T. U., & Waworuntu, O. (2016). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon*, 5(4), 10–17. <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.13968>
- Saputri, R., Hakim, A. R., Syahrina, D., & Lisyanti, F. (2019). Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Kulit Luar Buah Cempedak (*Artocarpus integer* (Thunb.) Merr.). *Jurnal Surya Medika*, 5(1), 53–62. <https://doi.org/10.33084/jsm.v5i1.945>
- Sari, E. R., Lely, N., & Septimarleti, D. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol dan Beberapa Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

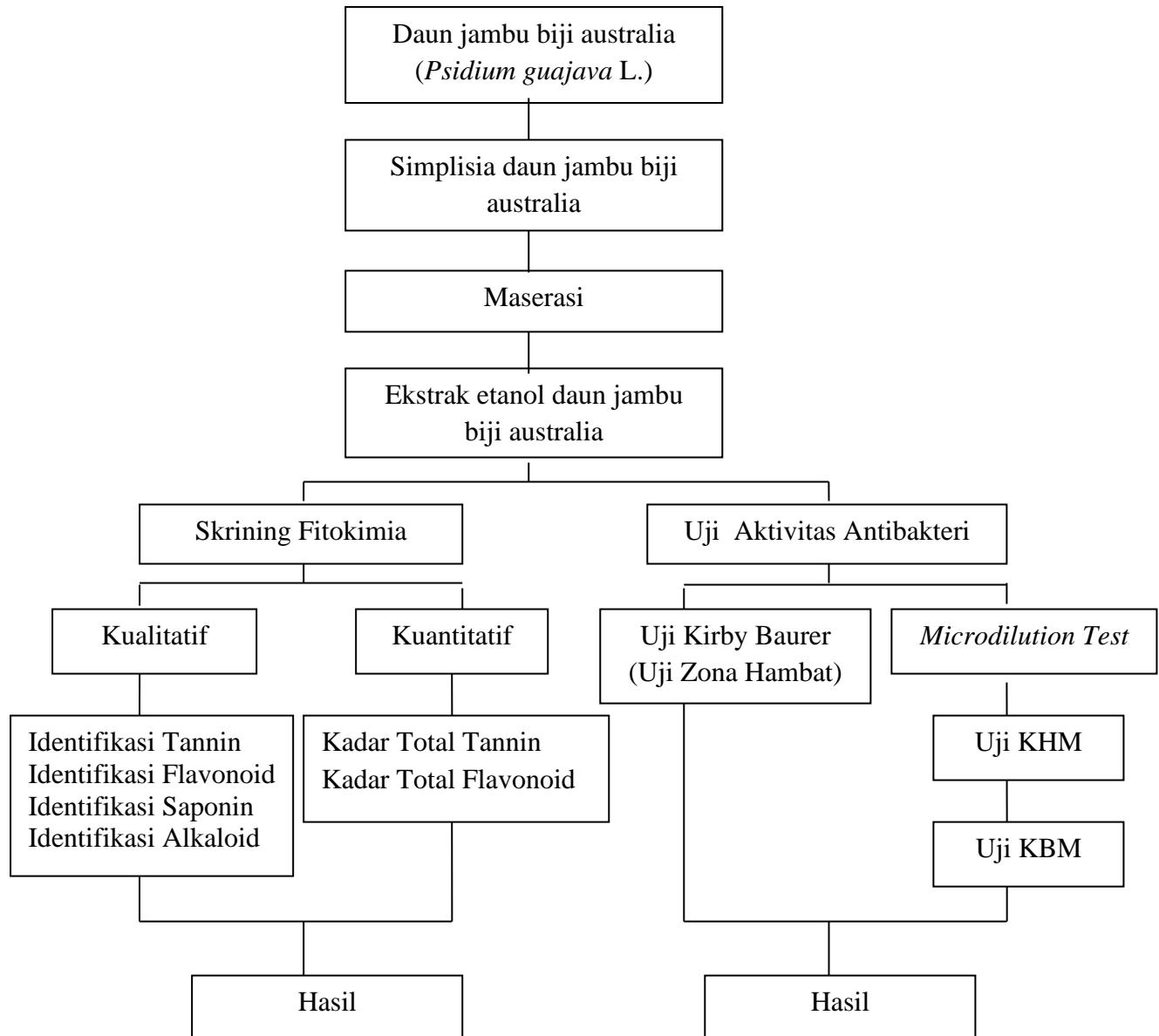
- terhadap Bakteri Penyebab Disentri *Shigella* sp. *Jurnal Penelitian Sains*, 20(1), 14–19.
- Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A. C. (2007). *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. New York: CRC Press.
- Senhaji, S., Lamchouri, F., & Toufik, H. (2020). Phytochemical Content , Antibacterial and Antioxidant Potential of Endemic Plant *Anabasis aretioides* Coss . & Moq . ( Chenopodiaceae ). *BioMed Research International*, 2020.
- Sholihah, M. (2017). Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi dan Kulit Manggis. *Jurnal Keteknikan Pertanian*, 5(2), 161–168.
- Silviani, Y., & Utomo, L. B. (2017). Efektivitas Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina terhadap Pertumbuhan *Shigella dysentriiae*. *Biomedika*, 10(1), 12–18. <https://doi.org/10.31001/biomedika.v10i1.219>
- Sine, Y., & Fallo, G. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 1(1), 9–11.
- Stella, & Siregar, T. M. (2020). Pemanfaatan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dan Serbuk Daun Stevia (*Stevia rebaudina*) dalam Pembuatan Minuman Fungsional. *FaST-Jurnal Sains Dan Teknologi*, 4(2), 1–18.
- Sungkar, O. F., Khanza, S., & Pangestu, R. A. (2018). Aktivitas Antibakteri Bedak yang Diperkaya dengan Konsentrasi Ekstrak Buah (*Rhizophora mucronata*). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(2), 135–141–141. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/tekpangan/article/view/21170/20434>
- Talaro, K. P., & Chess, B. (2002). *Foundation in Microbiology* (Fourth Edi). New York: McGraw-Hill.
- Talaro, K. P., & Chess, B. (2015). *Foundations in Microbiology* (Ninth Edit). New York: McGraw-Hill.
- Tampedje, A. A. D., Tuda, J. S. B., & Leman, A. (2016). Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn.) terhadap Pertumbuhan Koloni *Streptococcus mutans*. *Pharmacon*, 5(3), 222–228. <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.12995>
- Tarigan, P. (2018). Sistem Pakar Untuk Mendiagnosa Penyakit Disentri Dengan Menggunakan Metode Hybrid Case Based. *Jurnal Teknik Informatika Kaputama (JTIK)*, 2(9), 1689–1699.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Sciencia*, 1(1), 98–106.
- Todar, K. (2005). *Online Textbook of Bacteriology*. Madison: University of Wisconsin.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. (2010). *Microbiology an Introduction* (Tenth Edit). San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.
- Triatmoko, B., Almuttaqin, H., & Dianasari, D. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L .) dan Gentamisin terhadap Staphylococcus epidermidis (Antibacterial Activity Test Combination of Coriander Seeds Essential Oil (*Coriandrum sativum* L ) and Gentamicin. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 6(3), 421–425.

- Tuntun, M. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan*, 7(3), 497. <https://doi.org/10.26630/jk.v7i3.235>
- Vance-Bryan, K., Guay, D. R. P., & Rotschafer, J. C. (1990). Clinical Pharmacokinetics of Ciprofloxacin. *Clinical Pharmacokinetics*, 19(6), 503–503. <https://doi.org/10.2165/00003088-199019060-00007>
- Wicaksono, I. B., & Ulfah, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *Inovasi Teknik Kimia*, 2(1), 44–48.
- Widarta, I. W. R., & Arnata, I. W. (2017). Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. *Agritech*, 37(2), 148. <https://doi.org/10.22146/agritech.10397>
- Williams, P., & Berkley, J. A. (2016). Dysentery (Shigellosis) Current WHO Guidelines and the WHO Essential Medicine List for Children. *World Health Organization*, 33. [http://www.who.int/selection\\_medicines/committees/expert/21/applications/s6\\_paed\\_antibiotics\\_appendix5\\_dysentery.pdf](http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/21/applications/s6_paed_antibiotics_appendix5_dysentery.pdf)
- Williams, P. C. M., & Berkley, J. A. (2018). Guidelines for The Treatment of Dysentery (Shigellosis): A Systematic Review of The Evidence. *Paediatrics and International Child Health*, 38(May), S50–S65. <https://doi.org/10.1080/20469047.2017.1409454>
- Wirasisya, D. G., Hajrin, W., & Handa, M. (2018). Aktivitas Antibakteri Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Kedokteran*, 7(2), 16. <http://jku.unram.ac.id/article/view/180>
- Wulandari, P., Suswati, E., Misnawi, & Rianul, A. (2012). Antibacterial Effect of Ethanol Extract Cocoa Beans (*Theobroma cacao*) on Growth in Vitro by *Shigella dysentriae*. *Jurnal Medika Planta*, 1(5), 67–75.
- Wuon, K. D., Pangemanan, D. H. C., & Anindita, P. S. (2018). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Getah Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa acuminata L.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *E-GIGI*, 6(2). <https://doi.org/10.35790/eg.6.2.2018.20853>
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2015). Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132–149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>
- 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. <http://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/hms/article/view/1999>
- Yuan, Y., Zhou, F., Su, H., & Zhang, Y. (2019). Structural Design of Microbicidal Cationic Oligomers and Their Synergistic Interaction with Azoles Against *Candida albicans*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48322-x>
- Yulneriwarni, Y., Silfia, H., & Handayani, S. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak makroalga *Padina australis* dan *Laurencia nififica* di Kepulauan Seribu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pro-Life*, 3(3), 154–166.

- Yunita, M., Hendrawan, Y., & Yulianingsih, R. (2015). Quantitative Analysis of Food Microbiology in Flight (Aerofood ACS) Garuda Indonesia Based on the TPC (*Total Plate Count*) with the Pour Plate Method. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 3(3), 237–248.
- Yusuf, S. (2011). Profil Diare di Ruang Rawat Inap Anak. *Sari Pediatri*, 13(4), 265. <https://doi.org/10.14238/sp13.4.2011.265-70>
- Zein, U., Sagala, K. H., & Ginting, J. (2004). Diare Akut Disebabkan Bakteri. *E-USU Repository. Universitas Sumatera Utara*, 1–15.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zhang, X., Wang, G., Gurley, E. C., & Zhou, H. (2014). Flavonoid Apigenin Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response through Multiple Mechanisms in Macrophages. *PLoS ONE*, 9(9), e107072. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107072>

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Rancangan Penelitian



## Lampiran 2. Rumus-rumus

### 2.1 Penentuan Ulangan

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

$$10(n-1) \geq 15$$

$$10n - 10 \geq 15$$

$$10n \geq 25$$

$$n \geq 2,5$$

$$n \geq 3$$

### 2.2 Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

Berat Ekstrak = Berat isi total-Berat wadah kosong

$$= 75,4987 \text{ gram} - 63,7871 \text{ gram}$$

$$= 11,7116 \text{ gram}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat yang diekstrak}} \times 100\%$$

$$= \frac{11,7116 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 23,4232\%$$

### 2.3 Pengenceran

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$100\% \cdot x = 90\% \cdot 1 \text{ mL}$$

$$x = \frac{90\% \cdot 1 \text{ mL}}{100\%}$$

$$x = 0,9 \text{ mL}$$

### 2.4 Penetapan Kadar Total Tanin

$$\text{Kadar Total Tanin (mgTAE/g)} = \frac{x \cdot v \cdot Fp}{m}$$

$$y = 0,014x - 0,013$$

$$1,288 = 0,014x - 0,013$$

$$1,301 = 0,014x$$

$$x = 92,93 \text{ ppm}$$

$$x = 0,09293 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Total Tanin} &= \frac{0,09293 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \cdot 10 \text{ ml.1}}{0,05 \text{ gram}} \\ &= 18,58 \text{ mgTAE/g} \end{aligned}$$

## 2.5 Penetapan Kadar Total Flavonoid

$$\text{Kadar Total Flavonoid (mgQE/g)} = \frac{x \cdot v \cdot Fp}{m}$$

$$y = 0,017x + 0,011$$

$$0,208 = 0,017x + 0,011$$

$$0,197 = 0,017x$$

$$x = 11,588 \text{ ppm}$$

$$x = 0,011588 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Total Flavonoid} &= \frac{0,011588 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \cdot 15 \text{ ml.10}}{0,015 \text{ gram}} \\ &= 115,88 \text{ mgTAE/g} \end{aligned}$$

## 2.6 Diameter Zona Hambat

$$\begin{aligned} \text{Diameter Zona Hambat (mm)} &= \text{Diameter keseluruhan yang terbentuk (mm)} - \\ &\quad \text{Diameter kertas cakram (mm)} \end{aligned}$$

$$\text{Diameter Zona Hambat} = 18,56 \text{ mm} - 6 \text{ mm}$$

$$= 12,56 \text{ mm}$$

## 2.7 Rumus Total Plate Count

$$\Sigma_{\text{sel}} = \Sigma_{\text{koloni}} \times \frac{1}{fp}$$

$$\Sigma_{\text{sel}} = 27 \times \frac{1}{1/200}$$

$$= 54 \times 10^2 \text{ CFU/mL}$$

$$= 5,4 \times 10^3 \text{ CFU/mL}$$

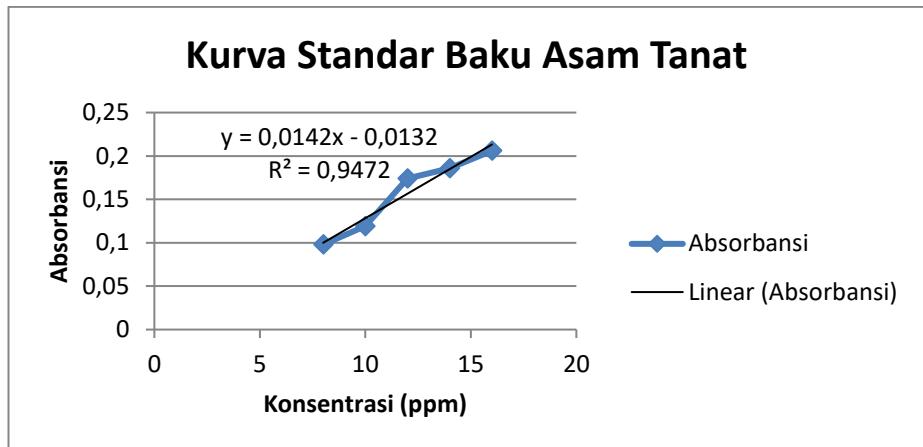
**Lampiran 3. Hasil Ekstraksi****Lampiran 4. Gambar Data Hasil Uji Fitokimia Secara Kualitatif**

Kandungan Fitokimia	Gambar
<b>Flavonoid</b>	
<b>Tanin</b>	
<b>Saponin</b>	

<b>Alkaloid</b>	<b>Pereaksi Mayer</b>		
	<b>Pereaksi Bouchardat</b>		
	<b>Pereaksi Dragendorff</b>		

#### Lampiran 5. Hasil Pengukuran Absorbansi Asam Tanat

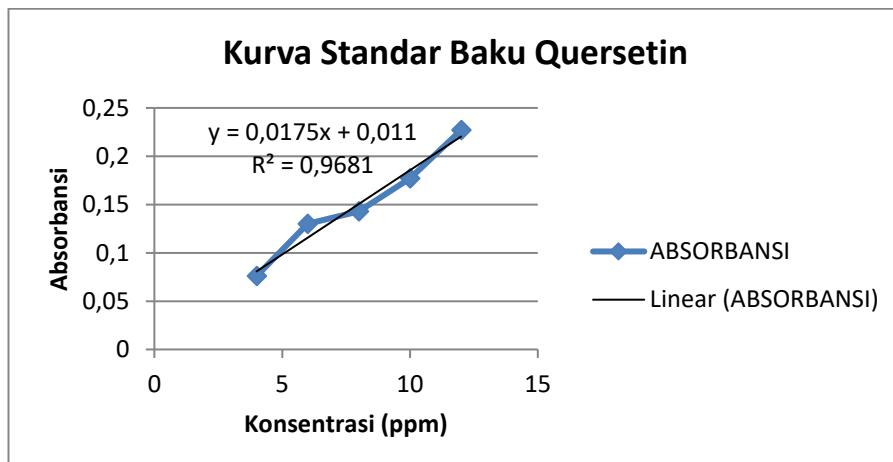
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
8	0.098
10	0.119
12	0.174
14	0.186
16	0.206



Replika	Absorbansi	Kadar Tanin Total (mgTAE/g)	Rata-rata
1	1,288	18,58	
2	1,293	18,65	18,62 mgTAE/g
3	1,294	18,67	

**Lampiran 6. Hasil Pengukuran Absorbansi Quercetin**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
4	0.076
6	0.130
8	0.143
10	0.177
12	0.227



Replika	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g)	Rata-rata
1	0.208	115,88	
2	0.212	118,23	117,05 mgQE/g
3	0.210	117,05	

#### Lampiran 7. Diameter Zona Hambat

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Kategori Zona Hambat
	1	2	3		
Kontrol negatif	0	0	0	0,00	Tidak ada
Kloramfenikol	2	1	3	2,00	Lemah
10%	8,83	12,56	10,5	10,63	Kuat
20%	13,80	8,79	7,72	10,10	Kuat
30%	6,01	12,95	13,47	10,81	Kuat
40%	13,05	10,78	11,34	11,72	Kuat
50%	9,82	12,11	15,41	12,44	Kuat
60%	13,69	14,3	10,51	12,83	Kuat
70%	15,67	12,66	13,90	14,07	Kuat
80%	16,12	16,10	11,70	14,64	Kuat
90%	15,43	15,82	13,12	14,79	Kuat
100%	15,86	15,49	16,52	15,95	Kuat
Kontrol positif	31,27	33,03	31,81	32,03	Sangat kuat

Keterangan: K+: Ciprofloxacin, K-: DMSO

### Lampiran 8. Uji Normalitas Data Zona Hambat

<b>Tests of Normality</b>							
	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona hambat	kontrol negatif	.	3	.	.	3	.
	kloramfenikol	.175	3	.	1.000	3	1.000
	konsentrasi 10%	.194	3	.	.996	3	.885
	konsentrasi 20%	.324	3	.	.877	3	.316
	konsentrasi 30%	.363	3	.	.802	3	.119
	konsentrasi 40%	.294	3	.	.921	3	.457
	konsentrasi 50%	.214	3	.	.989	3	.801
	konsentrasi 60%	.330	3	.	.867	3	.287
	konsentrasi 70%	.254	3	.	.964	3	.633
	konsentrasi 80%	.383	3	.	.753	3	.008
	konsentrasi 90%	.336	3	.	.856	3	.256
	konsentrasi 100%	.240	3	.	.974	3	.692
	Ciprofloxacin	.266	3	.	.953	3	.581

a. Lilliefors Significance Correction

### Lampiran 9. Uji Homogenitas Data Zona Hambat

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
zona hambat	Based on Mean	3.573	12	26	.003
	Based on Median	.518	12	26	.884
	Based on Median and with adjusted df	.518	12	8.980	.857
	Based on trimmed mean	3.151	12	26	.007

### Lampiran 10. Uji Kruskal-Wallis

#### Test Statistics<sup>a,b</sup>

zona hambat	
Kruskal-Wallis H	29.657
df	12
Asymp. Sig.	.003

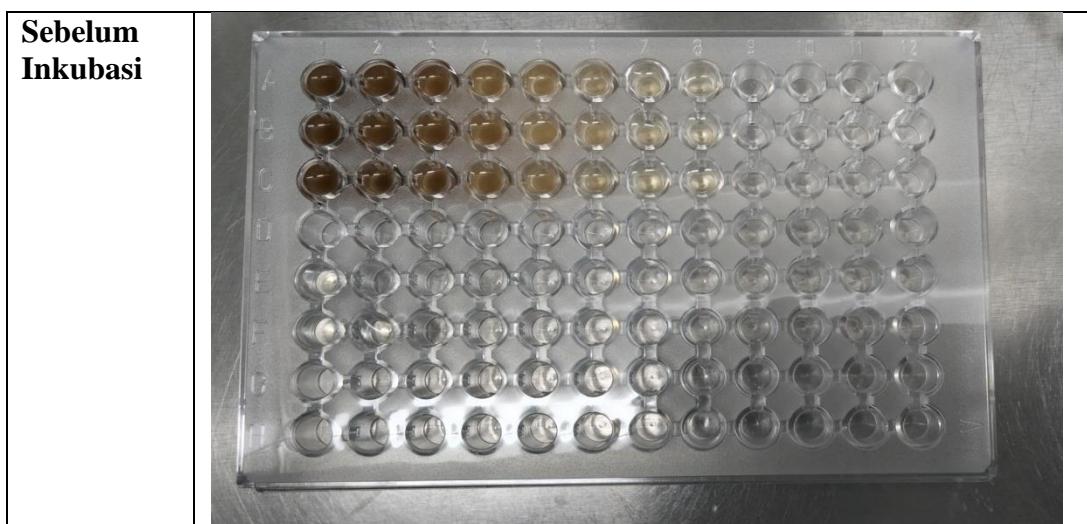
a. Kruskal Wallis Test

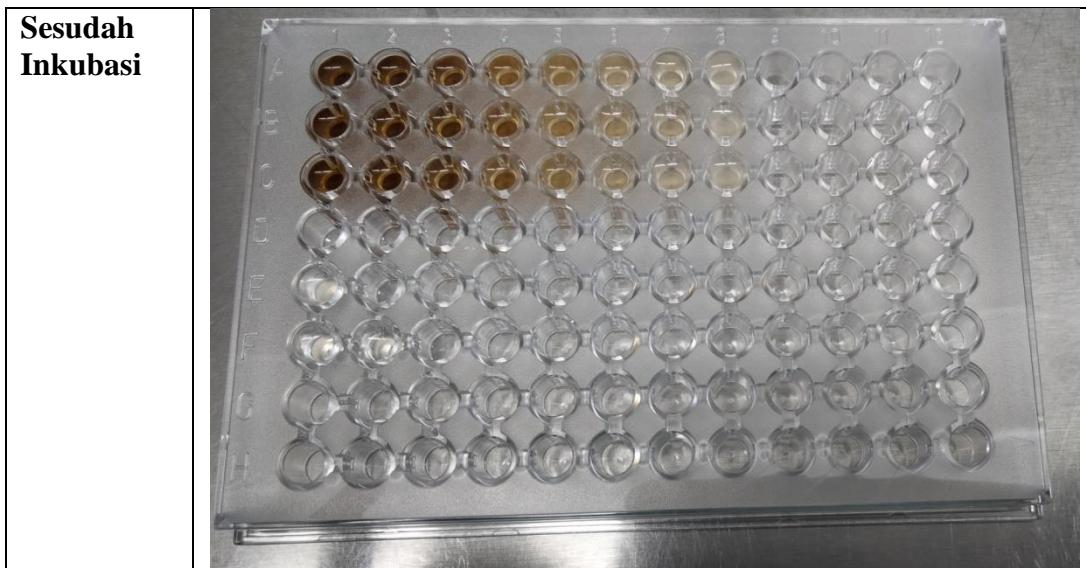
b. Grouping Variable: perlakuan

### Lampiran 11. Uji Mann-Whitney

	K-	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%	Cipro	Klo
K-													
10%	0,037												
20%	0,037	0,513											
30%	0,037	0,513	0,827										
40%	0,037	0,275	0,513	0,827									
50%	0,037	0,513	0,275	0,827	0,827								
60%	0,037	0,127	0,275	0,275	0,513	0,827							
70%	0,037	0,127	0,513	0,513	0,184	0,827	0,513						
80%	0,037	0,127	0,127	0,275	0,127	0,275	0,275	0,513					
90%	0,037	0,05	0,127	0,127	0,05	0,127	0,275	0,217	0,513				
100%	0,037	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,827	0,127			
Cipro	0,037	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		
Klo	0,037	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	

### Lampiran 12. Gambar Data Hasil Uji Microdilution Tube



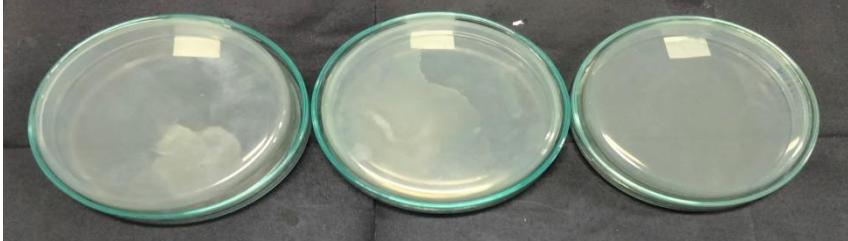
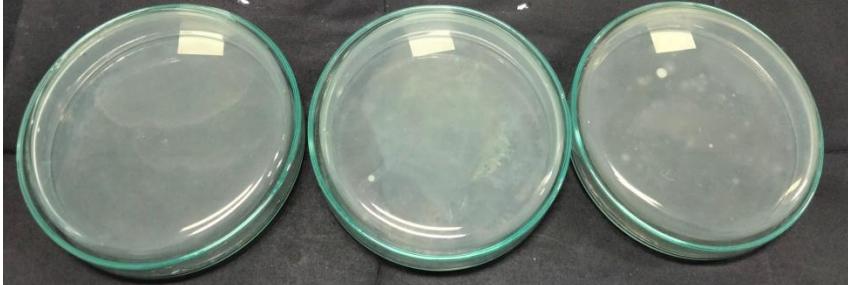


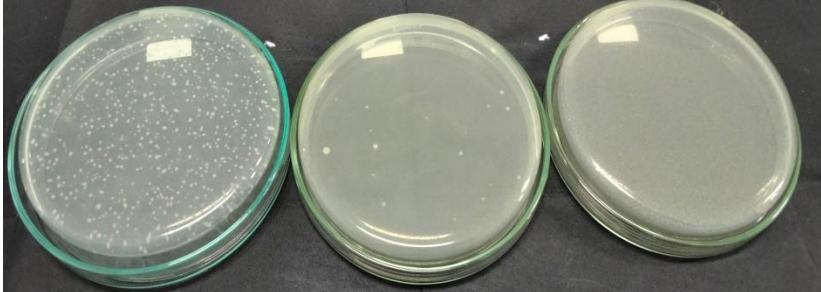
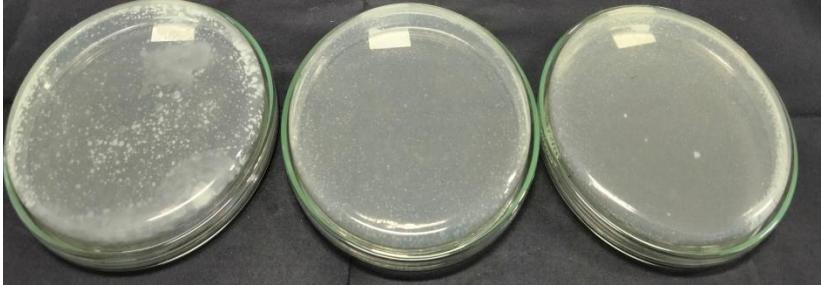
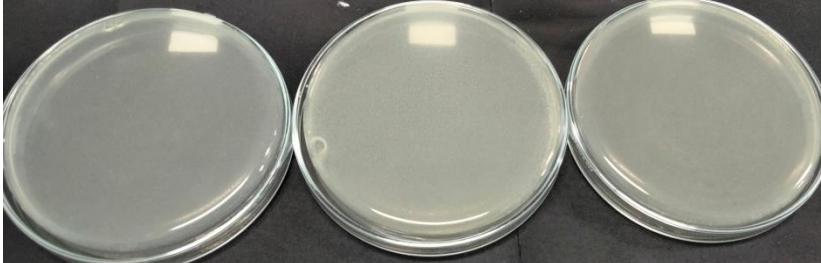
Keterangan :

- A1, B1, C1 : konsentrasi 10%
- A2, B2, C2 : konsentrasi 5%
- A3, B3, C3 : konsentrasi 2,5%
- A4, B4, C4 : konsentrasi 1,25%
- A5, B5, C5 : konsentrasi 0,625%
- A6, B6, C6 : konsentrasi 0,3125%
- A7, B7, C7 : konsentrasi 0,15625%
- A8, B8, C8 : konsentrasi 0,078125%

**Lampiran 13. Gambar Data Total Plate Count**

Konsentrasi		Ulangan	
	1	2	3
10%	Spreader	Spreader	0
5%	Spreader	1	Spreader
2,5%	TBUD	27	TBUD
1,25%	TBUD	TBUD	TBUD
0,625%	TBUD	TBUD	TBUD
0,3125%	TBUD	TBUD	TBUD
0,15625%	TBUD	TBUD	TBUD
0,078125%	TBUD	TBUD	TBUD

Konsentrasi	Hasil
<b>10%</b>	
<b>5%</b>	
<b>2,5%</b>	

<b>1,25%</b>	
<b>0,625%</b>	
<b>0,3125%</b>	
<b>0,15625%</b>	
<b>0,078125%</b>	

### Lampiran 14. Gambar Dokumentasi Penelitian

#### Preparasi Sampel

		
Daun jambu biji australia segar	Daun jambu biji australia setelah dikeringkan	Daun jambu biji Australia dihaluskan menggunakan blender
		
Serbuk simplisia daun jambu biji australia	Simplisia daun jambu biji australia diayak menggunakan ayakan 60 mesh	

#### Proses Ekstraksi

		
Penimbangan simplisia daun jambu biji australia	Perendaman simplisia daun jambu biji australia dalam etanol 70%	Diaduk sampel sampai homogen, kemudian didiamkan selama 72 jam

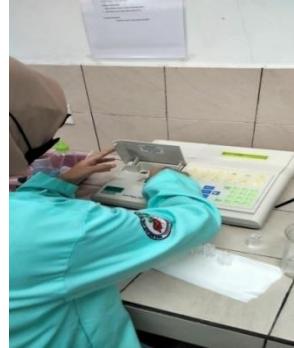
		
<p>Proses penyaringan filtrat menggunakan kertas saring whatman No.41</p>	<p>Proses penguapan filtrat menggunakan <i>rotary vacum evaporator</i></p>	<p>Ekstrak kental daun jambu biji australia</p>

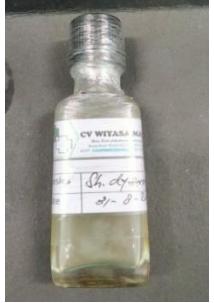
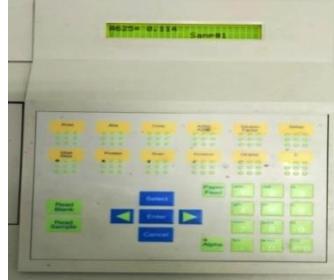
		
<p>Pengeringan ekstrak kental daun jambu biji australia menggunakan oven</p>	<p>Rendemen yang dihasilkan</p>	<p>Penyimpanan ekstrak daun jambu biji australia dalam botol yang dilapisi dengan alumunium foil dalam <i>freezer</i></p>

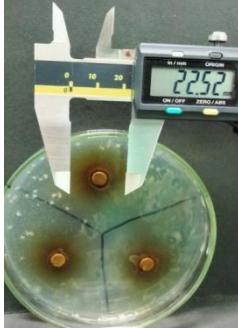
### Uji Fitokimia

		
<p>Penimbangan ekstrak</p>	<p>Uji kualitatif fitokimia</p>	<p>Persiapan bahan untuk larutan standar baku</p>

 <p>Larutan induk standar baku yang digunakan untuk uji kuantitatif fitokimia</p>	 <p>Pengenceran ekstrak untuk uji kuantitatif</p>	 <p>Larutan standar baku tannin</p>
 <p>Larutan standar baku flavonoid</p>	 <p>Pengukuran Absorbansi</p>	

## Uji Aktivitas Antimikroba

 <p>Persiapan media uji</p>	 <p>Sterilisasi alat dan media dalam autoklaf</p>	 <p>Isolat murni</p>
 <p>Pembuatan suspensi mikroba uji</p>	 <p>Perbandingan kekeruhan mikroba uji dengan larutan Mcfarland</p>	 <p>Pengukuran OD larutan Mcfarland</p>
 <p>Pengukuran OD suspensi mikroba uji</p>	 <p>Penimbangan bahan untuk larutan uji</p>	 <p>Larutan uji untuk perendaman kertas cakram</p>
 <p>Inokulasi suspensi mikroba uji di permukaan media</p>	 <p>Penanaman kertas cakram diatas media uji</p>	 <p>Uji konsentrasi hambat minimum</p>

	 <p>Pengukuran diameter zona hambat</p>	 <p>Perhitungan jumlah koloni menggunakan colony counter</p>
 <p>96-well plate (kiri), kertas cakram (kanan)</p>		

## Lampiran 15. Lembar Konsultasi



KEMENTERIAN AGAMA  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
**PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Icharizky Chrismonita  
 NIM : 17620093  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Genap TA 2020/ 2021  
 Pembimbing : Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc  
 Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara in Vitro

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	10/02/2021	Konsultasi Judul Penelitian	
2.	18/03/2021	Konsultasi BAB I, II, dan III	
3.	05/04/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I, II, dan III	
4.	07/04/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I, II, dan III	
5.	19/04/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I, II, dan III	
6.	08/05/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I, II, dan III	
7.	12/05/2021	ACC Proposal Skripsi	
8.	30/11/2021	Konsultasi BAB IV dan V	
9.	5/12/2021	Konsultasi Revisi BAB IV dan V	
10.	6/12/2021	ACC Skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc  
 NIP. 197410182003122002



Malang, 6 Desember 2021  
 Ketua Program Studi,  
 Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
 NIP.197410182003122002



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
**Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933**

### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Icharizky Chrismonita  
 NIM : 17620093  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Genap TA 2020/2021  
 Pembimbing : M. Imamuddin, M.A  
 Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara in Vitro

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	26/04/2021	Konsultasi Integrasi BAB I dan BAB II	
2.	07/05/2021	Konsultasi dan Revisi Integrasi BAB I dan BAB II	
3.	12/05/2021	ACC Integrasi Proposal Skripsi	
4.	03/12/2021	Konsultasi BAB IV	
5.	05/12/2021	Konsultasi Revisi BAB IV	
6.	06/12/2021	ACC Integrasi Skripsi	

Pembimbing Skripsi,

M. Imamuddin, M.A  
 NIP. 197406022009011010



Malang, 6 Desember 2021  
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP.197410182003122002

### Lampiran 16. Lembar Cek Plagiasi



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**JURUSAN BIOLOGI**  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp/Faks. (0341) 558933  
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

#### Form Checklist Plagiasi

**Nama** : Icharizky Chrismonita

**NIM** : 17620093

**Judul** : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro

No	Tim Cek Plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	25%	



Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi,

  
Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 197410182003122002