

Artikel Penelitian

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*

Antibacterial Activities of Extract Guava Leaf (*Psidium guajava L.*) on *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*

Noer Qonita¹⁾, Sri Sutji Susilowati*¹⁾, Dini Riyandini²⁾

¹⁾Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman

²⁾Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman

E-mail : srisutji.susilowati@yahoo.com

Abstrak

Diare merupakan salah satu masalah kesehatan yang masih menjadi penyebab utama tingginya morbiditas dan mortalitas pada anak di negara berkembang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan volume ekstrak daun jambu biji muda dan tua yang memiliki penghambatan paling tinggi terhadap bakteri *E. coli* dan *V. cholerae*. Ekstrak daun jambu biji muda dan tua diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dibuat konsentrasi 10%. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dibagi menjadi 5 perlakuan dengan perbedaan perbandingan daun jambu biji muda : daun jambu biji tua yaitu A 0 mL : 10 mL; B 2,5 mL : 7,5 mL; C 5 mL : 5 mL; D 7,5 mL : 2,5 mL; dan E 10 mL : 0 mL. Masing masing perlakuan dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer dengan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO 5%. Analisis data menggunakan Anova pada tingkat kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji LSD. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan konsentrasi ekstrak daun jambu biji muda dan daun jambu biji tua sebesar 10% menghasilkan penghambatan pertumbuhan bakteri. Zona hambat terbesar pada perlakuan A dengan zona hambat 8,16 mm pada *E. coli* dan 6,96 mm pada *V. cholerae*, dengan kadar tanin total sebesar 7,092 %GAE. Sedangkan zona hambat terkecil pada perlakuan E dengan zona hambat 6,6 mm pada *E. coli* dan 6,43 mm pada *V. cholerae*, dengan kadar tanin total sebesar 4,456 %GAE.

Kata kunci: Daun Jambu Biji, *E. coli*, *V. cholerae*, Kadar Tanin Total, Diameter Zona Hambat

Abstract

Diarrhea is one of the health problems that is still a major cause of high morbidity and mortality in children in developing countries. This study aims to determine the effective comparison of young and old guava leaves against *E. coli* and *V. cholerae*. Extracts of young and old guava leaves were extracted by maceration method using ethanol 96%. The thick extract obtained was then made up to a concentration of 10%. The study design used randomized completely design (RCD) which was divided into 5 group with

differences ratio of guava young leaves between guava old leaves. They are A 0 mL : 10 mL; B 2,5 mL : 7,5 mL; C 5 mL : 5 mL; D 7,5 mL : 2,5 mL; dan E 10 mL : 0 mL. Each treatment was tested for antibacterial activity using the Kirby-Bauer method with chloramphenicol positive control and DMSO 5% negative control. Data were analyzed using ANOVA at the 95% confidence level followed by LSD test. Antibacterial activity test showed that 10% guava leaves extracts have an antibacterial activity. The largest inhibition zone was showed in group A, with inhibition zone 8,16 mm on *E. coli* and 6,96 mm on *V. cholerae*, with total tannin content 7,092 %GAE. The smallest inhibition zone was showed in group E with inhibition zone 6,6 mm on *E. coli* and 6,43 mm on *V. cholerae*, with total tannin content 4,456 %GAE.

Keywords: *Psidium guajava*, *E. coli*, *V. cholerae*, Total tannin content, inhibition zone diameter

PENDAHULUAN

Diare merupakan salah satu penyebab utama kematian di berbagai negara termasuk di Indonesia (Anas *et al.*, 2012). Hingga saat ini masih banyak masyarakat yang menggunakan pengobatan tradisional seperti penggunaan daun jambu biji sebagai obat anti diare. Penggunaan daun jambu biji (*Psidium guajava*) secara luas ini harus disertai dengan adanya bukti ilmiah tentang perbedaan penggunaan daun jambu biji muda dan daun jambu biji tua terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri penyebab diare seperti *E. coli* dan *V. cholerae*. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk membuktikan perbedaan kandungan antara daun muda dan daun tua jambu biji beserta uji aktivitas anti bakterinya.

Tanaman jambu biji merupakan tumbuhan tropis yang secara empiris digunakan oleh masyarakat sebagai obat antidiare (Wibisono, 2011). Daun jambu biji mengandung tanin, flavonoid, minyak atsiri, dan alkaloid. Kandungan tanin pada daun jambu biji mempunyai sifat sebagai pengkelat berefek spasmolitik yang mengerutkan usus sehingga gerak peristaltik berkurang dan juga efek spasmolitik ini juga dapat mengerutkan dinding sel bakteri atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasikan protein, karena diduga tanin mempunyai efek sama dengan senyawa fenolat (Fратиwi, 2015).

Fadiyah *et al.* (2014) melaporkan infusa daun jambu biji 10% memiliki aktivitas terhadap *E. coli* dan *V. cholerae* masing-masing dengan zona hambat 14,10 mm dan 14,03 mm. Pada umumnya masyarakat hanya mengetahui bahwa daun jambu biji dapat digunakan untuk pengobatan antidiare tanpa mengetahui jenis daun yang memiliki penghambatan paling tinggi. Kebanyakan masyarakat menganggap bahwa daun muda maupun tua dengan proporsi yang sama dapat digunakan sebagai obat antidiare. Menurut Bahriul *et al.* (2014), semakin tua umur tanaman semakin terakumulasi senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya. Peningkatan senyawa bioaktif ini disebabkan oleh proses sintesis senyawa bioaktif yang meningkat bila terkena cahaya langsung, sehingga senyawa yang terkandung pada daun muda dan daun tua berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi perbandingan volume ekstrak daun jambu biji tua dan muda yang memiliki penghambatan paling tinggi terhadap bakteri *E. coli* dan *V. cholerae* penyebab diare.

BAHAN DAN METODE

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variasi perbandingan volume ekstrak daun jambu biji muda dan daun jambu biji tua konsentrasi 10% seperti tersaji pada **Tabel 1**.

Tabel.1. Variasi perbandingan volumr ekstrak daun jambu biji muda dan tua

Perlakuan	Ekstrak daun jambu biji muda (mL)	Ekstrak daun jambu biji tua (mL)
A	0	10
B	2,5	7,5
C	5	5
D	7,5	2,5
E	10	0

Determinasi dan pembuatan ekstrak daun jambu biji

Daun jambu biji muda dan daun jambu biji tua dipilih terlebih dahulu. Daun jambu biji tua memiliki permukaan licin, berwarna hijau tua dan tekstur keras sedangkan daun jambu biji muda yang memiliki permukaan atas daun berambut halus, berwarna hijau muda dan tekstur lunak. Deteminasi dilakukan di Laboratorium Lingkungan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto. Daun jambu biji muda dan tua masing masing disiapkan sebanyak 800 gram dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari. Daun yang sudah kering dijadikan serbuk simplisia dengan blender dan diayak dengan ayakan 40 mesh. Sebanyak 200 gram masing-masing serbuk dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 hari, dilakukan remaserasi selama 2 kali. Kemudian filtrat dipekatk menggunakan rotary evaporator. Kemudian disaring menggunakan kertas whatman no.1 Ekstrak dibuat konsentrasi 10%, 1 gram ekstrak dan dilarutkan ke dalam 10 mL DMSO 5% (Mailoa *et al.*, 2014).

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram

Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi cakram pada media MHA steril. Medium MHA agar cair steril disiapkan dan didinginkan kemudian dimasukkan 1 mL inokulum bakteri. Setelah penuangan, cawan petri segera digerakkan melingkar atau membentuk angka delapan agar sel- sel mikroba tersebar secara merata. Setelah cawan memadat, kertas cakram diletakkan di atas media, kemudian ditetesi dengan ekstrak sebanyak 20 µl sesuai dengan kelompok perlakuan dan diletakkan diatas media MHA yang telah mengandung bakteri uji. Sebagai kontrol negatif digunakan DMSO 5% dan kontrol positif menggunakan Kloramfenikol 50 µg. Biakan kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Diameter zona hambat yang terbentuk dinyatakan dalam mm dengan mengukur diameter zona bening menggunakan jangka sorong (CLSI, 2017).

Penentuan kadar tanin total

Penentuan kadar tanin total menggunakan metode kalorimetri dengan spektrofotometri UV. Dilakukan pengukuran larutan standar yaitu asam tanat dengan 5 konsentrasi yaitu 20; 40; 60; 80; dan 100 ppm. Masing masing seri pengenceran diambil 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan dilakukan pengujian dengan cara menambahkan reagen folin denin 0,5 mL diinkubasi selama 3 menit kemudian ditambahkan 1 mL Na₂CO₃ ditambahkan

akuades sampai tanda batas, diinkubasi selama 64 menit. Serapan dibaca pada panjang gelombang maksimal 740 nm dan dihitung persamaan regresi linier. Penetapan kadar tanin total pada sampel dilakukan dengan mengambil 1 mL sampel ke dalam labu ukur 10 mL, masing-masing perlakuan kemudian diambil reagen folin denin 0,5 mL diinkubasi selama 3 menit kemudian ditambahkan 1 mL Na_2CO_3 ditambahkan akuades sampai tanda batas, diinkubasi selama 64 menit. Serapan dibaca pada panjang gelombang maksimal 740 nm. Kadar dihitung menggunakan %GAE.

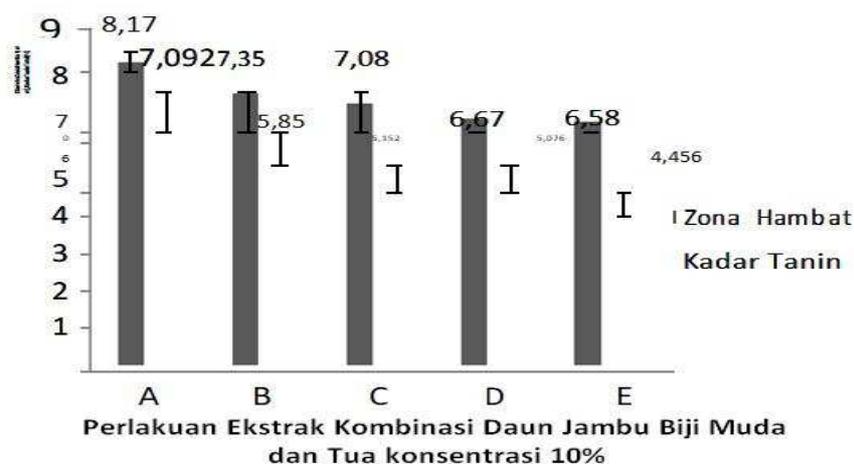
Analisis Data

Zona hambat yang diperoleh dianalisis statistika dengan dengan uji *One Way Analysis of Variant* (Anova) menggunakan program SPSS 22 for windows. Uji dilanjutkan dengan *Post hoc test* menggunakan uji *Least Significant Difference* (LSD).

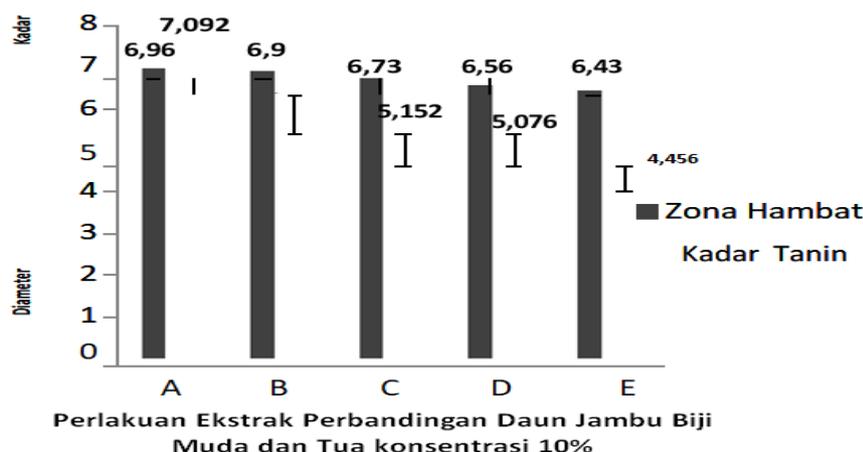
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rendemen ekstrak daun jambu biji muda dan tua berturut-turut sebesar 10% dan 12,5%. Rendemen pada daun tua lebih tinggi dibandingkan dengan daun muda dikarenakan pada daun tua terdapat lebih banyak komponen bioaktif dibandingkan daun muda (Nurhayati *et al.*, 2009).

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan zona hambat antar perlakuan ekstrak konsentrasi 10% terhadap bakteri *E. coli* (**Gambar 1**) dan *V. cholerae* (**Gambar 2**).



Gambar 1. Grafik perlakuan kombinasi ekstrak terhadap diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli* serta data kadar tanin total. Masing-masing perlakuan menunjukkan perbedaan perbandingan kombinasi ekstrak daun jambu biji. Perbandingan ekstrak daun jambu biji muda : daun jambu biji tua yaitu A 0 mL : 10 mL; B 2,5 mL : 7,5 mL; C 5 mL : 5 mL; D 7,5 mL : 2,5 mL; dan E 10 mL : 0 mL. Uji anti bakteri dilakukan dengan metode uji difusi cakram dengan mengukur diameter zona hambat setelah inkubasi 24 jam.



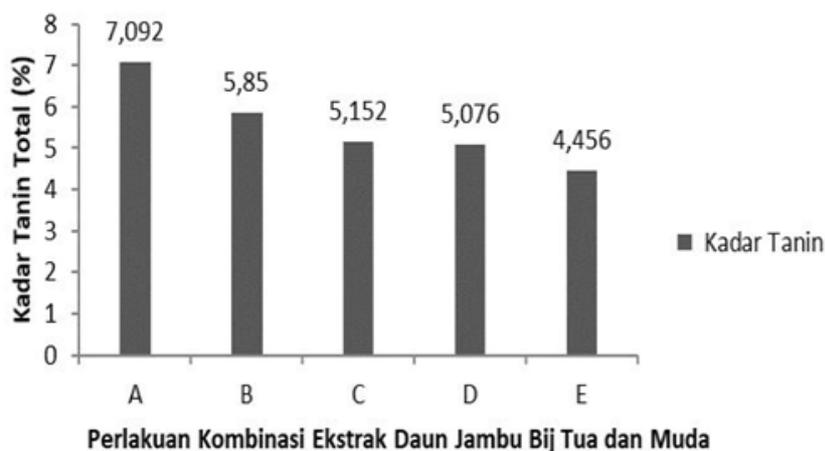
Gambar 2. Grafik perlakuan kombinasi ekstrak terhadap diameter zona hambat pertumbuhan *V. cholerae* serta data kadar tanin total. Masing-masing perlakuan menunjukkan perbedaan perbandingan kombinasi ekstrak daun jambu biji. Perbandingan ekstrak daun jambu biji muda : daun jambu biji tua yaitu A 0 mL : 10 mL; B 2,5 mL : 7,5 mL; C 5 mL : 5 mL; D 7,5 mL : 2,5 mL; dan E 10 mL : 0 mL. Uji anti bakteri dilakukan dengan metode uji difusi cakram dengan mengukur diameter zona hambat setelah inkubasi 24 jam.

Hasil analisis keragaman data zona hambat dengan variasi perbandingan volume ekstrak daun jambu biji muda dan daun jambu biji tua terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli* dan *V. cholerae* dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan signifikansi data yang tinggi yaitu berbeda signifikan dengan $p\text{-value} < 0,005$. Hasil analisis lanjut dengan LSD untuk melihat pengaruh perbandingan ekstrak daun muda dan tua terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *V. cholerae* menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antar perlakuan.

Hasil uji daya hambat ekstrak daun jambu biji pada penelitian ini lebih rendah dari hasil uji daya hambat infusa daun jambu biji oleh Fadiah *et al.* (2016). Diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak infusa daun jambu biji 10% terhadap bakteri *E. coli* sebesar 14,10 mm dan *V. cholerae* 14,03 mm. Metode infusa menggunakan pelarut air sedangkan maserasi menggunakan pelarut 96% etanol. Kepolaran larutan penyari mempengaruhi senyawa yang terekstraksi sehingga semakin polar larutan penyari semakin banyak kandungan tanin yang dihasilkan dan mempengaruhi uji daya hambat pada bakteri (Wardani, 2010).

Aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jambu biji dipengaruhi oleh kadar senyawa tanin dalam daun jambu biji. Senyawa tanin mempunyai aksi antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menonaktifkan adhesin bakteri, menghambat kerja enzim dan menghambat transport protein pada selubung sel. Selain itu, perusakan membran sel bakteri dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin berperan dalam toksisitas tanin. Bakteri yang tumbuh dalam kondisi aerob memerlukan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Adanya ikatan antara tanin dan besi akan menyebabkan terganggunya pertumbuhan bakteri (Fratiwi, 2015).

Penentuan kadar tanin dilakukan berdasarkan perhitungan dari persamaan berdasarkan kurva baku kadar tanin, diperoleh persamaan regresi $y = 0,1032x + 0,211$ dengan nilai koefisien determinasi sebesar 0,997. Nilai (r) yang mendekati satu menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linear (Mukhrani *et al.*, 2017).



Gambar 3. Grafik perlakuan kombinasi ekstrak terhadap kadar tanin total. Masing-masing perlakuan menunjukkan perbedaan perbandingan kombinasi ekstrak daun jambu biji. Perbandingan ekstrak daun jambu biji muda : daun jambu biji tua yaitu A 0 mL : 10 mL; B 2,5 mL : 7,5 mL; C 5 mL : 5 mL; D 7,5 mL : 2,5 mL; dan E 10 mL : 0 mL. Penentuan kadar tanin total menggunakan metode kalorimetri yaitu spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimal 740 nm. Kadar dihitung menggunakan %GAE.

Hasil uji kadar tanin total pada perbandingan volume ekstrak daun jambu biji muda dan tua menggunakan prosentase GAE menunjukkan daun jambu biji tua dan muda mengandung senyawa tanin. Gambar 3 menunjukkan kadar tanin yang paling tinggi terdapat pada perlakuan A dengan nilai %GAE sebesar 7,092% dan terendah pada perlakuan E dengan %GAE sebesar 4,456%. Hal ini linier dengan histogram pada Gambar 1 dan Gambar 2, diameter zona hambat paling luas terdapat pada perlakuan A dan diameter zona hambat terkecil pada perlakuan E. Penelitian ini membuktikan bahwa semakin tinggi kadar tanin maka semakin tinggi pula zona hambat yang dihasilkan karena pada daun tua mengandung tanin yang lebih banyak dibandingkan daun muda. Semakin tua umur tanaman maka semakin terakumulasi senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya karena proses sintesis senyawa bioaktif yang meningkat (Ghulamahdi *et al*, 2008).

KESIMPULAN

Ekstrak daun jambu biji muda dan daun jambu biji tua dengan konsentrasi 10% memiliki kemampuan menghambat bakteri *E. coli* dan *V. cholerae* dengan diameter zona hambat 6,43 mm – 8,17 mm. Perbandingan volume yang memiliki penghambatan paling tinggi terdapat pada perlakuan A yaitu perbandingan ekstrak daun jambu biji muda 0 mL : ekstrak daun jambu biji 10 mL dengan diameter zona hambat 8,17 mm pada bakteri *E. coli* dan *V. cholerae* yaitu 6,96 mm. Hal ini dikarenakan kandungan tanin pada daun jambu biji tua lebih besar dengan prosentase GAE sebesar 7,092% sedangkan pada daun jambu biji muda lebih kecil dengan prosentase GAE sebesar 4,456%.

REFERENSI

Anas, Y., Fithria, R.F., Purnamasari, Y.A., Ningsih, K.A., dan Noviantoro, S.G., S. 2012, Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Randu (*Ceiba Petandra L, Gaern*) pada Mencit Jantan Galur BalbC, *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 9 (2): 16–22.

Bahirul P., Nurdin R., dan Anang W.M.D., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil, *J. Akad. Kim*, ISSN 2302-6030, Universitas Tadulako, Palu.

Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017, *Antimicrobial Susceptibility Testing (AST)*, US: The Clinical and Laboratory Standards Institute.

Fadiyah, R., Izzah, Z. dan Sugijanto, N.E.N., 2014, Aktivitas Antibakteri Kombinasi Probiotik (*Bifidobacterium Bifidum* dan *Lactobacillus Acidophilus*) dengan Infus Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*), 7.

Fратиwi, Y., 2015, The Potential of Guava Leaf (*Psidium guajava L.*) for Diarrhe, *Jurnal Majority*, 4: 113–118. doi: 10.1016/j.jcis.2013.04.044.

Ghulamahdi, M., Aziz, S, A., dan Nirwan, 2008, Peningkatan Laju Pertumbuhan dan Kandungan Flavonoid Klon Daun Dewa (*Gynura pseudochina (L.) DC*) melalui Periode Pencahayaan, *Bul. Agronomi*, 36 (1): 40-48.

Mailoa, M. N., Mahendradatta, M., Laga, A., dan Djide, N., 2014, Antimicrobial Activities of Tanins Extract from Guava Leaves (*Psidium guajava L*) on Pathogens Microbial, *International Journal Of Scientific & Technology Research*, 3 (1): 236-241.

Mukhriani, M., Nonci, F. Y., dan Mumang, M., 2017, Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) secara Spektrofotometri Uv-Vis, *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 2 (4): 154-158.

Nurhayati, T.D., Aryanti, dan Nurjannah, 2009, Kajian Awal Potensi Ekstrak Spons Sebagai Antioksidan, *Jurnal Kelautan Nasional*, 2 (2): 43-51.

Wardani A. T. F. L. 2010, Pengaruh Cairan Penyari terhadap Rendemen dan Kadar Tanin Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*), *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7 (2): 57–61.

Wibisono, W. G., 2011, *Tanaman Obat Keluarga Berkhasiat*, Jawa Tengah: Vivo Publisher.

© The Author(s) 2019