



ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF WHITE AND RED FLESH FROM GUAVA LEAF (*Psidium guajava. L*) AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli**

Hilda Maysarah¹, Rika Apriani², Misrahanum^{*1}

¹ Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

² Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung

* Email : misra.hanum@yahoo.co.id

Abstract. An antibacterial activity test of ethanol extract of white and red flesh from guava leaf (*Psidium guajava. L*) against *S.aureus* and *E.coli*; using agar diffusion method was carried out in order to produce the extract. The extract was collected using maceration method. The concentration of extract was 7,8125; 6,1035; 5,00; 4,8828; 4,3944; and 3,90625 mg/mL. The results showed that both of extracts had antibacterial activities. Ethanol extract of white flesh of fruit guava leaf had (Minimum Inhibitory Concentration) MIC value at 5.000 mg/mL against *S.aureus* and 4.8828 mg/mL against *E.coli*. Whereas ethanol extract of red flesh of fruit guava leaf had MIC value at 4.3944 mg/mL against *S.aureus* and *E.coli*. MIC value of ethanol extract of white flesh of fruit guava leaf is equal with MIC value of clindamicin concentration at 3.00 µg/mL against *S.aureus*, and 1.00 µg/mL against *E.coli*. The MIC value of red flesh of fruit guava leaf is equal to the MIC value of clindamicin concentration at 3.00 µg/mL against *S.aureus*, and 1.00 µg/mL against *E.coli*.

Keywords : Antibacterial activity, red flesh of fruit guava leaf, white flesh of fruit guava leaf

I. PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional memiliki keuntungan karena bahan bakunya mudah diperoleh dan harganya yang murah. Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan dan tersebar di berbagai tempat adalah *Psidium guajava* L. dengan nama daerah jambu biji^[1]. Bagian tanaman yang sering digunakan sebagai obat adalah daunnya, karena daunnya diketahui mengandung senyawa tanin, flavonoid, minyak atsiri, dan minyak lemak. Daun jambu biji mempunyai khasiat sebagai antidiare, astringen, sariawan, menghentikan pendarahan, dan gastroenteritis^{[2],[3]}. Dari hasil penelitian in vitro, ekstrak etanol daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Salmonella thyphi*, *Shigella dysenteriae* dan *Shigella flexneri*^[4]. Infus daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*^[5]. Jambu biji sendiri memiliki varietas antara lain yang berdaging buah warna putih dan yang berwarna merah, dan kedua varietas ini diketahui memiliki kemampuan

menghambat pertumbuhan bakteri^[4]. Maka dari itu penelitian ini dilakukan untuk membandingkan aktivitas antibakteri daun jambu biji daging buah warna putih dan yang berwarna merah terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*).

II. METODOLOGI

Bahan yang digunakan adalah daun jambu biji (*Psidium Folium. L*) kering yang diperoleh dari Manako Lembang Jawa Barat, etanol, DMSO (Dimetil Sulfoksida), amonia, kloroform, asam klorida 2N, asam klorida 5N, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Bouchardat, larutan besi (III) klorida, larutan gelatin 1%, serbuk magnesium, amil alkohol, eter, pereaksi Liebermann-Burchard, vanilin-asam sulfat, air suling, dan kalium hidroksida. Bahan uji mikrobiologi : *Nutrient Agar* (NA), *Natrium Klorida* (NaCl) 0,9%^{b/v}, etanol, zat pembanding klindamisin, bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh dari PT.

Biofarma (Persero). Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Soxhlet, blender, cawan Petri, mikropipet, autoklaf, oven, inkubator, spektrofotometer, jangka sorong, cawan penguap, ose, dan timbangan analitik.

Pembuatan Ekstrak

Simplisia daun jambu biji berdaging buah warna putih dan merah (*Psidium guajava* L.) dibersihkan dan dihaluskan dengan blender, kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan dibungkus dengan menggunakan kertas saring. Ekstraksi dilakukan dengan Soxhlet menggunakan pelarut etanol, masing-masing ekstraksi dilakukan selama kurang lebih duabelas jam. Kedua ekstrak cair daun jambu biji yang diperoleh, masing-masing dikisatkan pada tangas air hingga diperoleh ekstrak yang kental.

Penapisan Fitokimia

Golongan Senyawa Alkaloid

Ekstrak dibasakan dengan menggunakan amonia encer, digerus dalam mortir, kemudian ditambahkan beberapa mililiter kloroform sambil terus digerus. Setelah disaring, filtrat dikocok dengan asam klorida 2N. Lapisan asam dipisahkan, lalu dibagi menjadi tiga bagian dan diperlakukan sebagai berikut: Bagian pertama ditetesi dengan larutan pereaksi Mayer, adanya endapan putih menunjukkan golongan senyawa alkaloid. Bagian kedua ditetesi dengan larutan pereaksi Dragendorff, adanya endapan berwarna merah-coklat menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid. Bagian ketiga digunakan sebagai blanko^[6].

Golongan Senyawa Flavonoid

Ekstrak dipanaskan dengan campuran logam magnesium dan asam klorida 5N dalam tabung reaksi, kemudian disaring. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan filtrat yang berwarna merah yang dapat ditarik oleh amil alkohol^[6].

Golongan Senyawa Polifenol

Ekstrak digerus dan dipanaskan dalam tabung reaksi di atas penangas air, kemudian disaring panas-panas. Filtrat dibagi dua. Bagian pertama ditetesi dengan larutan besi (III) klorida, terbentuknya warna biru-hitam menunjukkan adanya tanin dan polifenolat alam. Bagian kedua ditetesi dengan larutan gelatin 1%, adanya endapan berwarna putih menunjukkan adanya tanin^[6].

Golongan Senyawa Mono dan Seskuiterpenoid

Dalam cawan penguap, ekstrak disari dengan eter, kemudian sari eter diuapkan sampai kering. Pada residu ditetesi dengan pereaksi vanilin-asam sulfat.

Terbentuknya warna menunjukkan adanya senyawa mono dan seskuiterpenoid yang merupakan komponen pembentuk minyak atsiri.

Golongan Senyawa Steroid dan Triterpenoid

Dalam cawan penguap, ekstrak disari dengan eter, kemudian sari eter diuapkan hingga kering. Pada residu ditetesi dengan larutan pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat : asam sulfat pekat = 20 : 1). Terbentuknya warna ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, sedangkan bila terbentuk warna hijau-biru, menunjukkan adanya senyawa steroid.

Golongan Senyawa Saponin

Dalam tabung reaksi, ekstrak dicampur dengan air dan dipanaskan di atas tangas air beberapa saat, kemudian disaring. Setelah dingin, filtrat dalam tabung reaksi dikocok kuat-kuat selama kurang lebih 30 detik. Pembentukan tinggi busa sekurang-kurangnya 1 cm dan persisten selama beberapa menit serta tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl encer menunjukkan bahwa dalam simplisia terdapat saponin.

Golongan Senyawa Kuinon

Ekstrak digerus dan dipanaskan dengan air dalam tabung reaksi, kemudian disaring. Filtrat ditetesi dengan larutan kalium hidoksida. Terbentuknya warna kuning hingga merah menunjukkan adanya senyawa kuinon.

Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih dan merah masing-masing diuji aktivitas antibakterinya untuk mengetahui ekstrak mana yang memiliki aktivitas terbesar terhadap bakteri uji. Kedua ekstrak ditimbang beratnya dan dilarutkan dalam DMSO, untuk mendapatkan larutan ekstrak dengan konsentrasi 250 mg/mL.

Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penetapan KHM dilakukan untuk mengetahui kekuatan ekstrak sampai konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pada percobaan ini penetapan KHM ekstrak ditentukan dengan metode difusi agar, dilakukan seperti pada penentuan aktivitas antibakteri dengan melakukan variasi konsentrasi.

Perbandingan Terhadap Klindamisin

Aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dibandingkan terhadap klindamisin dengan menggunakan nilai KHM. Untuk menetapkan

KHM klindamisin, percobaan dilakukan dengan metode yang sama yaitu metode difusi agar dengan pengenceran konsentrasi. Disiapkan dua cawan Petri untuk masing-masing lima konsentrasi larutan klindamisin. Ke dalam tiap cawan dituangkan 20 mL NA cair bersuhu kurang lebih 50°C dan 0,1 mL suspensi bakteri uji, dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan secara perlahan, kemudian dibiarkan memadat. Dengan menggunakan *perforator* dibuat beberapa lubang pada agar yang telah memadat, pada jarak tertentu. Lima konsentrasi larutan klindamisin diisikan ke dalam lubang tersebut, masing-masing sebanyak 50 µL. Semua cawan Petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diamati zona bening yang terbentuk di sekitar lubang, dan diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong.

Analisis data percobaan dilakukan menggunakan Analisis Varian (ANOVA) dengan Rancang Percobaan Desain Acak Sempurna (DAS).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penapisan Fitokimia

Dari hasil penapisan fitokimia (Tabel 1) diketahui bahwa daun jambu biji mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin dan kuinon. Senyawa tanin yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Selain senyawa tanin, senyawa fenol/fenolat, dan flavonoid juga diduga memiliki aktivitas antimikroba. Berdasarkan beberapa pustaka daun jambu biji mengandung minyak atsiri, tetapi pada hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa monoterpen dan seskuiterpen (penyusun utama minyak atsiri) tidak terdeteksi, hal ini mungkin dikarenakan konsentrasi monoterpen dan seskuiterpen yang terkandung di dalam daun jambu biji sangat kecil sehingga pada saat penapisan fitokimia tidak terdeteksi.

Tabel 1 Hasil Penapisan Fitokimia, Simplisia dan Ekstrak Daun Jambu Biji

Golongan senyawa	Hasil	
	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Fenol/polifenol	+	+
Saponin	+	+
Monoterpen	-	-
Seskuiterpen	-	-
Steroid	-	-
Triterpenoid	-	-
Kuinon	+	+

Keterangan : (+) = terdeteksi, (-) = tidak terdeteksi

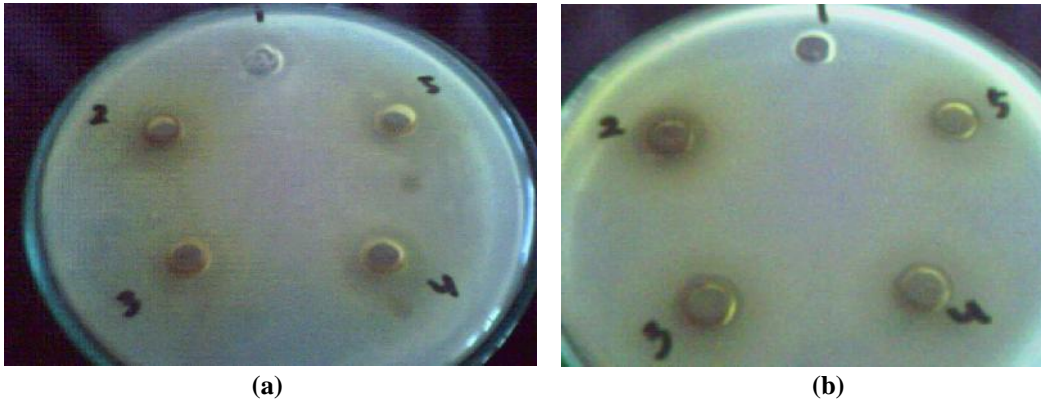
Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih dan merah (*Psidium guajava* L.) masing-masing menggunakan konsentrasi 250 mg/mL; 125 mg/mL; 62,5 mg/mL; 31,25 mg/mL; dan 15,625 mg/mL. Dari Tabel 2 dan Tabel 3 dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih memiliki aktivitas antibakteri yang tidak berbeda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Sedangkan ekstrak daun jambu biji berdaging buah warna merah memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil pengamatan ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih dan merah rata-rata memiliki diameter hambat yang lebih besar terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini berarti bahwa, bakteri *Escherichia coli* lebih sensitif terhadap kedua ekstrak etanol daun jambu biji yang mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri ini (Gambar 1).

Tabel 2 Diameter Hambat Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Berdaging Buah Warna Putih Terhadap Bakteri Uji.

Bakteri	Pengujian	Diameter Hambat (mm) pada Konsentrasi ekstrak (mg/mL)				
		15,625 mg/mL	31,25 mg/mL	62,5 mg/mL	125 mg/mL	250 mg/mL
<i>S. aureus</i>	1	12,0	12,7	12,8	13,3	13,8
	2	12,0	12,7	13,1	14,2	14,5
	Jumlah	24,0	25,4	25,9	27,5	28,3
	Rata-rata	12,0	12,7	12,95	13,75	14,15
<i>E. coli</i>	1	12,0	12,8	13,8	15,0	15,6
	2	12,2	13,3	14,3	15,1	15,6
	Jumlah	24,2	26,1	28,1	30,1	31,4
	Rata-rata	12,1	13,05	14,05	15,05	15,7

Keterangan : diameter perforator :10 mm



Gambar 1 Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Berdaging Buah warna Putih Terhadap *Staphylococcus aureus* (a) dan *Escherichia coli* (b)

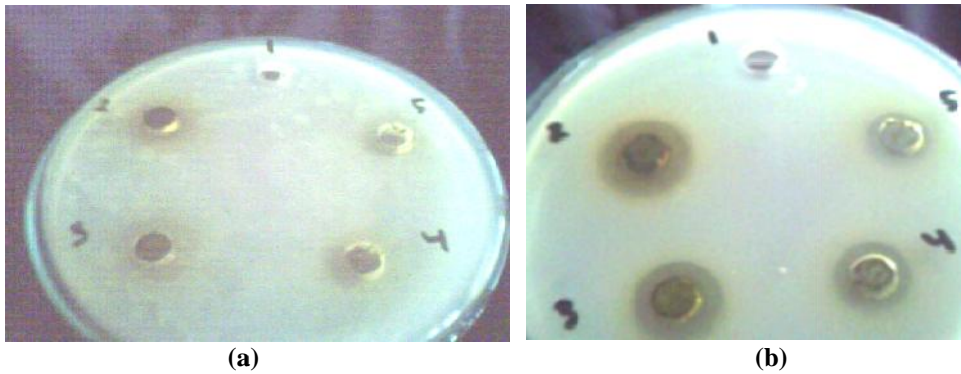
Sensitifitas/kerentanan bakteri uji terhadap antibakteri, dapat dilihat dari terbentuknya zona bening disekitar sumur, yang menunjukkan bahwa mati atau terhambatnya pertumbuhan bakteri uji. Hal itu berarti, ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Selain itu, pada Tabel 2 dan 3, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna merah memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih. Berarti, kandungan senyawa antibakteri yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna merah tersebut lebih baik atau lebih banyak. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi penghambatan bakteri uji oleh senyawa antibakteri, antara lain: (1) pengaruh ketebalan medium. Perbedaan ketebalan medium dapat terjadi pada satu cawan atau antar cawan, semakin tebal medium maka diameter hambatan semakin kecil. (2) waktu pradifusi. Perbedaan waktu pradifusi sangat mempengaruhi daya hambat senyawa antibakteri. (3) pengaruh populasi mikroba. Semakin padat populasi mikroba pada suatu media pertumbuhan, maka akan mempengaruhi

daya hambat dari suatu senyawa antibakteri. Sebab, konsentrasi senyawa antibakteri yang diberikan kemungkinan besar hanya dapat membunuh atau menghambat sebagian bakteri tersebut. Oleh karena itu, semakin banyak jumlah populasi bakteri, maka semakin besar kadar senyawa antibakteri yang diperlukan. (4) kepekaan bakteri terhadap antibakteri yang diberikan. Semakin peka bakteri terhadap suatu antibakteri, maka semakin besar daya hambat antibakteri yang dihasilkan. (5) lamanya senyawa antibakteri yang diaplikasikan pada bakteri. Sebab, semakin lama kontak antara bakteri dengan antibakteri, maka semakin besar aktivitas antibakteri yang dihasilkan. Ekstrak yang aktif ditetapkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)-nya untuk mengetahui kekuatan ekstrak terhadap bakteri uji sampai konsentrasi terendah. Pada umumnya ekstrak yang memberikan diameter hambatan yang cukup besar pada penapisan awal memiliki KHM yang kecil. Pada Tabel 4 dapat dilihat ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih memiliki nilai KHM 5,000 mg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dan 4,8828 mg/mL terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Tabel 3 Diameter Hambat Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Berdaging Buah Warna Merah Terhadap Bakteri Uji.

Bakteri	Pengujian	Diameter Hambat (mm) pada Konsentrasi ekstrak				
		15,625 mg/mL	31,25 mg/mL	62,5 mg/mL	125 mg/mL	250 mg/mL
<i>S. aureus</i>	1	12,5	12,9	14,1	14,6	15,7
	2	12,9	14,3	15,0	15,3	15,9
	Jumlah	25,4	27,2	29,1	29,9	31,6
	Rata-rata	12,7	13,6	14,55	14,95	15,8
<i>E. coli</i>	1	13,7	14,0	15,1	16,1	17,3
	2	14,2	15,0	15,2	16,9	17,7
	Jumlah	27,9	29	30,3	33,0	35,0
	Rata-rata	13,95	14,45	15,15	16,5	17,5

Keterangan : diameter perforator :10 mm



Gambar 2 Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Berdaging Buah warna Merah Terhadap *Staphylococcus aureus* (a) dan *Escherichia coli* (b)

Sedangkan ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna merah memiliki nilai KHM 4,3944 mg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan nilai KHM yang dihasilkan kedua ekstrak daun jambu biji, dapat

diketahui bahwa daun jambu biji berdaging buah warna merah memberikan respon antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih.

Tabel 4 Data Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari Ekstrak yang Memiliki Aktivitas Antibakteri

Ekstrak	Bakteri	Pengujian	Konsentrasi (mg/mL)						Blangko
			7,8125	6,1035	5,00	4,8828	4,3944	3,90625	
Daun jambu biji berdaging putih	<i>S.aureus</i>	1	-	-	-	+	+	+	+
		2	-	-	-	+	+	+	+
	<i>E. coli</i>	1	-	-	-	-	+	+	+
		2	-	-	-	-	+	+	+
Daun jambu biji berdaging merah	<i>S.aureus</i>	1	-	-	-	-	-	+	+
		2	-	-	-	-	-	+	+
	<i>E. coli</i>	1	-	-	-	-	-	+	+
		2	-	-	-	-	-	+	+

Keterangan : (+) = ada pertumbuhan, (-) = tidak ada pertumbuhan

Tabel 5 Diameter hambat Klindamisin

Bakteri	Pengujian	Diameter Hambat (mm) pada Konsentrasi Klindamisin				
		50 µg/mL	25 µg/mL	12,5 µg/mL	6,25 µg/mL	3,00 µg/mL
<i>S.aureus</i>	1	29,13	25,9	22,98	21,14	17,0
	2	29,61	26,7	23,96	21,20	17,6
	Rata-rata	29,37	26,3	23,47	21,17	17,3
<i>E. coli</i>	1	34,1	32,2	27,8	25,1	18,4
	2	33,24	31,8	28,14	24,9	18,1
	Rata-rata	33,67	32,0	27,97	25,1	18,27

Keterangan : diameter perforator 10 mm

Tabel 6 KHM Klindamisin

Bakteri	Pengujian	Konsentrasi Klindamisin (µg/mL)				
		6,25	5,00	3,00	1,00	0,75
<i>S.aureus</i>	1	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	+	+
	Rata-rata	-	-	-	+	+
<i>E. coli</i>	1	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	-	+
	Rata-rata	-	-	-	-	+

Keterangan : (+) = ada pertumbuhan, (-) = tidak ada pertumbuhan

Dari hasil penelitian dapat diketahui nilai KHM klindamisin yaitu 3 µg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan 1,00 µg/mL terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan nilai KHM ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah 5,000 mg/mL dan 4,8828 mg/mL. Dan nilai KHM ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah 4,3944 mg/mL, data KHM ekstrak etanol daun jambu biji dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan perhitungan ANAVA diketahui bahwa terdapat perbedaan pengaruh yang bermakna sebagai akibat dari pemberian ekstrak etanol daun jambu biji daging buah warna putih terhadap *Escherichia coli* sedangkan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tidak memberikan pengaruh yang bermakna ($p = 0.05$). Sementara itu pemberian ekstrak etanol daun jambu biji daging buah warna merah memberikan pengaruh yang bermakna terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ($p = 0.05$).

KESIMPULAN

Senyawa yang terkandung dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenolat, kuinon, dan saponin. Ekstrak etanol daun jambu biji daging buah merah memberikan aktivitas antibakteri

yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jambu biji daging buah putih. Ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna putih memiliki nilai KHM 5,000 mg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dan 4,8828 terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan ekstrak etanol daun jambu biji berdaging buah warna merah memiliki nilai KHM 4,3944 mg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

REFERENSI

1. Dianawaty, Diah, dkk, 2003, Bionatura, vol.5(3), Unpad, Bandung.
2. Maslahah, N., dkk, 2004, *Standar Prosedur Operasional Budidaya Jambu Biji*, Balitro, Bogor
3. Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, jilid 3, Badan Litbang Perhutanan, Jakarta, hal : 1056-1057
4. Adnyana, I.K., dkk, 2004, *Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji daging Buah Merah Sebagai Antidiare*, Acta Pharmaceutica Indonesia vol.29(1), hal : 19-27
5. Dalimartha, Setiawan, 2000, *Atlas Tumbuhan Obat*, jilid 2, Trubus Agriwidya, Jakarta, hal : 71-77
6. Panitia Penyusun, 1989, *Materia Medika Indonesia*, Jilid V, Penerbit DepKes RI, Jakarta, hal : 549, 552, 55