

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI DAGING BUAH
PUTIH (*Psidium guajava* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI
Vibrio parahaemolyticus SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun Oleh:

**FITRI AYU LESTARI
NIM: H71218021**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Fitri Ayu Lestari

NIM : H71218021

Program Studi : Biologi

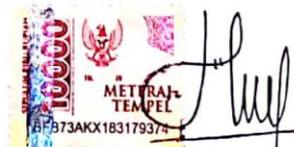
Angkatan : 2018

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul "UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI DAGING BUAH PUTIH (*Psidium guajava* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* SECARA IN VITRO". Apabila suatu saat nanti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 13 Januari 2023

Yang menyatakan,

A 10,000 Rupiah METRAH TEMPEL stamp with a signature over it. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text '10000', 'METRAH TEMPEL', and 'B73AKX183179374'.

Fitri Ayu Lestari
NIM. H71218021

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi

Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji
Daging Buah Putih (*Psidium guajava* L.)
sebagai Antibakteri *Vibrio parahaemolyticus*
secara *In Vitro*

Diajukan oleh:

Fitri Ayu Lestari

NIM. H71218021

Telah diperiksa dan disetujui
di Surabaya, 05 Januari 2023

Dosen Pembimbing I



Saiku Rokhim, M.KKK
NIP. 198612212014031001

Dosen Pembimbing II



Ita Ainun Jarivali, M.Pd
NIP. 198612052019032012

HALAMAN PENGESAHAN TIM PENGUJI

Skripsi oleh Fitri Ayu Lestari ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 13 Januari 2023

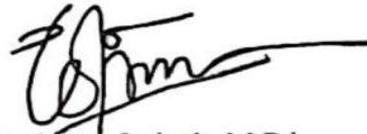
Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



Saiku Rokhim, M.KKK
NIP. 198612212014031001

Penguji II



Ita Ainuh Jariyah, M.Pd
NIP. 198612052019032012

Penguji III



Saiful Bahri, M.Si
NIP. 198804202018011002

Penguji IV



Estri Kusumawati, M.Kes
NIP. 198708042014032003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya




Saepul Hamdani, M. Pd
NIP. 196507312000031002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Fitri Ayu Lestari
NIM : H71218021
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/ BIOLOGI
E-mail address : fitriayulestari0601@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi Tesis Desertasi Lain-lain (.....)

yang berjudul :

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI DAGING BUAIH PUTIH (*Psidium*

guajava L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* SECARA IN VITRO

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 25 Januari 2023

Penulis

Fitri Ayu Lestari

ABSTRAK

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI DAGING BUAH PUTIH (*Psidium guajava* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* SECARA *IN VITRO*

Vibrio parahaemolyticus adalah bakteri patogen yang dapat mengancam kelangsungan hidup organisme laut dan menyebabkan gastroenteritis pada manusia melalui konsumsi makanan laut setengah matang atau luka yang terkena air laut. Pada awalnya, penyebaran bakteri dapat diatasi dengan pemberian antibiotik sintesis. Namun, banyaknya penyalahgunaan obat kimia dapat menimbulkan resistensi bakteri dan menghasilkan residu di lingkungan perairan sehingga diperlukan bahan alami yang dapat mengurangi efek samping, seperti daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*. Desain penelitian yang digunakan adalah *true eksperimental* dengan jenis penelitian *post-test only control group design* yang mana terdiri dari 4 perlakuan konsentrasi dan 2 perlakuan kontrol dengan pengulangan sebanyak 4 kali. Analisis data menggunakan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa keempat konsentrasi memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan masing-masing diameter sebesar 6.25 mm, 7.875 mm, 8.75 mm, 10.85 mm sehingga respons daya hambat sedang diperoleh pada konsentrasi 10%, 15%, 20% dan respons daya hambat kuat diperoleh pada konsentrasi 25%. Namun, keempat konsentrasi tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri kurang dari 50 koloni dan tidak menunjukkan adanya kematian koloni bakteri (0 koloni) sehingga kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) mempunyai efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (bakteriostatik) tetapi tidak dapat membunuh bakteri tersebut (bakterisidal).

Kata kunci: *Psidium guajava*, *Vibrio parahaemolyticus*, antibakteri, *in vitro*

ABSTRACT

IN VITRO EFFECTIVENESS TESTING OF GUAVA LEAF EXTRACT MEAT OF WHITE FRUIT (*Psidium guajava* L.) AS ANTIBACTERIAL *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus is a bacterial pathogen that can threaten the survival of marine organisms and cause gastroenteritis in humans through consumption of undercooked seafood or wounds exposed to seawater. At first, the spread of bacteria can be overcome by administering synthetic antibiotics. However, many abuses of chemical drugs can lead to bacterial resistance and produce residues in aquatic environments, so natural ingredients are needed that can reduce side effects, such as guava leaves with white flesh (*Psidium guajava* L.). This study aims to determine the effectiveness of guava leaf extract (*Psidium guajava* L.) as an antibacterial against *Vibrio parahaemolyticus* in vitro. The research design used was true experimental with the type of research post-test only control group design which consisted of 4 concentration treatments and 2 control treatments with 4 repetitions. Data analysis used the Kruskal Wallis test and continued with the Mann Whitney test. The results obtained showed that the four concentrations had the potential to inhibit bacterial growth with a diameter of 6.25 mm, 7.875 mm, 8.75 mm, 10.85 mm respectively so that the response to inhibition was moderate at concentrations of 10%, 15%, 20% and the response to inhibition was strong obtained at a concentration of 25%. However, the four concentrations did not indicate bacterial growth of less than 50 colonies and did not indicate bacterial colony death (0 colonies) so the conclusion of this study was guava leaf extract with white pulp (*Psidium guajava* L.) has effectiveness in inhibiting the growth of *Vibrio* bacteria *parahaemolyticus* (bacteriostatic) but cannot kill the bacteria (bactericidal).

Keywords: *Psidium guajava*, *Vibrio parahaemolyticus*, antibacterial, in vitro

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN TIM PENGUJI	iii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	v
HALAMAN MOTTO	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Batasan Penelitian	7
1.6 Hipotesis Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tanaman Jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.)	9
2.1.1 Klasifikasi	9
2.1.2 Morfologi	10
2.1.3 Deskripsi	14
2.1.4 Habitat	15
2.1.5 Manfaat dan Kegunaan.....	16
2.1.6 Kandungan Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.)	18
2.2 Antibakteri.....	19
2.3 Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	22

2.3.1	Klasifikasi	22
2.3.2	Morfologi	23
2.3.3	Habitat dan Infektivitas.....	24
2.4	Ekstraksi	25
2.5	Uji Efektivitas Antibakteri secara <i>in vitro</i>	29
2.6	Penelitian Terdahulu.....	34
BAB III METODE PENELITIAN		42
3.1	Desain Penelitian	42
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	43
3.3	Alat dan Bahan Penelitian	44
3.4	Variabel Penelitian	45
3.5	Prosedur Penelitian.....	45
3.5.1	Pembuatan Simplisia Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (<i>Psidium guajava</i> L.)	45
3.5.2	Pembuatan Ekstrak Simplisia Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (<i>Psidium guajava</i> L.).....	46
3.5.3	Uji Bebas Etanol.....	47
3.5.4	Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak	47
3.5.5	Sterilisasi Alat dan Bahan	48
3.5.6	Pembuatan Media Uji Efektivitas Antibakteri	49
3.5.7	Pembuatan Larutan Kontrol	49
3.5.8	Pembuatan Larutan Standart Mc Farland 0,5.....	50
3.5.9	Peremajaan dan Suspensi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	50
3.5.10	Uji Efektivitas Antibakteri	51
3.6	Analisis Data	54
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		56
4.1	Hasil Ekstraksi Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (<i>Psidium guajava</i> L.)	56
4.2	Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (<i>Psidium guajava</i> L.)	59
4.3	Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai Antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> secara <i>in vitro</i>	61
4.3.1	Pengujian Zona Hambat dengan Metode Difusi Sumuran	61
4.3.2	Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan Metode Dilusi Tabung	70

BAB V PENUTUP	82
5.1 Kesimpulan.....	82
5.2 Saran.....	83
DAFTAR PUSTAKA	84
LAMPIRAN	95



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori diameter zona hambat	31
Tabel 2.2 Hasil tinjauan dari beberapa penelitian terdahulu.....	34
Tabel 3.1 Jadwal pelaksanaan penelitian.....	44
Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.)... 57	
Tabel 4.2 Hasil zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) terhadap bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> menggunakan metode difusi sumuran	62
Tabel 4.3 Hasil uji normalitas pada data hasil diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	68
Tabel 4.4 Hasil uji homogenitas pada data hasil diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	68
Tabel 4.5 Hasil uji Kruskal Wallis pada data hasil diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	69
Tabel 4.6 Hasil uji lanjutan Mann Whitney pada data hasil diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	70
Tabel 4.7 Hasil pengamatan kekeruhan media ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) terhadap antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan metode dilusi tabung	72
Tabel 4.8 Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada media Nutrient Agar (NA) sebagai uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) terhadap antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan metode dilusi tabung	73
Tabel 4.9 Hasil uji normalitas Shapiro wilk dari data jumlah koloni bakteri ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan metode dilusi tabung.....	77
Tabel 4.10 Hasil uji homogenitas Levene's dari data jumlah koloni bakteri ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan metode dilusi tabung.....	77
Tabel 4.11 Hasil uji Kruskal Wallis dari dari data jumlah koloni bakteri ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan metode dilusi tabung.....	78
Tabel 4.12 Hasil uji Mann Whitney dari data jumlah koloni bakteri ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan metode dilusi tabung.....	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian-bagian jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.)	9
Gambar 2.2 Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> yang diamati dengan <i>scanning electron microscopy</i> (SEM) JEOL-100X ASID 40 kv.	23
Gambar 3.1 Diagram dan rumus diameter zona hambat.....	52
Gambar 4.1 Hasil ekstrak daun jambu biji daging buah putih (<i>Psidium guajava</i> L.) dengan pelarut etanol 70% (Dokumentasi Pribadi, 2022).....	56
Gambar 4.2 Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) (Dokumentasi Pribadi, 2022)	60
Gambar 4.3 Hasil uji zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) konsentrasi (a) 10%, (b) 15%, (c) 20%, (d) 25%, (e) K+ dan (f) K- terhadap <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dalam metode difusi sumuran	62
Gambar 4.4 Hasil uji pendahuluan ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) pada konsentrasi (A) 4 barisan depan/bd dari kanan : 10%, (A) 2 bd dari kiri dan 2 barisan belakang/bb dari kanan : 15%, (A) 4 bb dari kiri 20%, (B) 4 bd dari kanan : 25%, (B) 2 bd dari kiri dan 2 bb dari kanan : K+ dan (B) 4 bb dari kiri : K- terhadap <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan metode dilusi tabung.....	71
Gambar 4.5 Hasil uji pembuktian ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) dengan konsentrasi (a) 10%, (b) 15%, (c) 20%, (d) 25%, (e) K+ dan (f) K- sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dalam metode dilusi tabung	73

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan simplisia daun jambu biji daging buah putih (<i>Psidium guajava</i> L.)	95
Lampiran 2. Pembuatan ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	95
Lampiran 3. Penimbangan ekstrak dan pengujian bebas etanol	96
Lampiran 4. Sterilisasi alat dan bahan	96
Lampiran 5. Pembuatan media uji efektivitas antibakteri.....	97
Lampiran 6. Pembuatan larutan kontrol dan larutan varian konsentrasi ekstrak ..	97
Lampiran 7. Pembuatan larutan standard Mc Farland 0.5	98
Lampiran 8. Hasil peremajaan dan suspensi bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	98
Lampiran 9. Uji efektivitas ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) dengan metode difusi sumuran.....	98
Lampiran 10. Uji efektivitas ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) dengan metode dilusi tabung.....	99
Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak daun jambu biji	99
Lampiran 12. Perhitungan Media NA.....	100
Lampiran 13. Perhitungan media NB.....	100
Lampiran 14. Perhitungan ukuran zona hambat untuk Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	101

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki perairan terbesar di dunia dengan jumlah sekitar 17.500 pulau dan garis pantai mencapai 95.181 km² yang terdiri dari 2 juta km² daratan dan 7 juta km² lautan (Kusmana dan Hikmat, 2015). Hal ini menjadikan Indonesia sebagai negara yang memiliki potensi sumber daya laut yang melimpah. Melimpahnya potensi sumber daya laut bukan berarti tidak memerlukan perawatan dan pelestarian melainkan harus selalu menjaga dan memanfaatkan potensi yang dihasilkan dengan sebaik-baiknya, sebagaimana dalam Kitab Suci Al-Quran surah An-Nahl (16) ayat 14 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِنَآكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاحِرِيفِهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ
فَضْلِهِ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ (١٤)

Artinya : “*dan Dia-lah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daging yang segar (ikan) darinya dan (dari lautan itu) kamu mengeluarkan perhiasan yang kamu pakai. Kamu (juga) melihat perahu berlayar padanya, dan agar kamu mencari sebagian karunia-Nya, dan agar kamu bersyukur*” (Kementerian Agama RI, 2012).

Ayat di atas menerangkan bahwa kata *huwalladzii sakhkhorolbahro* yang artinya *Dia-lah yang menundukkan lautan* dimaksudkan untuk manusia (kalian) agar senantiasa dapat memanfaatkan lautan untuk mencari rezeki yang dilimpahkan oleh Allah Swt. dengan cara berniaga dan selalu bersyukur atas apa yang Allah Swt. sediakan dan tundukkan untuk melayani kepentingan manusia. Selain itu, dalam ayat di atas juga disebutkan bahwa lautan mengandung berbagai macam sumber daya, yaitu sebagai sumber bahan makanan, sumber perhiasan dan

sebagai tempat berlayar (Shibab, 2002). Sumber daya laut yang dapat dijadikan sebagai bahan makanan diantaranya ialah rumput laut, ikan dan berbagai jenis organisme lainnya. Akan tetapi, tidak semua organisme di laut dapat dijadikan sebagai bahan makanan, misalnya bakteri. Bakteri yang ada di laut merupakan salah satu bahan pencemar biologis yang berasal dari buangan industri pengolahan, limbah domestik, sampah dan limbah peternakan (Kunarso, 1989). Bakteri laut umumnya bersifat halofilik (dapat hidup dengan salinitas yang tinggi) dan heterotrof (tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkan) yang berasal dari tubuh organisme laut maupun melalui limbah-limbah yang dibuang ke sungai menuju ke laut. Limbah-limbah yang dibuang ke perairan, seperti zat-zat organik yang diperoleh dari sisa organisme lain, sampah atau limbah dan zat-zat yang ada di dalam tubuh organisme lain menjadi makanan utama bagi bakteri yang ada di laut (Supriharyono, 2009). Beberapa jenis bakteri yang biasa ditemukan di laut, antara lain *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Spirillum* dan *Actinomycetes* (Starr *et al.*, 1981; ZoBell, 1990). Dalam hal ini, penulis memfokuskan pada salah satu spesies bakteri genus *Vibrio* yaitu spesies *Vibrio parahaemolyticus*.

Vibrio parahaemolyticus merupakan spesies bakteri yang memiliki keluarga yang sama dengan bakteri penyebab penyakit kolera yaitu *V. cholerae* dan bakteri penyebab vibriosis lainnya, seperti *V. harveyi*, *V. alginolyticus* dan *V. vulnificus*. Strain bakteri *V. parahaemolyticus* ditemukan menjadi penyebab penyakit *early morning syndrome* (EMS) atau sekarang lebih dikenal sebagai penyakit *acute hepatopancreatic necrosis disease* (AHPND) dan mengakibatkan kematian dini pada udang dalam waktu 1-2 hari (De Schryver *et al.*, 2014). Bakteri ini hidup di

air asin ataupun payau dan dapat mengakibatkan penyakit pencernaan pada manusia yaitu gastroenteritis apabila mengonsumsi makanan laut yang kurang matang atau mentah, luka yang terkena hewan laut atau perairan pantai yang hangat terutama di Asia Tenggara (Wong *et al.*, 1999). Hal ini dikarenakan periode pemanasan yang singkat (suhu berkisar antara 10°C-43°C, optimum 37°C), sehingga cukup bagi *Vibrio parahaemolyticus* yang memiliki waktu generasi singkat (8-9 menit) untuk tumbuh dan berkembang biak hingga tingkat infeksi (10^6 organisme) (Daniels *et al.*, 2000). Selain itu, bakteri *Vibrio* juga diketahui sebagai bakteri oportunistik atau bakteri yang dapat menginfeksi inang pada saat kondisi tubuh inang menurun (Post, 1987).

Penyakit yang disebabkan oleh *Vibrio parahaemolyticus* juga merupakan masalah yang sangat serius dan banyak menyerang ikan-ikan budidaya laut dan payau. Studi oleh Hastuti dalam Achmad *et al.* (2020) menjelaskan bahwa terdapat 19 sampel udang yang bergejala *white feces disease* (WFD) dari seluruh Indonesia ditemukan strain *V. parahaemolyticus* yang erat dengan VP-AHPND melalui *sequencing* dengan 16S r-RNA, sedangkan hasil pemantauan SKIPM Yogyakarta pada tahun 2019 menemukan jejak serangan WFD di Purwokerto di mana potensi sebarannya cenderung meluas di sepanjang pantai Selatan Jawa Tengah – Yogyakarta. Selain itu, beberapa spesies ikan juga ditemukan adanya strain *V. parahaemolyticus*, seperti ikan betok hijau (*Chromis viridis*), ikan domino (*Dascyllus trimaculatus*) dari tambak budidaya ikan hias di Bali (Rukmana *et al.*, 2019); ikan kerapu *Grouper spp* dan ikan badut atau *clownfish* (Novriadi, 2014) bahkan juga teridentifikasi pada spesies rumput laut, seperti *Eucheuma striatum* yang diambil di Teluk Ekas (Lombok Timur) dan *Eucheuma*

cottoni yang diperoleh dari perairan desa Buwun Mas di Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat (Setyowati dan Cokrowati, 2021). Oleh sebab itu, pemerintah mengizinkan penggunaan obat keras sebagai antibiotik dan antibakteri pada budidaya perikanan melalui Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 52 Tahun 2014.

Antibiotik merupakan obat yang biasa digunakan sebagai antibakteri. Antibakteri dapat berasal dari bahan kimia sintetis dan bahan alami. Bahan kimia sintetis dihasilkan dari isolasi zat-zat kimia yang mengandung antibakteri, sedangkan bahan alami diperoleh langsung dari alam, seperti hewan dan tumbuhan. Obat yang biasa digunakan pada budidaya perikanan mengandung bahan kimia sintetis yang dapat menghasilkan residu dan menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotik, seperti tetrasiklina dengan kandungan zat aktif berupa klortetrasiklin, oksitetrasiklin dan tetrasiklin; makrolida dengan kandungan zat aktif berupa eritromisina; dan kuinolon dengan kandungan zat aktif berupa enrofloksasina (Nurjanah *et al.*, 2014). Studi oleh Sarjito dan Haditomo (2016), bakteri *Vibrio parahaemolyticus* mengalami resisten terhadap antibiotik eritromisin, enrofloksasin dan oksitetrasiklin. Oleh sebab itu, penggunaan antibakteri alami sangat diperlukan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu bahan alam yang dikenal dapat mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.).

Jambu biji (*Psidium guajava* L.) merupakan salah satu tanaman yang sejak dulu digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat. Tanaman ini dikenal memiliki daging buah berwarna putih dan merah. Salah satu bagian dari tanaman jambu biji yang sering digunakan adalah daunnya. Masyarakat banyak

yang menggunakan daun jambu biji untuk mengobati diare, sariawan, bahkan digunakan sebagai sabun untuk mencegah atau mengobati infeksi kulit (Afifi dan Erlin, 2017). Analisis fitokimia daun jambu biji daging putih tidak jauh berbeda dengan daun jambu biji daging buah merah yaitu mengandung senyawa-senyawa aktif yang terdiri dari steroid, fenol, minyak atsiri, flavonoid, kuinon, saponin dan tanin (Indriani, 2006). Namun, kandungan senyawa tanin dan minyak atsiri dalam daun jambu biji daging putih memiliki komposisi yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak daun jambu biji daging merah (Jayanti, 2011). Studi oleh Adnyana *et al.* (2004), ekstrak etanol daun jambu biji daging buah putih menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol daun jambu biji daging buah merah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* dan *Salmonella typhi*. Berdasarkan penelitian Hurryah *et al.* (2015), ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada konsentrasi 30% secara *in vitro*, namun konsentrasi tersebut menunjukkan tingkat kematian hingga 100% pada budidaya benih ikan kerapu. Sedangkan pada konsentrasi 15% menunjukkan kelangsungan hidup benih 100%, namun belum dikaji secara *in vitro*. Oleh sebab itu, diperlukan penelitian lebih lanjut terkait efektivitas dari ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- a. Bagaimana hasil diameter zona hambat dan kategori yang diperoleh dari efektivitas ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*?
- b. Apakah ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi 10 %, 15 %, 20 % dan 25 % sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro* dapat menghasilkan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- a. Mengetahui hasil diameter zona hambat dan kategori yang diperoleh dari efektivitas ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*.
- b. Mengetahui ada tidaknya Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang diperoleh dari ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

- a. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai konsentrasi daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*.
- b. Sebagai sumber informasi dan bahan referensi dalam meningkatkan wawasan dan pengembangan ilmu pengetahuan terkait efektivitas penggunaan bahan alam sebagai antibakteri.
- c. Memberikan pengetahuan dan gagasan baru tentang uji efektivitas antibakteri menggunakan bahan alam yang ramah lingkungan sehingga dapat mengurangi penggunaan antibiotik sintesis yang berlebihan.

1.5 Batasan Penelitian

Pembatasan penelitian digunakan untuk menghindari adanya penyimpangan maupun pelebaran pokok permasalahan agar penelitian yang dilakukan menjadi lebih terarah dan memudahkan dalam pembahasan, sehingga tujuan penelitian akan tercapai. Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Jenis bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang merupakan salah satu agensia penyebab penyakit vibriosis pada hasil perikanan.
- b. Jenis antibiotik alami yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak dari daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) yang tidak terlalu muda ataupun tua dengan pemetikan antara pucuk daun kedua hingga daun

yang ketujuh dari cabang pohonnya. Daun jambu biji tua biasanya bertekstur lebih keras dan licin dibandingkan dengan daun jambu biji muda.

- c. Parameter yang digunakan dalam uji efektivitas bakteri secara *in vitro* ialah mengukur zona hambat yang terbentuk dengan metode difusi sumuran, mengamati ada tidaknya kekeruhan serta menghitung pertumbuhan koloni bakteri untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan metode dilusi tabung.
- d. Pengujian efektivitas ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dilakukan dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25%.

1.6 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) memiliki efektivitas sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*.

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB II

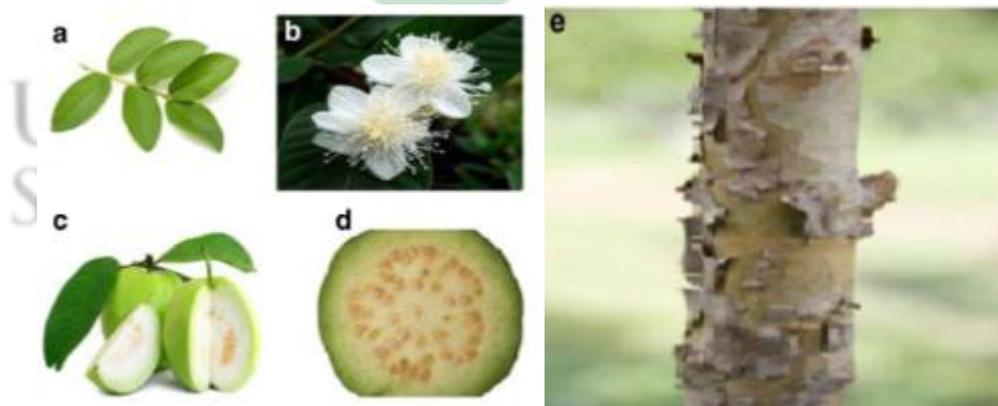
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jambu biji (*Psidium guajava* L.)

2.1.1 Klasifikasi

Menurut Cahyono (2010), tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : *Psidium*
Spesies : *Psidium guajava* L.



Gambar 2.1 Bagian-bagian jambu biji (*Psidium guajava* L.)
(a) daun, (b) bunga, (c) buah, (d) biji dalam buah, dan (e) batang pohon (Naseer *et al.*, 2018).

2.1.2 Morfologi

Tanaman jambu biji tergolong sebagai tanaman tahunan yang mana tanaman ini akan selalu hidup di sepanjang tahun. Usia tanaman dapat mencapai puluhan tahun dan pohonnya dapat tumbuh besar dengan ketinggian mencapai 5-10 meter. Tanaman jambu biji terbagi menjadi beberapa bagian atau organ, yaitu :

a. Akar

Tanaman jambu biji memiliki sistem perakaran tunggang. Akar tunggang dapat tumbuh hingga kedalaman lebih dari 4 meter. Bibitnya berasal dari biji. Dilihat dari percabangan dan bentuknya, tanaman jambu biji memiliki akar tunggang yang bercabang dan berbentuk kerucut panjang, tumbuhnya lurus ke arah bawah, memiliki banyak cabang dari percabangan sehingga memberikan kekuatan yang lebih besar pada batang untuk berdiri tegak (Marefa, 2021). Selain itu, daerah perakaran menjadi sangat luas sehingga akar dapat menyerap air dan zat-zat makanan dengan sangat banyak untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Sel-sel akar tanaman jambu biji cukup keras dan kuat untuk tumbuh pada tanah yang keras dan padat. Ujung akar merupakan titik tumbuh akar yang dilindungi oleh tudung akar. Bagian luar tudung akar memiliki sifat berlendir untuk memudahkan akar tumbuh dan menembus ke tanah meskipun sel-selnya cepat rusak tetapi selalu cepat digantikan oleh sel-sel yang baru (Naufa, 2016).

b. Batang

Tanaman jambu biji memiliki batang yang bagian bawahnya lebih besar dan bertambah mengecil di bagian ujung batang sehingga dapat dikatakan bahwa batang tanaman jambu biji berbentuk kerucut memanjang dan memiliki percabangan. Ciri morfologi batang tanaman jambu biji ialah berkayu keras sehingga tidak mudah patah, tumbuhnya tegak bercabang dan beranting dengan arah tumbuh cabang yang condong ke atas atau mendatar, berwarna cokelat keabu-abuan, bagian kulit batang mudah mengelupas, rantingnya ditumbuhi mata tunas yang nantinya akan membentuk cabang-cabang dan menghasilkan buah (Naufa, 2016). Tanaman jambu biji termasuk tanaman semak atau pohon dengan ketinggian mencapai 3-10 meter, memiliki permukaan batang yang halus, berwarna cokelat dan mudah mengelupas (Prawirosujanto *et al.*, 1977).

c. Daun

Daun merupakan salah satu bagian yang sangat penting bagi tanaman karena dapat berfungsi sebagai alat pengambilan zat-zat makanan atau disebut dengan resorpsi (pengambilan zat-zat makanan seperti CO₂), asimilasi (pengolahan zat-zat makanan), transpirasi (penguapan air) dan respirasi (sebagai alat pernapasan). Daun tanaman jambu biji termasuk daun tunggal yang berbentuk bulat panjang dan langsing dengan bagian pucuk yang tumpul maupun lancip (Marefa, 2021). Daun jambu biji memiliki tata letak berhadapan, bertangkai daun pendek dengan helai daun yang sedikit kaku dan tebal, bertulang

menyirip, berbintik, berbentuk bundar telur agak menjorok atau agak bundar sampai meruncing, panjang helai daun 6-14 cm, lebar 3-6 cm, panjang tangkai 3-7 mm, daun muda berambut halus dan daun tua memiliki permukaan atas yang licin. Daun jambu biji berbau aromatik dan memiliki rasa yang sepat. Daun jambu biji berwarna hijau keabuan dengan helai daun yang berbentuk jorong sampai bulat memanjang. Umumnya, warna daun jambu biji pada sisi atas akan tampak lebih hijau dan licin dibandingkan sisi bawahnya karena lapisan yang berada di atas lebih hijau dan berkerut (Naufa, 2016; Prawirosujanto *et al.*, 1977).

d. Bunga

Tanaman jambu biji memiliki bunga sempurna atau *hermaphrodite*, artinya dalam satu bunga terdapat satu putik (alat kelamin betina) dan benang sari (alat kelamin jantan). Pembuahannya dapat terjadi melalui proses penyerbukan dan tanpa penyerbukan atau disebut dengan *partenokarpi*. Bunga tanaman jambu biji berkembang biak secara generatif dan menghasilkan buah (Marefa, 2021). Bunga tanaman jambu biji terdiri dari 1-3 bunga, panjang gagang bunga 2-4 cm, panjang kelopak bunga 7-10 mm, tajuk berbentuk bundar telur sungsang dengan panjang 1,2-2 cm. Setiap bunga memiliki kelopak dan mahkota yang masing-masing terdiri dari 4-5 daun kelopak dan sejumlah daun mahkota yang sama dan tidak merapat, memiliki tangkai sari yang berwarna cerah, bakal buah tenggelam dan memiliki setangkai putik. Bunga tunggal terletak di ketiak daun. Bunga banci

dengan hiasan bunga yang jelas dapat dibedakan dalam kelopak dan mahkota bunga. Tabung kelopaknya berbentuk lonceng atau corong dengan panjang 0,5 cm dan pinggirannya tidak rontok dengan panjang 1 cm. Bakal buah tenggelam dengan 1-8 bakal biji di tiap ruang (Naufa, 2016; Prawirosujanto *et al.*, 1977).

e. Buah

Buah dari tanaman jambu biji memiliki karakteristik yang bermacam-macam tergantung varietasnya. Umumnya, jambu biji memiliki buah yang berbentuk bulat memanjang dan sedikit oval dengan warna hijau hingga kekuningan. Buah ini berdaging tebal dengan warna putih ataupun merah dan dilengkapi dengan biji yang sangat banyak yaitu sekitar 50-100 biji tetapi ada juga buah jambu biji yang memiliki biji sedikit. Buah tanaman jambu biji termasuk buah sejati tunggal yang artinya buah ini terjadi dari satu bunga dengan satu bakal buah saja dan memiliki lebih dari satu biji. Bagian luar buah jambu biji berwarna hijau dan kuning serta mengkilat. Buah memiliki permukaan kulit yang tipis dengan tekstur yang halus sampai kasar. Buah yang sudah masak dagingnya akan lembut, sementara buah yang belum masak dagingnya akan keras dan renyah. Rasa buah jambu biji yaitu manis, kurang manis dan ada juga yang hambar tergantung varietas dan teknik pembudidayaannya. Tanaman jambu biji dapat mengalami pembuahan di sepanjang tahun (Cahyono, 2010).

f. Biji

Biji tanaman jambu biji berbentuk bulat, berukuran kecil, dan berwarna putih kekuningan. Biji jambu biji berkeping dua atau dikotil dan dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman dan pembiakan tanaman jambu biji. Biji jambu biji bersifat keras dan memiliki permukaan yang halus (Cahyono, 2010).

2.1.3 Deskripsi

Tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) dikenal dengan nama daerah jambu klutuk, bayawas, tetokal, tokal (Jawa), jambu klutuk, jambu batu (Sunda), jambu bender (Madura). Jambu biji (*Psidium guajava* L.) tersebar luas sampai ke Asia Tenggara termasuk Indonesia hingga ke Asia Selatan, India, dan Srilangka. Jambu biji termasuk tanaman perdu yang memiliki banyak cabang dan ranting; batang pohonnya keras. Permukaan kulit luar pohon jambu biji berwarna coklat dan licin. Apabila kulit kayu jambu biji tersebut dikelupas, akan terlihat permukaan batang kayunya basah. Bentuk daun umumnya kecil-kecil berwarna putih dan muncul dari balik ketiak daun (Thomas, 1989).

Pada umumnya, tanaman jambu biji hanya difungsikan sebagai pohon peneduh dan pemeliharaannya juga kurang diperhatikan (Cahyono, 2010). Namun, menurut penelitian yang dilakukan oleh Badan Pusat Statistik produksi tanaman jambu biji di Indonesia tahun 2020 sebesar 396.268 ton/tahun dan dapat dinyatakan bahwa tanaman jambu biji sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi berbagai macam produk pangan (Badan Pusat Statistik [BPS], 2021). Produk utama yang dapat dikonsumsi

dari tanaman jambu biji adalah buahnya. Buah jambu biji yang telah matang daging buahnya bila dikunyah terasa lunak dan rasanya manis sekali sedangkan buah jambu biji yang setengah matang daging buahnya terasa renyah bila dikunyah dan rasanya agak manis. Buah jambu biji cocok untuk buah meja (pencuci mulut) setelah makan dan sebagai buah segar yang dikonsumsi sebagai pelepas dahaga (Cahyono, 2010).

Tanaman jambu biji bukan merupakan tanaman asli Indonesia melainkan berasal dari Meksiko Selatan, Amerika Tengah, dan benua Amerika yang beriklim tropis. Masyarakat awam banyak yang mengira bahwa tanaman jambu biji hanya dapat digunakan sebagai tanaman obat seperti pembuatan racikan jamu atau obat-obatan tradisional saja. Namun, kenyataannya selain digunakan sebagai racikan jamu atau obat-obatan tradisional dapat pula dijadikan sebagai makanan yang di dalamnya terkandung tanaman obat (Kartasapoetra, 1996).

2.1.4 Habitat

Tanaman jambu biji dapat tumbuh dan berkembang pada tanah yang gembur, subur dan tanah yang mudah menyerap air serta memiliki kedalaman yang cukup dalam untuk berdiri kokoh dan bertumbuh kembang. Tanaman ini hidup di daerah tropis, seperti Indonesia dan banyak dijumpai di pekarangan rumah ataupun tepi jalan. Tanaman ini dapat tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai pada ketinggian 1.200 meter di atas permukaan laut dan pada umur 2-3 tahun jambu biji sudah mulai berbuah (Thomas, 1989).

2.1.5 Manfaat dan Kegunaan

Allah Swt. telah berfirman dalam Q.S. Ad-Dukhan (44) ayat 38-40 yang berbunyi:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لِعِبَادٍ (۳۸) مَا خَلَقْنَاهُمَا إِلَّا بِالْحَقِّ وَلَكِنَّ أَكْثَرَهُمْ لَا يَعْلَمُونَ (۳۹)
 إِنَّ يَوْمَ الْفُصْلِ مِيقَاتُهُمْ أَجْمَعِينَ (۴۰)

Artinya : “Dan tidaklah kami bermain-main menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya. Tidaklah kami ciptakan keduanya melainkan dengan haq (benar), tetapi kebanyakan mereka tidak mengetahui. Sungguh, hari Keputusan (hari Kiamat) adalah waktu yang dijanjikan bagi mereka semua.” (Kementerian Agama RI, 2012).

Berdasarkan tafsir Al-Misbah karya Muhammad Quraish Shibab (2002), menyebutkan bahwa Allah Swt. tidak menciptakan langit dan bumi serta apa saja yang ada di antara keduanya tanpa mengandung hikmah melainkan dengan aturan yang sangat tepat, yang membuktikan wujud, keesaan dan kekuasaan Allah Swt. Akan tetapi, kebanyakan dari mereka yaitu orang-orang kafir tidak memperhatikan hal ini dan tidak mengetahui bukti-bukti ini. Sesungguhnya hari pengadilan antara orang yang berbuat kebenaran (orang-orang mukmin) dan orang yang berbuat kebathilan (orang-orang kafir) adalah waktu yang sudah dijanjikan untuk mereka semua. Maka bersyukurlah bagi orang-orang yang berfikir karena sesungguhnya hanya merekalah yang dapat mengetahui nikmat apa saja yang diberikan oleh Allah Swt. Sebagaimana dalam firman Allah Swt. yang menjelaskan tentang apa-apa saja yang diciptakan-Nya untuk para makhluk bumi telah termaktub dalam Q.S. Luqman (31) ayat 10 yang berbunyi:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْأَرْضِ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ قَلِيلًا وَأَنْزَلْنَا
 مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (١٠)

Artinya : “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.” (Kementerian Agama RI, 2012).

Ayat di atas menerangkan bahwa Allah Swt. menciptakan langit tanpa tiang-tiang yang dapat kalian (manusia) lihat. Kami juga menjadikan gunung-gunung yang kokoh di bumi agar tidak menggoyangkan kalian serta mengembangbiakkan segala macam hewan baik yang melata maupun yang bergerak untuk kalian. Kami juga menurunkan hujan dari langit dan menumbuhkan segala macam tumbuh-tumbuhan di bumi dengan baik dan bermanfaat (Shibab, 2002). Oleh sebab itu, semua tumbuhan yang ada di bumi hampir ditemukan memiliki manfaat dan kegunaannya tersendiri, seperti tanaman jambu biji.

Tanaman jambu biji mempunyai manfaat yang mana hampir tiap bagiannya dapat dimanfaatkan, seperti batangnya dapat digunakan untuk kayu bakar, buahnya dapat dimakan, serta akar dan daunnya dapat dijadikan sebagai racikan obat. Racikan obat yang terbuat dari daun jambu biji dapat dimanfaatkan untuk mengobati berbagai macam penyakit, seperti menyembuhkan penyakit disentri, mencret, keputihan, sariawan, kurap, diare, pingsan, radang lambung, gusi bengkak, peradangan mulut, dan menyembuhkan luka pada kulit (Cahyono, 2010; Thomas, 1989). Terdapat cara untuk menyembuhkan penyakit diare, disentri dan mencret yaitu dengan mengambil beberapa lembar daun (5-10 lembar daun) dan

direbus dalam air secukupnya (1-2 gelas) selama 15 menit, lalu airnya diminum. Cara ini juga bermanfaat dalam penyembuhan penyakit kulit, seperti kurap dan terbakar sinar matahari yaitu dengan membasuh bagian tubuh yang sakit dengan air rebusan daun jambu biji yang masih hangat (suam-suam kuku) atau dapat juga digunakan untuk mandi. Sementara itu, untuk penyembuhan penyakit gusi bengkak dan peradangan mulut dapat dilakukan dengan berkumur menggunakan air rebusan tersebut (Cahyono, 2010).

2.1.6 Kandungan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Daun jambu biji diketahui memiliki khasiat sebagai antidiare, antioksidan, antiinflamasi dan antimikroba. Meskipun tanaman jambu biji memiliki berbagai macam varietas, kandungan senyawa yang terdapat dalam daun jambu biji buah putih tidak jauh berbeda dengan kandungan senyawa daun jambu biji buah merah. Berdasarkan hasil uji fotokimia, daun jambu biji buah merah dan putih mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, seperti tanin, saponin, flavonoid, fenol hidrokuinon dan steroid (Indriani, 2006). Selain itu, daun jambu biji juga diketahui mengandung beberapa bahan aktif, seperti minyak atsiri, guayaverin, leukosianidin, asam malat, damar dan asam oksalat, tetapi hanya komponen khusus, seperti tanin, flavonoid, minyak atsiri dan alkaloid yang mempunyai efek farmakologi sebagai antidiare, antioksidan, antiinflamasi dan antimikroba (Fратиwi, 2015). Oleh sebab itu, daun tanaman jambu biji telah dilaporkan bersifat antidiare dalam berbagai model diare yang diinduksi kimia dan juga dilaporkan untuk diinduksi pada penyakit yang

menyebabkan diare menular secara spesifik. Literatur juga mengungkapkan bahwa terdapat potensi antibakteri secara *in vitro* daun jambu biji pada patogen yang rentan terhadap diare (Hirudkar *et al.*, 2020).

2.2 Antibakteri

Antibakteri merupakan salah satu antibiotik zat atau senyawa yang dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan maupun reproduksi bakteri dengan cara mengganggu sistem metabolisme bakteri yang merugikan. Bakteri merugikan yang dimaksud adalah bakteri patogen yang mampu menginfeksi dan menyebabkan penyakit serta merusak bahan pangan sehingga dibutuhkan suatu zat atau senyawa yang bersifat antibakteri untuk melawan patogen tersebut. Suatu senyawa antibakteri yang ideal harus memiliki sifat toksisitas selektif, artinya zat antibakteri berbahaya terhadap parasit tetapi tidak membahayakan bagi inangnya (Ganiswara *et al.*, 1995). Berdasarkan asal senyawa, antibakteri dapat dibagi menjadi dua, yaitu:

- 1) Antibakteri sintetik, adalah senyawa antibakteri yang dihasilkan dengan membuat suatu senyawa secara besar-besaran yang sifatnya sama dengan aslinya.
- 2) Antibakteri alami, merupakan senyawa antibakteri yang diperoleh langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa tersebut melalui proses ekstraksi.

Sedangkan sifat senyawa antibakteri juga terbagi menjadi dua, yaitu:

- 1) Bakterisidal, yaitu senyawa antibakteri yang bersifat membunuh bakteri
- 2) Bakteriostatik, yaitu senyawa antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (Brock dan Madigan, 1991).

Reaksi penghambatan pertumbuhan atau pembunuhan sel mikroorganisme akan lebih cepat apabila konsentrasi suatu zat antimikroba lebih tinggi. Aktivitas antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jumlah mikroorganisme, pH, konsentrasi atau intensitas zat antimikroba, potensi suatu zat antimikroba dalam larutan yang diuji dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi antibakteri (Pelczar dan Chan, 1986). Menurut Agustrina (2011), antibakteri memiliki tiga spektrum kerja, yaitu (1) spektrum luas apabila zat tersebut aktif melawan prokariot, (2) spektrum sempit apabila zat antibakteri efektif melawan sebagian bakteri gram positif atau gram negatif, (3) spektrum terbatas, zat antibakteri yang efektif melawan suatu spesies bakteri tertentu. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri memiliki mekanisme yang dapat dikelompokkan menjadi empat cara, yaitu:

1) Menghambat sintesis dinding sel bakteri

Bakteri memiliki sel yang dikelilingi oleh suatu struktur yang kaku atau dikenal dengan sebutan dinding sel, yang berfungsi untuk melindungi protoplasma di bawahnya. Apabila terdapat suatu zat yang mampu merusak dinding sel maupun mencegah sintesisnya, akan menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap tekanan osmosis. Senyawa antibakteri yang masuk, akan menghambat terjadinya reaksi peptidase pada proses sintesis peptidoglikan sehingga menyebabkan dinding sel melemah dan terjadi pelisisan sel (Talaro dan Chess, 2018).

2) Menghambat sintesis protein

Bakteri menggunakan protein sebagai sumber energi untuk berkembang. Sintesis protein bakteri memerlukan sejumlah bahan baku atau bahan

penyusun, seperti RNA, asam amino serta nukleosida trifosida (yang mengandung energi) yang harus diperoleh dan tersedia di dalam bakteri. Apabila kondisi ini terpenuhi, DNA dari gen bakteri akan mengalami proses transkripsi dengan membentuk molekul RNA yang disebut sebagai RNA messenger (mRNA) dengan bantuan enzim RNA polimerase. Ribosom mengikat dan membaca mRNA dan secara tepat memasukkan asam amino yang dikirim oleh tRNA ke dalam protein yang baru berdasarkan informasi yang didapat sehingga terjadilah sintesis protein pada suatu proses yang disebut translasi (Anggita et al., 2022). Antibakteri dapat menghambat sintesis protein dengan cara menghambat pelekatan tRNA dan mRNA ke ribosom (Talaro dan Chess, 2018).

3) Mengubah fungsi membran sel

Membran sel berperan sebagai penghalang permeabilitas selektif, mengendalikan susunan sel dan melakukan pengangkutan aktif. Membran sel merupakan tempat berlangsungnya pernapasan dan aktivitas biosintetik tertentu yang mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel. Beberapa zat antibakteri dapat melemahkan atau merusak sebagian fungsi-fungsi tersebut, sehingga mengakibatkan pertumbuhan sel akan terhambat atau mati. Selain itu, zat antibakteri juga dapat menjadi penghalang terjadinya osmosis dan mencegah berlangsungnya sejumlah biosintesis yang dibutuhkan di dalam membran sel (Talaro dan Chess, 2018).

4) Menghambat sintesis asam nukleat

Mekanisme ini didasarkan pada penghambatan proses transkripsi dan replikasi DNA. Asam nukleat yang terdiri dari DNA, RNA dan protein

memegang peranan yang sangat penting dalam proses kehidupan sel, sehingga gangguan apapun yang terjadi pada penyusunan maupun fungsi-fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Rusaknya asam nukleat yang disebabkan oleh pemanasan, radiasi atau bahan kimia dapat mengakibatkan sel tidak mampu mengadakan replikasi maupun sintesis enzim sehingga menimbulkan kematian sel. Bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA *Dependent* dan RNA *Polymerase* bakteri sehingga menghambat sintesis RNA bakteri (Talaro dan Chess, 2018).

2.3 Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

2.3.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menurut Kanagawa (1985) dalam Oktavianus (2013) sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

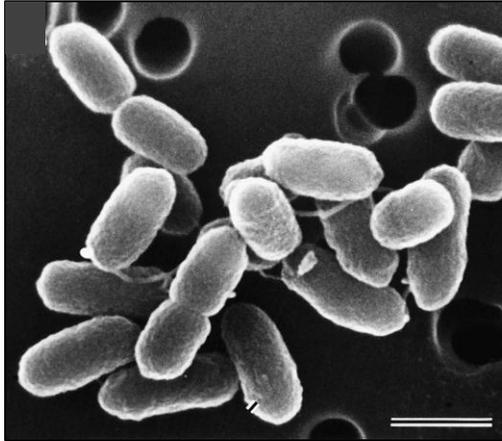
Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Vibrionales

Famili : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Vibrio parahaemolyticus*



Gambar 2.2 Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang diamati dengan *scanning electron microscopy* (SEM) JEOL-100X ASID 40 kv (Mizunoe *et al.*, 2000).

2.3.2 Morfologi

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri gram negatif, bersifat halofilik dan motil atau bergerak, bersifat indol, lisin dekarboksilase positif, dapat memfermentasi glukosa dan maltosa tanpa menghasilkan gas, serta tidak dapat memfermentasi sukrosa dan laktosa. Bakteri ini memiliki ciri khusus yaitu dapat menyerap safranin pada saat pengamatan pewarnaan gram sehingga nampak berwarna merah dan berbentuk batang bengkok atau koma. Bakteri ini menghasilkan energi untuk pertumbuhannya dengan melakukan oksidasi, termasuk dalam jenis bakteri fakultatif anaerob, berflagelum kutub tunggal, tidak membentuk spora dan bersifat zoonosis (Austin, 2010; Supardi, 1999). Morfologi koloni berbentuk bundar/*circular*, tepi bergelombang/*undulate*, elevasi sedikit cembung/*low convex*, berwarna kuning atau hijau dan berkerumun/*swarming* (Nitimulyo *et al.*, 2005). Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* memiliki koloni berwarna putih lendir yang melimpah pada media Nutrient Agar dan koloni berwarna hijau pada Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) agar (Deepika *et al.*, 2014). Bakteri ini

tumbuh dengan baik pada media TCBS agar dan menghasilkan koloni yang berukuran 3 mm dengan sel yang berukuran 0,3 µm dan 0,8 µm (Ganesh et al., 2012). Morfologi koloni dapat mengalami perubahan seiring dengan perubahan kondisi lingkungan yang tidak menunjang kehidupan bakteri tersebut (Chen et al., 2009).

2.3.3 Habitat dan Infektivitas

Pada umumnya, bakteri *Vibrio parahaemolyticus* terdeteksi pada air, sedimen, plankton, dan produk perikanan (seperti krustasea, ikan dan moluska). Bakteri ini terkonsentrasi dalam saluran pencernaan moluska, seperti kerang, tiram dan mussel yang mendapatkan makanan dengan cara mengambil atau menyaring air di laut (Hernandez et al., 2006). Kebiasaan ini dapat mengakibatkan beberapa moluska tersebut memiliki kondisi optimum bagi pertumbuhan bakteri ini, seperti ketersediaan nutrisi, kandungan garam, pH, dan *activity water* (Aw). Bakteri ini umumnya tumbuh pada konsentrasi NaCl optimum 3%, kisaran suhu 5-43°C, pH 4,8-11, dan Aw 0,94-0,99. Pertumbuhan secara cepat dapat terjadi pada saat kondisi suhu optimum 37°C dengan waktu generasi 9-10 menit (Syamsir, 2011).

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara tidak langsung akan menginfeksi manusia melalui makanan produk perikanan yang tanpa disadari mengandung bakteri tersebut sehingga menjadi keracunan makanan. Kasus keracunan makanan karena mengonsumsi pangan yang tercemar *Vibrio parahaemolyticus* biasanya berlangsung secara musiman. Habitat bakteri yang dapat berkembang dengan baik pada suhu lingkungan

perairan di atas 15°C dapat memberi peluang terjadinya kasus keracunan bakteri di daerah yang beriklim tropis atau pada musim panas (McLaughlin *et al.*, 2005). Infeksi *Vibrio parahaemolyticus* pada udang biasa terjadi pada fase juvenil sampai dewasa. Penyakit pada udang ini disebut dengan *red disease syndrome* yaitu berubahnya warna tubuh udang menjadi merah dan mengakibatkan kematian. Kematian udang karena penyakit ini berkisar antara 1-20% (Alapide-Tendencia dan Dureza, 1997). Keberadaan *Vibrio parahaemolyticus* pada udang mengindikasikan bahwa tempat hidup udang tersebut telah terkontaminasi dengan bakteri tersebut sehingga proses budidaya menjadi terhambat dan banyak mengalami kerugian. Oleh sebab itu, penting bagi kita untuk dapat mencegah, menanggulangi dan mengobati penyakit akibat bakteri ini.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya (Suyitno *et al.*, 1989). Sedangkan bahan yang digunakan berasal dari bahan alami yang memiliki kegunaan seperti tanaman obat dan belum pernah mengalami proses pengolahan lebih lanjut atau disebut dengan simplisia (Pribadi, 2009). Dalam proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi sampai ke material padat (yang berasal dari tumbuhan) dan akan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sesuai dengan pelarutnya. Efektivitas ekstraksi senyawa kimia dari simplisia bergantung pada bahan-bahan yang diperoleh, keaslian bahan yang digunakan, proses ekstraksi, dan ukuran

partikel. Selain itu, kuantitas dan kandungan metabolit sekunder dari ekstrak dipengaruhi oleh tipe ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, konsentrasi ekstraksi, dan polaritas ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011). Oleh sebab itu, sebelum melakukan ekstrak perlu dilakukan beberapa hal berikut.

- a. Jumlah simplisia yang diekstraksi; jumlah simplisia berkaitan dengan jumlah pelarut yang akan digunakan sehingga lebih besar jumlah simplisia yang digunakan maka jumlah pelarut yang diperlukan juga lebih banyak.
- b. Derajat kehalusan simplisia; makin halus suatu simplisia maka makin luas kontak permukaan simplisia dengan pelarut, sehingga proses ekstraksi berjalan lebih optimal.
- c. Jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi; pemilihan pelarut sangat dipengaruhi oleh kepolaran dari pelarut itu sendiri. Apabila simplisia memiliki kepolaran yang sama dengan pelarut maka senyawa pada simplisia akan lebih mudah larut dalam pelarut yang juga memiliki tingkat kepolaran yang sama.
- d. Waktu yang dibutuhkan ketika ekstraksi; lamanya proses ekstraksi akan sangat menentukan banyaknya senyawa yang terekstraksi.
- e. Metode ekstraksi yang digunakan; ada berbagai macam metode yang dapat digunakan untuk menarik senyawa kimia dari simplisia.
- f. Kondisi proses ekstraksi; beberapa proses ekstraksi membutuhkan kondisi atau keadaan tertentu, seperti simplisia yang mengandung kuinon dan kumarin umumnya dilakukan ekstraksi dengan kondisi yang gelap (Marjoni, 2016).

Berdasarkan pelarutnya, metode ekstraksi dapat dibagi menjadi dua cara, yaitu sebagai berikut.

a. Ekstraksi secara dingin

Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas. Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara berikut ini :

1) Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya.

2) Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyaringan zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinu pada simplisia selama waktu tertentu (Marjoni, 2016).

b. Ekstraksi secara panas

Metode panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas. Metode ekstraksi secara panas di antaranya ialah :

1) Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi panas menggunakan pelarut yang selalu baru dengan alat sokhlet sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dan adanya pendingin balik.

2) Refluks

Refluks adalah ekstraksi panas menggunakan pelarut dengan temperatur titik didih pelarut pada waktu tertentu. Jumlah pelarut yang digunakan terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Ditjen POM, 2000).

3) Digestasi

Digestasi adalah proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 30-40°C.

4) Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyaring simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit (Marjoni, 2016).

Penelitian ini menggunakan metode maserasi karena metode ini terbukti aman bagi senyawa kimia tidak tahan panas yang terkandung dalam simplisia (Haidarjati *et al.*, 2020). Selain itu, metode maserasi juga lebih mudah dalam pengerjaannya, alat yang digunakan lebih sederhana dan ekstrak yang diperoleh tidak mudah ditumbuhi kapang atau khamir (Misna dan Diana, 2016). Namun, kelemahan penggunaan metode ini yaitu pengerjaannya membutuhkan waktu yang lama, memerlukan banyak pelarut dan penyaringannya kurang sempurna (Tiwari *et al.*, 2011). Prinsip dari ekstraksi maserasi ialah pengikatan atau pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel, sehingga isi sel akan larut dalam pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara

larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya lebih tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi yang lebih rendah atau terjadi peristiwa difusi. Peristiwa tersebut akan berlangsung secara terus-menerus hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Zamroni, 2011). Oleh sebab itu, dalam maserasi (untuk ekstrak cair), serbuk halus atau kasar dari tumbuhan yang kontak dengan pelarut harus disimpan dalam wadah tertutup untuk periode tertentu dengan pengadukan yang sering hingga zat tertentu dapat terlarut (Tiwari *et al.*, 2011).

2.5 Uji Efektivitas Antibakteri secara *in vitro*

Antibakteri merupakan suatu senyawa yang mampu menghambat atau membunuh mikroorganisme dalam konsentrasi yang kecil. Pengujian efektifitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui kemampuan antibakteri dalam menghambat atau membunuh bakteri tertentu (Oktabimasakti, 2015). Metode yang digunakan untuk menguji efektifitas antibakteri terbagi menjadi dua cara, yaitu:

a. Metode difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam pengujian aktivitas suatu bakteri. Metode difusi bertujuan untuk menentukan sensitivitas mikroba uji terhadap agen antimikroba. Metode difusi terdiri dari 3 cara, yakni:

1) Metode silinder

Metode silinder dilakukan dengan meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji pada tiap-tiap silinder dan ditempatkan

sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Silinder steril diletakkan di atas permukaan agar yang telah diolesi suspensi bakteri, kemudian zat aktif yang akan diuji dimasukkan ke dalam silinder tersebut. Setelah itu, diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan mengukur daerah hambatan di sekeliling silinder menggunakan jangka sorong (Permana, 2009).

2) Metode lubang sumuran (perforasi)

Metode lubang sumuran dilakukan dengan membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi bakteri uji dengan letak dan ukuran lubang disesuaikan pada tujuan penelitian (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Bakteri uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45°C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm dan lubang tersebut diisi dengan larutan zat aktif yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20 µL. Kemudian media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pengamatan dapat dilakukan dengan melihat ada tidaknya daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi (Permana, 2009).

3) Metode *paperdisk* (cakram kertas)

Metode cakram kertas adalah metode yang dilakukan dengan meletakkan *paperdisk* (cakram kertas) yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam cakram

kertas dengan cara meneteskannya pada cakram kertas kosong dengan jumlah dan konsentrasi tertentu. Kemudian cakram kertas tersebut diletakkan di atas permukaan agar padat yang telah diolesi bakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan melihat ada tidaknya zona hambat di sekeliling cakram kertas dan mengukur diameter zona hambat tersebut (Permana, 2009). Menurut Davis dan Stout (1971), kategori diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kategori diameter zona hambat

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Sumber: (Davis dan Stout, 1971)

Selain obat dan organisme, metode difusi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, seperti sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular serta stabilitas obat. Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji sensitivitas dengan baik (Kusmiyati dan Agustini, 2006).

b. Metode dilusi

Metode dilusi adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui potensi suatu bahan aktif terhadap aktivitas antimikroba dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Lennette *et al.*, 1991). Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi pengenceran tabung dan teknik dilusi pengenceran agar yang mana bertujuan untuk menentukan aktivitas

antimikroba secara kuantitatif. Langkah-langkah yang dilakukan dalam teknik dilusi pengenceran tabung dan teknik dilusi pengenceran agar sebagai berikut.

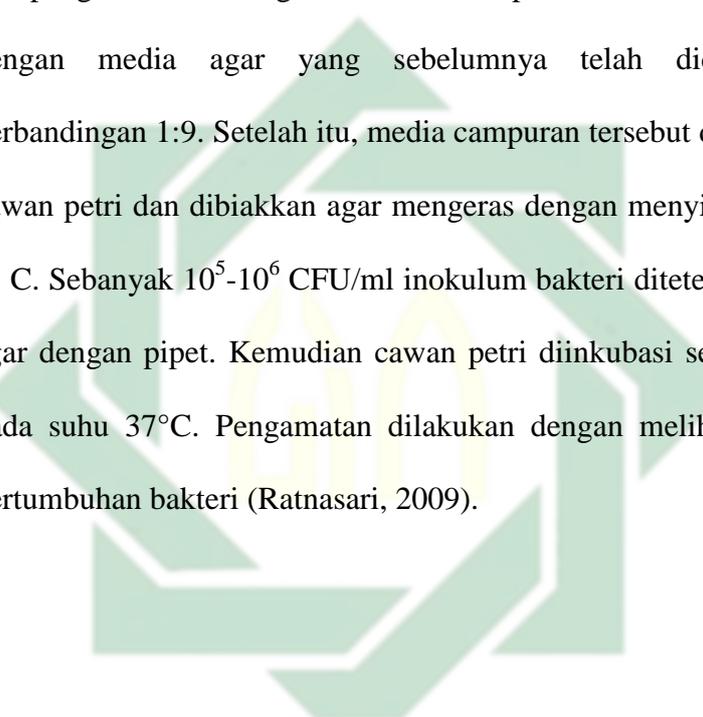
1) Teknik dilusi pengenceran tabung

Teknik dilusi pengenceran tabung digunakan dalam menghitung konsentrasi hambat minimum (KHM) maupun konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari bahan aktif yang bersifat antimikroba. Prosedur pengujian metode ini menggunakan beberapa tabung reaksi yang diisi dengan mikroba yang diuji dan bahan aktif antimikroba yang sudah diencerkan secara serial, kemudian tabung yang telah diisi diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37° C atau pada suhu kamar (d disesuaikan dengan jenis mikroba yang diuji). Setelah itu, tabung diamati tingkat kekeruhannya dengan larutan perbandingan. Selanjutnya, semua tabung dilakukan pembiakan pada media agar untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) yang ditunjukkan dengan pertumbuhan mikroba terendah pada konsentrasi tertinggi dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) yang ditandai oleh tidak adanya pertumbuhan mikroba (Tortora *et al.*, 2010).

2) Teknik dilusi pengenceran agar

Teknik dilusi pengenceran agar pada pengujian antimikroba memiliki prinsip yang hampir sama dengan teknik dilusi pengenceran tabung, yang membedakan hanyalah pada teknik dilusi pengenceran agar menggunakan media agar (media yang dipadatkan). Kelebihan dari teknik dilusi pengenceran agar adalah dapat mengevaluasi dengan akurat

dibandingkan metode lainnya. Selain itu, metode ini juga lebih mudah mendeteksi ada tidaknya kontaminasi pada proses pengujian (Tortora *et al.*, 2010). Prosedur pengujian antimikroba dengan teknik dilusi pengenceran agar dimulai dengan pengenceran bertingkat untuk mendapatkan variasi konsentrasi bahan aktif yang hendak diuji. Hasil dari pengenceran bertingkat dalam beberapa variasi konsentrasi dicampur dengan media agar yang sebelumnya telah dicairkan dengan perbandingan 1:9. Setelah itu, media campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri dan dibiakkan agar mengeras dengan menyimpan pada suhu 5° C. Sebanyak 10^5 - 10^6 CFU/ml inokulum bakteri diteteskan pada media agar dengan pipet. Kemudian cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri (Ratnasari, 2009).



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

2.6 Penelitian Terdahulu

Penelitian ini dibuat berdasarkan acuan dan keterkaitan teori dari penelitian-penelitian terdahulu yang relevan dengan melakukan observasi dan komparasi dari penelitian satu ke penelitian yang lain sehingga dapat mendukung adanya penelitian ini. Hasil tinjauan dari beberapa penelitian terdahulu dapat disajikan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Hasil tinjauan dari beberapa penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Truong Minh Ut, Dao Thi Tu Uyen dan Tu Thanh Dung (2021)	Antimicrobial activity of herbal extracts against <i>Vibrio</i> spp. bacteria isolated from white feces syndrome on white leg shrimp	Penelitian ini diawali dengan isolasi dan identifikasi bakteri dari sampel udang yang sakit untuk diuji aktivitas antimikroba pada tiga tanaman herbal, salah satunya tanaman jambu biji (<i>Psidium guajava</i>). Tanaman diekstraksi	Hasil dari isolasi dan identifikasi bakteri menunjukkan bahwa ditemukan adanya lima spesies bakteri bergenus <i>Vibrio</i> yaitu <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. haverlyi</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. cholerae</i> dan <i>V. alginolyticus</i> yang kemudian dilakukan uji aktivitas antimikroba pada tanaman

(*Litopenaeus* metode maserasi dengan pelarut metanol jambu biji (*Psidium guajava*) dan *vannamei*) in some 96% dan dibuat variasi konsentrasi masing-masing bakteri menunjukkan provinces in the ekstrak 25, 50 dan 100 mg/mL. aktivitas terbaik pada konsentrasi 100 mekong delta Sedangkan perlakuan kontrol hanya mg/mL dengan zona hambat 18.3 mm, menggunakan DMSO sebagai kontrol 22.7 mm, 11.85 mm, 17.35 mm dan negatif. Adapun pada uji aktivitas 22.95 mm (>15=rentan). Adapun hasil antimikroba dilakukan dengan metode nilai MIC pada masing-masing bakteri difusi sumuran dan dilusi tabung ialah *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi* 0,2 mg/mL, *V. vulnificus* 0,78 sehingga parameter yang diuji yaitu mg/mL, *V. cholerae* 0,39 dan 0,78 pengukuran zona hambat, *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan mg/mL, *V. alginolyticus* 0,39, 0,78 dan *minimum bacterisidal concentration* (MBC) 0,2 mg/mL. Sedangkan nilai MBC diperoleh pada bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi* 0,78

			mg/mL, <i>V. vulnificus</i> 12,5 mg/mL, <i>V. cholerae</i> 3,13 dan 6,25 mg/mL, serta <i>V. alginolyticus</i> 3,13, 6,25 dan 0,78 mg/mL.	
2.	Tommy Nathaniel Nasiri, Suraya Abdul Sani, Rahmath Abdullah, Ainol Azifa Mohd Faik, Roslina Jawan, and Mohd Khalizan Sabullah (2020)	Phytochemical and Antimicrobial Investigation and Comparison Between Young and Mature <i>Psidium guajava</i> Leaves Extract	Metode awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah persiapan sampel daun jambu biji muda dan tua yang mana dari masing-masing sampel tersebut diekstraksi dengan metanol 95% pada metode maserasi untuk diuji fotokimia. Sedangkan pada proses penentuan aktivitas antimikroba diawali dengan pembiakan bakteri negatif yaitu <i>Salmonella enterica</i> dan dua bakteri	Hasil uji fotokimia menunjukkan bahwa jumlah senyawa fenolik pada daun jambu biji yang tua yaitu 8,64% lebih tinggi dibandingkan daun muda yaitu 4,32%. Daun jambu biji juga positif mengandung senyawa fenol, tanin, terpene dan flavonoid, namun untuk saponin hanya terdapat pada daun jambu biji yang tua. Selain itu, berdasarkan uji <i>Total Phenolic Compound</i> (TPC) yang

positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* yang kemudian dilakukan uji difusi cakram. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah konsentrasi 1.25, 2.5, 5.0, 10, 20 mg/ml, kontrol positif dengan ampisilin dan kontrol negatif dengan metanol.

diekstrapolasi dari kurva standar asam galat menunjukkan bahwa daun tua jauh lebih tinggi ($162 \pm 2,08$ mg GA/g) dibandingkan dengan daun muda ($31,2 \pm 1,04$ GA/g). Sedangkan pada uji aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa hasil aktivitas bakteri *S. enterica*, *S. aureus* dan *B. cereus* dari kedua ekstrak menunjukkan zona hambat tertinggi pada konsentrasi 20 mg/ml yaitu 10,3 mm, 8,7 mm dan 8,3 mm untuk ekstrak daun muda sedangkan pada ekstrak daun tua memperoleh diameter zona hambat sebesar 12.3 mm,

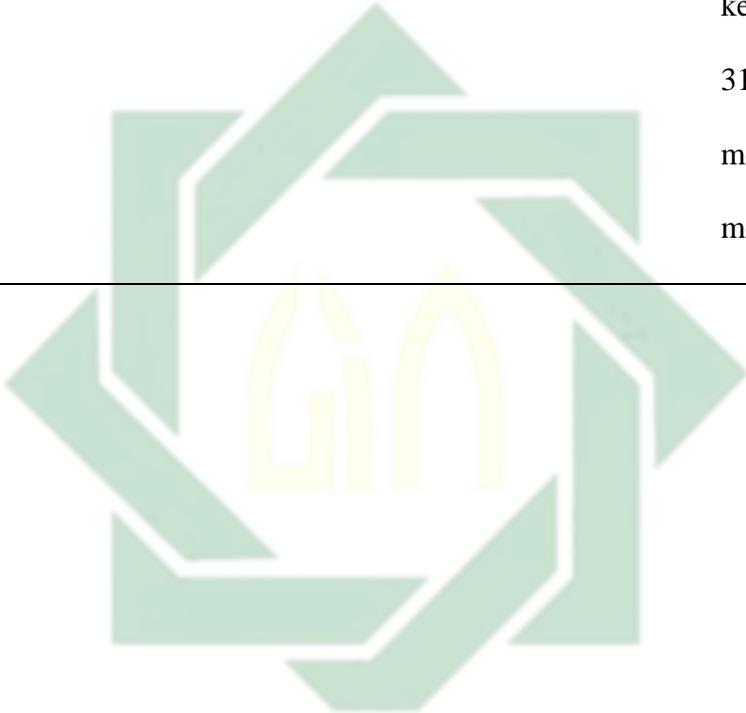
			7.2 mm dan 8.3 mm. Sehingga dari hasil zona hambat tersebut menunjukkan bahwa ekstrak lebih bersifat antibakteri diperoleh pada ekstrak daun jambu biji tua.
3.	Hai Thanh Nguyen, Lua Thi Dang, Hanh Thi Nguyen, Hai Ha Hoang, Ha Thi Ngoclai, dan Ha Thi Thanh Nguyen (2018)	Screening Antibacterial Effects of Vietnamese Plant Extracts Against Pathogens Caused Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease in Shrimps	Penelitian ini diawali dengan isolasi bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> dan <i>V. harveyi</i> dari udang yang terkena AHPND selama wabah penyakit di Vietnam menggunakan analisis <i>polymerase chain reaction</i> (PCR). Kemudian disiapkan ekstrak dari lima tanaman, salah satunya daun jambu biji untuk dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan Hasil uji <i>in vitro</i> menunjukkan bahwa daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan bakteri dua strain bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> tipe KC12.020 dan KC13.14.2 serta satu strain bakteri <i>V. harveyi</i> tipe KC13.17.5 pada konsentrasi tertinggi yaitu 30 µg/µl (3%) dengan zona hambat masing-masing bakteri 17.7 mm, 14.7 mm dan 14.7 mm.

perbandingan 1:10. Konsentrasi bakteri disesuaikan pada semua pengujian menjadi 10^8 CFU/ml. Adapun efektivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram dan dilusi pengenceran agar. Ekstrak dilarutkan ke dalam DMSO untuk membuat ekstrak dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25 dan $30\mu\text{g}/\mu\text{l}$ serta perlakuan kontrol (positif dengan dosisiklin atau ampisilin, negatif hanya dengan DMSO). Sedangkan nilai MIC dan MBC dari ketiga bakteri menunjukkan hasil yang setara yaitu masing-masing 625 untuk nilai MIC dan 1250 untuk nilai MBC.

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

-
4. Misqul Hurryah, Sitti Hilyana, Alis Mukhlis (2015) Penggunaan Ekstrak Daun Jambu Biji *Psidium guajava* untuk Meningkatkan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes altivelis* terhadap Serangan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*
- Penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak daun jambu biji dengan pelarut etanol 95% (1:2), isolasi dan identifikasi bakteri serta uji infeksi pada benih kerapu bebek. Ekstrak dengan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 30% diuji secara *in vitro* dengan metode dilusi tabung. Sedangkan uji infeksi dilakukan secara *in vivo* dengan konsentrasi ekstrak 10%, 15%, 20%, 25% selama 48 jam. Uji infeksi dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun jambu biji terhadap ketahanan ikan dan kelangsungan hidup benih kerapu bebek.
- Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan tingkat kelangsungan hidup benih kerapu bebek tertinggi diperoleh pada konsentrasi 15%. Meskipun konsentrasi terbaik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri 30%, konsentrasi tersebut dapat membunuh benih hingga mortalitas 100% karena konsentrasi 25% menunjukkan persentase 0% kelangsungan hidup ikan. Sedangkan konsentrasi 20% masih ditemukan 8
-

koloni bakteri dengan persentase kelangsungan hidup hanya mencapai 31,5% dan konsentrasi 10% menunjukkan kelangsungan hidup benih mencapai 50%



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan jenis penelitian *post-test only control group design*. Dalam desain ini terdapat dua kelompok pembanding yaitu kelompok eksperimen dan kelompok kontrol yang mana kelompok eksperimen merupakan kelompok yang mendapatkan perlakuan sedangkan kelompok kontrol kebalikan dari kelompok eksperimen (tidak mendapatkan perlakuan). Jumlah pengulangan dan sampel yang digunakan dalam penelitian disesuaikan pada hasil perhitungan rumus Federer sebagai berikut.

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

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan

r = jumlah pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan (r harus bilangan bulat)

Penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi berbeda dari ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan satu kontrol positif dan satu kontrol negatif dengan jumlah perlakuan 6 ($t = 4 + 2 = 6$), maka diperoleh jumlah pengulangan:

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

$$(6 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$5(r - 1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq \frac{20}{5}$$

$$r \geq 4$$

$$n = t \times r$$

$$n = 6 \times 4$$

$$n = 24 \text{ sampel}$$

Sehingga jumlah unit percobaan yang digunakan sebanyak 24 sampel dengan jumlah kelompok perlakuan sebanyak 6 dan 4 kali pengulangan yang mana dapat dijabarkan sebagai berikut.

Perlakuan 1 = konsentrasi ekstrak 10% + bakteri

Perlakuan 2 = konsentrasi ekstrak 15% + bakteri

Perlakuan 3 = konsentrasi ekstrak 20% + bakteri

Perlakuan 4 = konsentrasi ekstrak 25% + bakteri

Perlakuan 5 = kontrol positif (kloramfenikol 0,003%)

Perlakuan 6 = kontrol negatif (konsentrasi ekstrak 0%)

4x pengulangan

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Ekstrak daun jambu biji dan uji efektivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Integrasi UIN Sunan Ampel Surabaya. Daun jambu biji dikumpulkan dari pekarangan rumah dan sampel bakteri *Vibrio parahaemolyticus* diperoleh dari Indilaboratory kota Samarinda. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga November 2022 dengan jadwal pelaksanaan penelitian yang telah disajikan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Jadwal pelaksanaan penelitian

No.	Kegiatan	Bulan							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	Pengumpulan bahan dan sampel	■							
2	Preparasi alat dan bahan di laboratorium		■						
3	Pembuatan simplisia dan ekstrak daun jambu biji		■	■					
4	Pembuatan media dan larutan			■	■				
5	Peremajaan dan suspensi bakteri				■	■			
6	Pengujian efektivitas antibakteri					■	■		
7	Analisis data hasil penelitian dan pembahasan								■

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain blender, ayakan no. 20, gunting, botol kaca ukuran 3 liter, kertas saring, corong kaca, klem dan statif, *rotary evaporator*, neraca analitik, penggaris atau jangka sorong, *vortex mixer*, *autoclave*, *lamina air flow* (LAF), mikropipet 100-1000 μl dan 20-200 μl , tabung reaksi, jarum ose, *cotton swab*, bunsen, korek api, *hot plate magnetic stirrer*, erlenmeyer, kertas hitam, kertas pembungkus, *corkborer* (alat pelubang gabus), pengaduk, gelas ukur, korek api, *beaker glass*, plastik *wrap*, aluminium foil, *colony counter*, nampan, cawan petri, pinset, pipet tetes, pipet ukur, rak tabung reaksi, alat tulis dan kertas label. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.), etanol 70%, kultur murni bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, media NA, media NB, aquades steril, kloramfenikol 250 mg.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari:

- a. Variabel bebas yaitu perbedaan konsentrasi dari ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.). Ekstrak daun jambu biji pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25%.
- b. Variabel terikat yaitu diameter zona hambat, konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) yang diamati dari kekeruhan media cair dan jumlah pertumbuhan koloni pada media agar.
- c. Variabel kontrol yaitu umur dan kondisi daun jambu biji, pengaturan suhu dan waktu pemanasan, sterilisasi media pertumbuhan, alat dan ruang kerja, pengaturan suhu dan waktu inkubasi, pH media, kontaminasi mikroorganisme lain, ketebalan media pertumbuhan bakteri dan kekeruhan suspensi bakteri.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Simplisia Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (*Psidium guajava* L.)

Pembuatan simplisia daun jambu biji dilakukan berdasarkan Prasetyo dan Inorah (2013). Daun dipetik dan dibersihkan dengan cara dicuci langsung menggunakan air kran, kemudian dipotong dan di kering anginkan di bawah sinar matahari selama tiga hari. Selanjutnya, daun yang sudah kering patah digiling menggunakan blender dan diayak hingga benar-benar halus untuk memperluas permukaan dan mempercepat laju ekstraksi. Setelah digiling, serbuk daun dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 1x24 jam. Hasil penggilingan atau disebut dengan

serbuk simplisia dapat langsung diproses ke tahap selanjutnya dengan disimpan ke dalam wadah kedap udara yang bersih dan kering pada suhu ruangan (25-28°C) (Nasiri *et al.*, 2020; Nguyen *et al.*, 2018).

3.5.2 Pembuatan Ekstrak Simplisia Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (*Psidium guajava* L.)

Pembuatan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dilakukan berdasarkan Bangu (2018) dan Handarni *et al.*, (2020) yaitu dengan menimbang serbuk simplisia daun jambu biji sebanyak 250 gram dan direndam ke dalam etanol 70% sebanyak 1750 ml (1:7). Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi selama 5 hari pada suhu kamar (25-28°C) dan dilakukan pengadukan setiap 1x24 jam. Kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Setelah itu, filtratnya diremaserasi dengan menambahkan ½ bagian pelarut awal yang baru selama 2 hari dan disaring kembali. Hasil semua penyaringan digabung lalu diuapkan (evaporasi) dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk memisahkan pelarutnya hingga diperoleh hasil ekstrak pekat. Setelah itu, dilakukan perhitungan rendemen ekstrak dengan menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Rendemen Total (\%)} = \frac{\text{massa ekstrak daun jambu biji}}{\text{massa daun jambu biji total}} \times 100 \%$$

Hasil ekstrak yang sudah diuapkan dapat disimpan ke dalam botol kaca dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin untuk penggunaan selanjutnya.

3.5.3 Uji Bebas Etanol

Pengujian bebas etanol pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif dengan cara mencampurkan 2 ml larutan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) 2% dan 6 tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4) ke dalam 1 ml sampel atau yang akan diuji. Hasil positif etanol ditandai dengan adanya perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan (Saleh *et al.*, 2016).

3.5.4 Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak

Masing-masing konsentrasi ekstrak daun jambu biji dibuat dengan pengenceran 10%, 15%, 20% dan 25% menggunakan aquades steril dan disesuaikan dengan rumus berikut.

$$N1.V1 = N2.V2$$

Keterangan:

N1 = konsentrasi awal

V1 = volume yang dicari

N2 = konsentrasi yang diinginkan

V2 = volume yang diinginkan

a. Konsentrasi 10% didapatkan dari:

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100.V1 = 10.5$$

$$V1 = 50 \div 100$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

(0,5 ml ekstrak daun jambu biji dan 4,5 ml aquades steril)

b. Konsentrasi 15% didapatkan dari:

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100.V1 = 15.5$$

$$V1 = 75 \div 100$$

$$V1 = 0,75 \text{ ml}$$

(0,75 ml ekstrak daun jambu biji dan 4,25 ml aquades steril)

c. Konsentrasi 20% didapatkan dari:

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100.V1 = 20.5$$

$$V1 = 100 \div 100$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

(1 ml ekstrak daun jambu biji dan 4 ml aquades steril)

d. Konsentrasi 25% didapatkan dari:

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100.V1 = 25.5$$

$$V1 = 125 \div 100$$

$$V1 = 1,25 \text{ ml}$$

(1,25 ml ekstrak daun jambu biji dan 3,75 ml aquades steril)

3.5.5 Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh alat yang berbahan kaca dan media dapat disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sedangkan alat yang tidak dapat disterilisasi menggunakan *autoclave* dapat disterilisasi menggunakan alkohol dan pembakar bunsen. Adapun sebelum menggunakan *lamina air flow* (LAF) dapat disterilkan terlebih dahulu menggunakan alkohol. Kemudian alat-alat yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam LAF dan lampu UV dinyalakan selama

30 menit untuk mematikan kontaminan pada permukaan meja LAF. Setelah itu, matikan lampu UV dan nyalakan lampu neon dan *blower* ketika digunakan.

3.5.6 Pembuatan Media Uji Efektivitas Antibakteri

a. Pembuatan Media *Nutrien Agar* (NA)

Media NA dibuat dengan cara menimbang 20 gram media dan dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades dengan cara diaduk menggunakan pengaduk seraya dipanaskan dalam erlenmeyer menggunakan *hot plate magnetic stirrer*. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga mengeras. Setelah mengeras, media dapat disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C (Dewi, 2010).

b. Pembuatan Media *Nutrien Broth* (NB)

Media NB dibuat dengan cara menimbang 13 gram media lalu dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades dengan cara diaduk menggunakan pengaduk seraya dipanaskan dalam *beaker glass* menggunakan *hot plate magnetic stirrer* hingga homogen. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml dan ditutup dengan kapas untuk disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Dewi, 2010).

3.5.7 Pembuatan Larutan Kontrol

Proses pembuatan larutan kontrol dilakukan dengan menggunakan 5 ml aquades steril sebagai kontrol negatif. Sedangkan larutan kontrol positif dibuat dari kloramfenikol 250 mg dalam sediaan kapsul serbuk.

Pembuatan larutan kloramfenikol 0,003% dilakukan dengan menimbang sebanyak 30 mg dan dilarutkan ke dalam 100 ml aquades hingga homogen (Budiarti *et al.*, 2016).

3.5.8 Pembuatan Larutan Standart Mc Farland 0,5

Larutan Mc Farland digunakan untuk membandingkan kekeruhan biakan bakteri dalam medium cair. Langkah kerja pembuatan larutan Mc Farland 0,5 berdasarkan Rosmania dan Yanti (2020) yaitu sebagai berikut.

- 1) Sebanyak 1 gram Barium Klorida (BaCl_2) 1% ditimbang dan dilarutkan ke dalam labu ukur 100 ml dengan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan. Kemudian larutan dipindahkan ke dalam botol *reagent* yang tertutup rapat. Penyimpanan larutan dapat dilakukan di dalam kulkas.
- 2) Disiapkan labu ukur 100 ml yang sudah diisi aquades sebanyak ± 50 ml, lalu dipipet dengan hati-hati asam sulfat pekat (H_2SO_4) 1% sebanyak 1,02 ml dan dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas. Pindahkan larutan ke dalam botol *reagent* yang tertutup rapat. Larutan dapat disimpan pada suhu ruang.
- 3) Selanjutnya, dipipet larutan BaCl_2 1% sebanyak 0,05 ml dan larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 ml lalu dicampurkan ke dalam tabung reaksi tutup ulir. Kemudian divortex sampai tercampur sempurna. Penyimpanan larutan dapat dilakukan di dalam kulkas.

3.5.9 Peremajaan dan Suspensi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang diperoleh diremajakan pada media Nutrient Agar (NA) miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu

37°C. Setelah itu, suspensi bakteri dibuat dengan menggosokkan jarum ose pada koloni bakteri dari media peremajaan dan dimasukkan ke dalam media *nutrient broth* (NB) lalu divortex hingga homogen dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil suspensi bakteri pada media *nutrient broth* (NB) dibandingkan tingkat kekeruhannya dengan larutan Mc Farland 0,5 yang setara dengan jumlah perkiraan suspensi bakteri yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml atau dengan kepadatan $\pm 10^7$ sel bakteri (Trianto *et al.*, 2004).

3.5.10 Uji Efektivitas Antibakteri

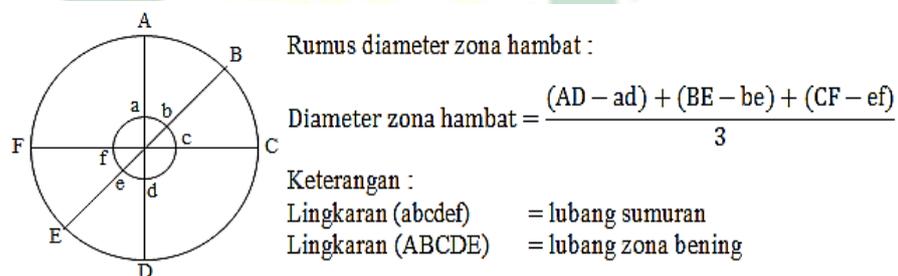
Pengujian efektivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran dan dilusi tabung sebagai berikut.

a. Metode difusi sumuran

Uji antibakteri dengan metode difusi sumuran dilakukan dengan memasukkan variasi konsentrasi ekstrak yang telah dibuat ke dalam media agar yang sudah terpapar bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

Langkah awal yang dilakukan adalah dengan menginokulasikan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada media NA yang sudah disterilkan. Setelah itu, dibuat lubang atau sumuran pada media NA dengan diameter 6 mm menggunakan alat pelubang atau *corkborer* dan diberi label. Selanjutnya, diambil sebanyak 20 µl ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda, kloramfenikol 0,003% sebagai kontrol positif dan konsentrasi 0% ekstrak daun jambu biji sebagai kontrol negatif. Kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing lubang sesuai keterangan pada label. Setelah itu, media diinkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam. Alasan penggunaan kloramfenikol sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik yang berspektrum luas dan aktif terhadap mikroorganisme aerobik maupun anaerobik, bakteri gram positif maupun negatif (Katzung, 2004; Truong *et al.*, 2021). Hasil inkubasi dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong atau penggaris dengan satuan milimeter. Zona hambat atau zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Aryaningrat *et al.*, 2019). Diameter pengukuran zona hambat dapat diukur berdasarkan diagram dan rumus yang terdapat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram dan rumus diameter zona hambat (Kadarwenny, 2017)

b. Metode dilusi tabung

Pengujian efektivitas antibakteri dengan metode dilusi tabung diawali dengan memasukkan ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi yang berbeda-beda, kloramfenikol 0,003% sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif ke dalam tabung reaksi yang telah diisi media cair dan ditambahkan suspensi bakteri dengan label dan ketentuan sebagai berikut.

- 1) Tabung reaksi (K+) : 4,5 ml media NB + 0,25 ml suspensi bakteri
+ 0,25 ml kloramfenikol 0,003%
- 2) Tabung reaksi (K-) : 4,5 ml media NB + 0,25 ml suspensi bakteri
+ 0,25 ml aquades steril
- 3) Tabung reaksi (K1) : 4,5 ml media NB + 0,25 ml suspensi bakteri
+ 0,25 ml ekstrak 10%
- 4) Tabung reaksi (K2) : 4,5 ml media NB + 0,25 ml suspensi bakteri
+ 0,25 ml ekstrak 15%
- 5) Tabung reaksi (K3) : 4,5 ml media NB + 0,25 ml suspensi bakteri
+ 0,25 ml ekstrak 20%
- 6) Tabung reaksi (K4) : 4,5 ml media NB + 0,25 ml suspensi bakteri
+ 0,25 ml ekstrak 25%

Selanjutnya, semua tabung reaksi yang sudah terisi dikocok menggunakan *vortex mixer* dan ditutup menggunakan kapas lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, setiap tabung reaksi diamati dan dibandingkan kekeruhannya dengan larutan standart Mc Farland 0,5. Kemudian semua tabung kekeruhan dilakukan uji pembuktian untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri dari setiap perlakuan dengan cara diinokulasipada media agar menggunakan metode *pour plate* yaitu media cair diambil sebanyak 30 µl dan ditetaskan ke dalam cawan petri yang sudah steril. Kemudian sebanyak 15 ml media NA dituang ke dalam cawan petri dan digoyangkan secara memutar (membentuk angka 8) lalu didiamkan hingga memadat. Setelah memadat, media

NA diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan setelah inkubasi dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni dan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media NA menggunakan *colony counter*. Perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan dengan prinsip satu sel bakteri hidup bila dibiakkan pada media padat akan tumbuh menjadi 1 koloni bakteri. Koloni yang melebar dianggap sebagai 1 koloni, sedangkan koloni yang bersinggungan dianggap sebagai 2 koloni (Pinta *et al.*, 2017; Truong *et al.*, 2021). Konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan dengan melihat pertumbuhan koloni yang paling sedikit dan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) ditentukan dengan pengamatan tidak ada pertumbuhan koloni. Menurut Sirgel *et al.* (2009), nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dapat ditentukan pada pengenceran konsentrasi yang menunjukkan pertumbuhan kurang dari 50 koloni. Sedangkan konsentrasi bunuh minimum ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni (0 koloni).

3.6 Analisis Data

Data hasil uji efektivitas antibakteri yang meliputi ukuran zona hambat, pengamatan kekeruhan media dan jumlah koloni bakteri disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar. Kemudian dilanjutkan dengan analisis data secara statistik menggunakan uji nonparametrik Kruskal Wallis di mana sebelum pengujian data harus diuji normalitasnya menggunakan *Shapiro Wilk test* dan diuji homogenitasnya menggunakan *Levene's test* untuk mengetahui data

tersebut berdistribusi normal dan homogen atau tidak. Apabila data tidak berdistribusi normal dan homogen maka dapat diuji dengan Kruskal Wallis test dengan menunjukkan nilai signifikan $P < 0,05$. Selanjutnya, data dapat dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk mengetahui kelompok uji yang memberikan perbedaan bermakna. Perangkat lunak yang digunakan untuk analisis data yaitu *Statistical Program for Social Science (SPSS) 16.0 2007*.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Ekstraksi Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (*Psidium guajava* L.)

Sebelum dilakukan uji efektivitas antibakteri, daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) yang telah diperoleh harus diolah terlebih dahulu menjadi ekstrak kental. Pembuatan ekstrak kental daun jambu biji putih dilakukan dengan dua proses, yaitu diubah menjadi serbuk simplisia dan diekstraksi dengan pelarut yang sesuai untuk menghasilkan senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia. Hasil dari ekstraksi daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) yang dilakukan dengan pelarut etanol 70% pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan pelarut etanol 70% (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan Gambar 4.1, menunjukkan bahwa hasil ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) berwarna coklat kehitaman, bertekstur kental sedikit encer dan menghasilkan aroma khas daun jambu biji. Penelitian yang dilakukan oleh Miranti (2021), juga menjelaskan bahwa ekstrak daun jambu biji dengan pelarut etanol memiliki ciri-ciri organoleptik, antara lain berwarna coklat kehitaman, berbau khas, memiliki rasa yang kelat dan kental. Daun jambu biji juga mengandung minyak atsiri atau essential oil sehingga ekstrak yang diperoleh

bertekstur kental sedikit encer (Gonçalves *et al.*, 2008). Sedangkan untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu bahan terhadap awal berat bahan simplisia serta untuk mengetahui banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan yang terekstraksi dapat diketahui dengan cara menghitung rendemen ekstrak (Utami *et al.*, 2020). Rendemen merupakan persentase produk yang didapatkan dari perbandingan antara berat bahan sebelum diproses dengan berat bahan setelah diproses. Satuan rendemen menggunakan satuan persen (%). Apabila nilai rendemen yang dihasilkan meningkat maka menandakan bahwa nilai ekstrak yang dihasilkan juga lebih banyak (Masruroh, 2018). Hasil rendemen ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) pada penelitian ini dapat disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.)

Pelarut	Massa Simplisia	Massa Ekstrak	Rendemen Ekstrak	Karakteristik
Etanol 70%	250 gram	119 gram	47,6%	Cokelat kehitaman, beraroma khas, kental sedikit encer

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) yang diperoleh pada penelitian ini sebanyak 47,6%. Menurut penelitian Sembiring *et al.* (2020), maserasi pada 250 gram simplisia daun jambu biji dengan pelarut etanol 70% dapat menghasilkan 44,66% rendemen ekstrak bahkan pada pelarut etanol 50% dan 95% menghasilkan rendemen ekstrak 46,03% dan 26,86%. Perbedaan konsentrasi rendemen ekstrak ini dapat terjadi akibat beberapa faktor yang nantinya akan mempengaruhi jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan. Beberapa faktor yang menjadi penyebab besar

kecilnya jumlah rendemen ekstrak ialah kehalusan bahan, jenis pelarut, konsentrasi pelarut, rasio pelarut dan padatan yang terlarut, waktu dan suhu ekstraksi serta lama pengadukan ketika ekstraksi. Menurut Heath dan Reineccius (1986), bertambah kecilnya ukuran bahan yang digunakan menjadikan bidang kontak antara bahan dengan pelarut lebih luas sehingga kecepatan dalam mencapai kesetimbangan sistem juga lebih besar. Sebagaimana telah dijelaskan melalui firman Allah Swt. dalam surah Al-Furqan (25) ayat 2 yang berbunyi:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَّم يَتَّخِذْ وِلْدًا وَّم يَكُنْ لَهُ شَرِيْكَ فِي الْمُلْكِ وَاَخْلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَعَدْرُهُ تَقْدِيْرًا (٢)

Artinya : “(Yaitu Zat) yang milik-Nyalah kerajaan langit dan bumi, (Dia) tidak mempunyai anak, dan tidak ada satu sekutu pun dalam kekuasaan(-Nya). Dia telah menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat.”(Kementerian Agama RI, 2012).

Ayat diatas menjelaskan bahwa hanya Dialah (Allah Swt.) pemilik kerajaan langit dan Bumi. Dia tidak mempunyai anak dan tidak pula ada sekutu bagi-Nya dalam kepemilikan. Dia telah menciptakan segala sesuatu serta memberikan ukuran dan aturan yang sangat cermat kepada masing-masing yang telah ditetapkan berupa rahasia-rahasia sehingga dapat menjamin keberlangsungan tugasnya secara teratur dan sistematis (Shibab, 2002). Oleh sebab itu, intensitas bahan yang sesuai dapat mempengaruhi efektivitas ekstraksi sehingga menjadikan proses ekstraksi berlangsung dengan cepat dan tidak memakan waktu yang lama.

Pemilihan jenis pelarut yang tepat merupakan hal yang penting dalam proses ekstraksi karena pelarut memiliki 3 macam sifat, yaitu pelarut yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, pelarut semipolar biasa digunakan untuk mendapatkan komponen yang bersifat polar sekaligus nonpolar dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar (Putra, 2018). Senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun jambu biji putih

(*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri mempunyai sifat polar sehingga pelarut yang digunakan juga bersifat polar, seperti etanol, metanol dan aseton. Pemilihan pelarut etanol karena kandungannya relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, tidak membutuhkan banyak biaya, dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi serta aman bagi ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan dan makanan (Hakim dan Saputri, 2020).

Konsentrasi pelarut juga dapat mempengaruhi jumlah rendemen yang dihasilkan karena sebagian pelarut yang tidak dapat menguap akibat suhu yang rendah akan tetap berada di dalam ekstrak pada saat pemisahan ekstrak dengan pelarut. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sembiring et al. (2020), menjelaskan bahwa ekstraksi dengan pelarut etanol 70% menghasilkan rendemen ekstrak yang tinggi karena pelarut etanol 70% mengandung air yang lebih banyak dibandingkan pelarut etanol 96%. Air dapat diuapkan dengan baik pada suhu tinggi. Namun, senyawa-senyawa aktif dapat mengalami kerusakan karena sensitif terhadap panas. Sehingga, makin tinggi konsentrasi pelarut maka makin rendah rendemen ekstrak yang dihasilkan. Pelarut etanol 70% merupakan pelarut yang sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, di mana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Voight, 1994).

4.2 Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (*Psidium guajava* L.)

Pengujian bebas etanol pada ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) dilakukan secara kualitatif menggunakan pereaksi kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) yang berperan sebagai agen pengoksidasi dan pereaksi asam sulfat pekat (H_2SO_4)

yang berfungsi sebagai katalis. Hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) yang telah melalui proses evaporasi tidak mengandung etanol yang merupakan pelarut antiseptik/disinfektan, sehingga ekstrak yang digunakan tidak mempengaruhi hasil uji antimikroba (Esati *et al.*, 2021). Hasil uji bebas etanol ini menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terbukti negatif mengandung etanol. Hal ini dapat ditunjukkan pada Gambar 4.2 yang memperlihatkan bahwa ekstrak tidak menunjukkan adanya perubahan warna hijau kebiruan setelah kedua pereaksi ditambahkan. Sedangkan apabila positif mengandung etanol maka akan terjadi perubahan warna hijau kebiruan. Prinsip yang digunakan dalam pengujian bebas etanol adalah reaksi oksidasi antara etanol dengan kalium dikromat dalam suasana asam. Reaksi yang terjadi adalah:



Reaksi ini ditandai berubahnya warna kalium dikromat yang mula-mula berwarna jingga menjadi hijau kebiruan (Pinata dan Nawfa, 2011).

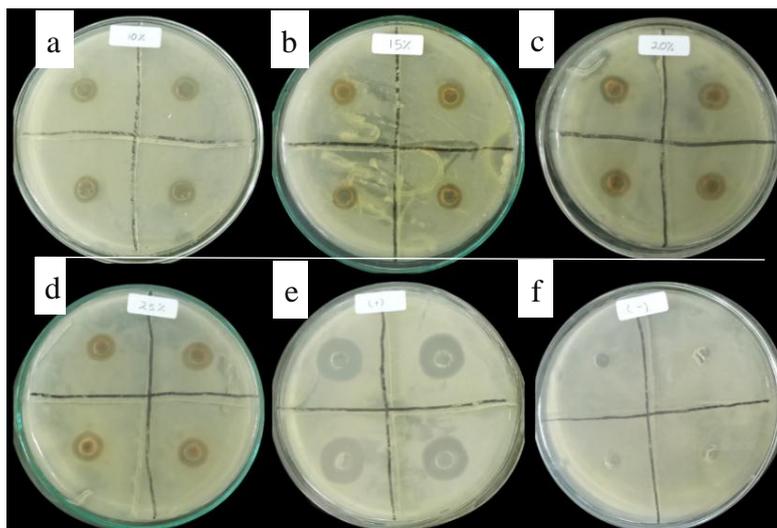


Gambar 4.2 Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) (Dokumentasi Pribadi, 2022)

4.3 Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L.) sebagai Antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*

4.3.1 Pengujian Zona Hambat dengan Metode Difusi Sumuran

Pengujian antibakteri ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dilakukan dengan metode difusi sumuran untuk mengetahui ada tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran. Pelaksanaan metode ini menggunakan alat pelubang atau *corkborer* untuk membuat lubang atau sumuran pada media yang sudah terkontaminasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Sesuai pendapat Sinaga *et al.* (2021), alasan memilih metode ini ialah dapat mengurangi kontaminasi mikroorganisme lain karena ekstrak yang digunakan sebagai antibakteri dapat berkontak langsung dengan media dan bakteri. Selain itu, luas zona hambat juga dapat diukur dengan lebih mudah karena bakteri beraktivitas tidak hanya di permukaan atas media agar melainkan juga sampai ke bawah media. Masing-masing perlakuan yaitu ekstrak daun jambu biji putih dibuat dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, kloramfenikol sebagai kontrol positif dan konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif untuk dimasukkan ke dalam lubang atau sumuran yang sudah terkontaminasi bakteri uji sehingga dapat terdifusi secara sempurna dan menghasilkan zona hambat. Hasil uji zona hambat ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) pada penelitian ini dapat diamati pada Gambar 4.3 dan Tabel 4.2.



Gambar 4.3 Hasil uji zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) konsentrasi (a) 10%, (b) 15%, (c) 20%, (d) 25%, (e) K+ dan (f) K- terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dalam metode difusi sumuran (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Tabel 4.2 Hasil zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menggunakan metode difusi sumuran

No.	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata±SD	Kategori
		I	II	III	IV		
1	10%	6	6,25	6,5	6,25	6,25±0,20	Sedang
2	15%	7,75	8	7,75	8	7,875±0,14	Sedang
3	20%	9	8,5	8,5	9	8,75±0,29	Sedang
4	25%	10,5	11	10,9	11	10,85±0,24	Kuat
5	kontrol +	15	15,5	16	15,5	15,5±0,41	Kuat
6	kontrol -	0	0	0	0	0	—

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan Tabel 4.2, uji efektivitas ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada masing-masing perlakuan menghasilkan zona hambat kecuali pada perlakuan kontrol negatif. Perlakuan konsentrasi 10%, 15% dan 20% menghasilkan zona hambat dengan masing-masing rata-rata diameter sebesar 6,25 mm, 7,875 mm dan 8,75 sehingga respons daya hambat termasuk dalam kategori sedang. Sedangkan pada konsentrasi 25%

menghasilkan zona hambat dengan rata-rata diameter sebesar 10,85 mm sehingga memberikan respons daya hambat yang kuat. Menurut penelitian Qonita *et al.* (2019), ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 10% menunjukkan potensi yang sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae* dengan diameter zona hambat sebesar 6,45 mm dan 8,17 mm. Hasil zona hambat yang diperoleh juga hampir sama dengan Vebliani *et al.* (2020) yang melakukan penelitian tentang ekstrak daun jambu biji dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi 20% dan menghasilkan diameter zona hambat sebesar 11,23 mm. Selain itu, ekstrak daun jambu biji juga dapat menghambat bakteri gram negatif lainnya, seperti bakteri *Serratia marcescens* pada konsentrasi 15% dengan zona hambat sebesar 7,38 mm (Rahman *et al.*, 2022) dan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 25% dengan zona hambat sebesar 11,81 mm (Aulia *et al.*, 2020).

Perlakuan kontrol negatif (konsentrasi 0%) tidak menunjukkan adanya zona hambat di sekitar sumuran sehingga bakteri *Vibrio parahaemolyticus* tidak mengalami penghambatan pertumbuhan. Sedangkan pada perlakuan kontrol positif menggunakan kloramfenikol 0,003% menunjukkan respons daya hambat yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan diameter zona hambat sebesar 15,5 mm. Menurut Candrarisna *et al.* (2015), mekanisme kloramfenikol sebagai salah satu antibiotik berspektrum luas yaitu dengan menghambat enzim peptidil transferase sebagai katalisator untuk

membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesis protein. Apabila sintesis protein sel bakteri terhambat, maka bakteri tidak akan mengalami perkembangan dan akhirnya mati. Peristiwa ini juga dialami oleh bakteri *Vibrio parahaemolyticus* karena bakteri tersebut peka/sensitif terhadap kloramfenikol sehingga mengakibatkan penghambatan pada proses pertumbuhan dan perkembangan sel bakteri yang akhirnya bakteri tersebut mengalami kematian. Menurut Kusmarwati *et al.* (2017), penggunaan kloramfenikol sebagai kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* disebabkan karena antibiotik ini masih bersifat sensitif terhadap bakteri tersebut dengan persentase 81,25% sehingga sangat efektif digunakan bahkan dalam skala kecil.

Ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan perlakuan konsentrasi 10% hingga 25% pada penelitian ini mengalami peningkatan diameter zona hambat sehingga apabila konsentrasi ekstrak lebih tinggi maka diameter zona hambat juga menjadi lebih besar. Perbesaran diameter zona hambat dapat disebabkan oleh banyaknya senyawa aktif yang terkandung dalam konsentrasi ekstrak sehingga dapat mempengaruhi diameter zona hambat yang dihasilkan. Menurut Dali *et al.*, (2011), ukuran diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu kepekaan pertumbuhan, reaksi antara bahan aktif dengan medium dan suhu inkubasi, pH lingkungan, komponen media, kerapatan koloni, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik mikroorganisme. Selain itu, studi dari Elya *et al.* (2009) menjelaskan bahwa jumlah inokulum, konsentrasi ekstrak dan daya

antibakteri dari zat atau senyawa yang berkhasiat juga dapat mempengaruhi besar kecilnya luas zona bening. Peningkatan jumlah inokulum pada uji antibakteri dapat memperkecil ukuran zona hambat yang terbentuk. Peningkatan konsentrasi ekstrak juga dapat mempercepat proses difusi zat atau senyawa berkhasiat sehingga mengakibatkan daya antibakteri menjadi lebih besar dan diameter zona hambat yang terbentuk lebih luas.

Pembentukan zona hambat pada masing-masing perlakuan menandakan bahwa adanya aktivitas dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan alam. Senyawa metabolit sekunder akan menghambat pertumbuhan bakteri dimulai dengan menghancurkan dinding sel bakteri. Masing-masing senyawa metabolit sekunder juga memiliki mekanisme kerja antibakteri yang berbeda-beda. Senyawa flavonoid dapat menembus dinding sel bakteri melalui peptidoglikan yang mana juga bersifat polar. Disisi lain, senyawa fenol merusak dinding sel bakteri dengan cara memutuskan ikatan peptidoglikan (Pelczar dan Chan, 1986).

Senyawa fenol dan turunannya (flavonoid, tanin, dan lain-lain) mudah membentuk kompleks protein melalui ikatan hidrogen (Harborne, 1987). Ion H^+ dari kompleks tersebut akan merusak gugus polar (gugus fosfat) membran bakteri sehingga molekul fosfolipid terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan membran sitoplasma akan bocor dan pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan sampai membunuh bakteri karena fosfolipid tidak dapat

mempertahankan bentuk membran sel (Sari dan Sari, 2011). Disisi lain, senyawa flavonoid memiliki mekanisme antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks protein, antara lain protein yang dapat larut, protein ekstraseluler dan dinding sel (Robinson, 1995). Kompleks tersebut menyebabkan terganggunya integritas membran sel bakteri (Dwidjoseputro, 1998).

Berdasarkan BPOM (2004), senyawa polifenol yang mendominasi daun jambu biji putih yaitu senyawa flavonoid (>1,4%) dan senyawa tanin. Senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri dan mampu menghambat motilitas bakteri. Senyawa ini juga dapat menghambat pertumbuhan parasit, seperti virus dan jamur (Darsana *et al.*, 2012). Sedangkan tanin merupakan salah satu golongan senyawa polifenol yang banyak dijumpai pada tumbuhan dan bersifat antibakteri karena toksisitasnya dapat merusak membran sel bakteri (Arlofa, 2015).

Mekanisme kerja flavonoid terbagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Dalam menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpukkan basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA (Cushnie dan Lamb, 2005). Penyebab terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom merupakan hasil interaksi antara flavonoid dengan

DNA. Membran sel bakteri mengalami kerusakan akibat senyawa flavonoid yang membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cowan, 1999). Selain itu, flavonoid juga menghambat metabolisme energi dengan cara mengganggu sistem respirasi bakteri karena energi yang cukup sangat dibutuhkan dalam proses respirasi bakteri untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan biosintesis makromolekul (Cushnie dan Lamb, 2005).

Senyawa tanin mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri melalui reaksi terhadap membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Senyawa ini bereaksi terhadap membran sel dengan cara menghambat enzim reverse-transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin juga memiliki target pada polipeptida dinding sel sehingga menimbulkan dinding sel tidak terbentuk secara sempurna dan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik dan akhirnya mengalami kematian (Sari dan Sari, 2011). Aktivitas antibakteri tanin berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivkan adhesi sel mikroba, menginaktivkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1999).

Data hasil uji zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal Wallis. Namun, uji Kruskal Wallis dapat dilakukan apabila data tersebut tidak berdistribusi normal atau tidak homogen, sehingga data tersebut harus melewati uji normalitas dan

homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas dilakukan menggunakan *Shapiro wilk test* dan uji homogenitas menggunakan *Levene's test* dengan masing-masing menunjukkan nilai signifikan $p < 0,05$. Hasil uji normalitas dan homogenitas dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Tabel 4.4 dengan kolom warna kuning.

Tabel 4.3 Hasil uji normalitas pada data hasil diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Tests of Normality ^b							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Zona Hambat	Konsentrasi 10 %	.250	4	.	.945	4	.683
	Konsentrasi 15 %	.307	4	.	.729	4	.024
	Konsentrasi 20 %	.307	4	.	.729	4	.024
	Konsentrasi 25 %	.333	4	.	.763	4	.051
	Kontrol Positif	.250	4	.	.945	4	.683

a. Lilliefors Significance Correction

b. Zona Hambat is constant when Perlakuan = Kontrol Negatif. It has been omitted.

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Tabel 4.4 Hasil uji homogenitas pada data hasil diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.771	5	18	.170

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan uji normalitas menggunakan *Shapiro wilk test* yang telah dilakukan, diperoleh nilai signifikan $p > 0,05$ pada konsentrasi 10 %, konsentrasi 25 % dan kontrol positif. Sedangkan pada konsentrasi 15 % dan 20 % nilai signifikan $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut tidak berdistribusi normal. Namun, pada uji homogenitas

menggunakan *Levene's test* menunjukkan bahwa data uji zona hambat memiliki varian yang homogen dengan nilai signifikan $p > 0,05$. Sehingga dapat dipastikan bahwa data yang diperoleh memenuhi syarat uji Kruskal Wallis. Uji Kruskal Wallis digunakan untuk membuktikan ada tidaknya perbedaan antara 2 atau lebih variabel bebas dengan variabel terikat secara statistik. Hasil uji Kruskal Wallis dapat dilihat pada Tabel 4.5 dengan kolom warna kuning.

Tabel 4.5 Hasil uji Kruskal Wallis pada data hasil diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Test Statistics ^{a,b}	
	Zona Hambat
Chi-Square	22.567
Df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan Tabel 4.5, hasil uji Kruskal Wallis pada data diameter zona hambat diperoleh nilai asymp. sig 0,000 atau $p < 0,05$ sehingga menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel bebas (perlakuan konsentrasi dan kontrol) dengan variabel terikat (diameter zona hambat). Selanjutnya uji lanjutan dapat dilakukan dengan *Mann Whitney test* untuk mengetahui adanya perbedaan nilai tengah (median) dari masing-masing perlakuan. Hasil uji Mann Whitney yang dapat dilihat pada Tabel 4.6 menunjukkan bahwa antara perlakuan satu dengan perlakuan yang lain memperoleh nilai asymp. sig. kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang

nyata pada nilai zona hambat yang dihasilkan oleh masing-masing perlakuan.

Tabel 4.6 Hasil uji lanjutan Mann Whitney pada data hasil diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus*

	10%	15%	20%	25%	K+	K-
10%						
15%	0,019*					
20%	0,019*	0,018*				
25%	0,019*	0,019*	0,019*			
K+	0,019*	0,019*	0,019*	0,019*		
K-	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*	

Keterangan: tanda (*) menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

4.3.2 Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan Metode Dilusi Tabung

Pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dilakukan dengan metode dilusi tabung. Metode ini merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengetahui adanya konsentrasi hambat minimum (KHM) sekaligus melihat konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari suatu mikroorganisme terhadap zat antimikroba. Metode dilusi dengan pengenceran tabung memiliki kelebihan dan kelemahan. Kelebihan metode ini ialah hasil yang diperoleh lebih teliti serta lebih mudah dan praktis karena dapat menguji konsentrasi hambat minimum (KHM) sekaligus konsentrasi bunuh minimum (KBM). Namun, kelemahan metode dilusi tabung juga terjadi apabila sampel yang digunakan dalam percobaan keruh maka dapat

mempersulit pengamatan sehingga sampel yang digunakan dalam percobaan harus jernih (Situmorang, 2019). Konsentrasi hambat minimum (KHM) merupakan konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji, sedangkan konsentrasi bunuh minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah yang mana mampu membunuh pertumbuhan mikroba uji (Adila *et al.*, 2013). Uji pendahuluan pada metode ini adalah mengkombinasikan hasil pengenceran ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) dengan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan media cair untuk melihat ada tidaknya kekeruhan pada konsentrasi tersebut. Hasil uji pendahuluan dapat disajikan dalam Gambar 4.4 dan Tabel 4.7.



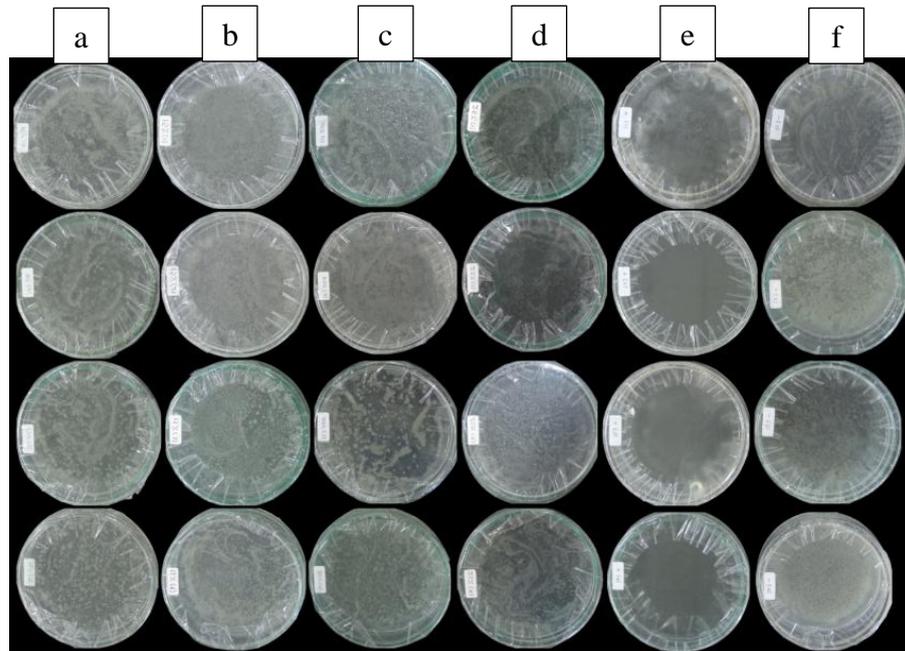
Gambar 4.4 Hasil uji pendahuluan ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) pada konsentrasi (A) 4 barisan depan/bd dari kanan : 10%, (A) 2 bd dari kiri dan 2 barisan belakang/bb dari kanan : 15%, (A) 4 bb dari kiri 20%, (B) 4 bd dari kanan : 25%, (B) 2 bd dari kiri dan 2 bb dari kanan : K+ dan (B) 4 bb dari kiri : K- terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode dilusi tabung (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Tabel 4.7 Hasil pengamatan kekeruhan media ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode dilusi tabung

Sampel	Mikroba Uji	Perlakuan	Ulangan			
			1	2	3	4
Ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10%	++	++	++	++
		15%	++	++	++	++
		20%	++	++	++	++
		25%	++	++	++	++
		K (+)	-	-	-	-
		K (-)	+++	+++	+++	+++

Keterangan : +++ (sangat keruh), ++ (keruh sedang), + (keruh sedikit), - (jernih)
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan hasil uji yang disajikan pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.7 menunjukkan bahwa semua perlakuan dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% mengalami kekeruhan yang sedang. Sedangkan perlakuan kontrol positif dengan kloramfenikol menunjukkan tidak adanya kekeruhan atau tetap terlihat jernih dan kontrol negatif menggunakan aquades mengalami perubahan media yang sangat keruh. Hal ini dapat disebabkan oleh terlalu pekatnya ekstrak yang digunakan atau pada konsentrasi tersebut masih terdapat pertumbuhan bakteri, sehingga untuk membuktikan ada tidaknya pertumbuhan bakteri maka dapat dilakukan uji pembuktian dengan cara menginokulasikan hasil uji pendahuluan pada media agar. Hasil uji pembuktian dapat dilihat pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.8 berikut.



Gambar 4.5 Hasil uji pembuktian ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi (a) 10%, (b) 15%, (c) 20%, (d) 25%, (e) K+ dan (f) K- sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dalam metode dilusi tabung (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Tabel 4.8 Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada media Nutrient Agar (NA) sebagai uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode dilusi tabung

Perlakuan	Jumlah Koloni (CFU/Plate) pada Ulangan				Nilai Rata-rata
	I	II	III	IV	
10%	151	143	147	145	146,5
15%	139	130	135	133	134,25
20%	124	119	122	120	121,25
25%	112	105	108	106	107,75
K(+)	0	0	0	0	0
K(-)	>250	>250	>250	>250	>250

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan hasil uji yang telah disajikan pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.8, menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan masing-masing rata-rata sebanyak 146,5 koloni, 134,25 koloni, 121,25 koloni, dan 107,25 koloni. Sedangkan pada perlakuan kontrol positif tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri dan kontrol negatif

menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri >250 koloni. Selain itu, pertumbuhan koloni bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada media Nutrient Agar (NA) dengan rata-rata jumlah koloni bakteri dari konsentrasi 10% hingga 25% mengalami penurunan dan jumlahnya tidak melebihi kontrol negatif sehingga tidak ada yang menunjukkan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Hal ini memberikan makna bahwa ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) pada konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (bakteriostatik) tetapi tidak dapat membunuh bakteri tersebut (bakterisidal). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nunggut (2020), diantara ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% yang terdapat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah konsentrasi 25% dan 50%. Sedangkan pada konsentrasi 75% dan 100% tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Sehingga konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun jambu biji terhadap bakteri *Escherichia coli* diperoleh pada konsentrasi 50% dan konsentrasi 75% menjadi konsentrasi bunuh minimum (KBM).

Peningkatan jumlah koloni bakteri dan kecilnya ukuran diameter zona hambat pada penelitian ini dapat dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri dan komposisi media pertumbuhan. Struktur dinding sel bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang termasuk bakteri gram negatif juga dapat mempengaruhi proses penghambatan zat aktif karena umumnya bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang terdiri dari 3 polimer senyawa mukokompleks yang terletak di luar lapisan peptidoglikan.

Ketiga polimer ini terdiri dari lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida. Lipoprotein adalah senyawa protein yang mempunyai fungsi menghubungkan antara selaput luar dengan lapisan peptidoglikan (murein) (Fitriah et al., 2017). Lipopolisakarida juga memiliki celah (porin) yang dapat berdifusi pasif zat/senyawa dengan berat molekul kecil, seperti glukosa dan asam amino dan sulit dilewati zat/senyawa aktif dengan berat molekul besar, seperti senyawa metabolit sekunder (Poeloengan, 2013). Selaput luar merupakan selaput ganda yang mengandung senyawa fosfolipid dan sebagian besar dari senyawa fosfolipid ini terikat oleh molekul-molekul lipopolisakarida pada lapisan atasnya (Fitriah et al., 2017). Selaput luar juga dapat mencegah kebocoran protein periplasma, yang terdiri dari peptidoglikan terhidrasi, protein pengikat, enzim hidrolitik dan oligosakarida. Apabila protein periplasma mengalami kebocoran maka zat antibakteri dapat menembus masuk ke dalam sel bakteri dan diikat oleh protein periplasma, sehingga dibutuhkan kadar yang lebih banyak untuk merusak selaput ganda fosfolipid (Suryani dan Stepriyani, 2007).

Komposisi media pertumbuhan juga dapat mempengaruhi hasil uji antibakteri karena media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri yaitu media Nutrient Agar merupakan salah satu media umum yang mengandung nutrisi untuk pertumbuhan bakteri dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni (Misna dan Diana, 2016). Media yang mengandung banyak timidin atau timin dapat mengurangi zona hambat karena kandungan timidin atau timin yang berlebihan dapat membalikkan

penghambatan sulfonamide dan trimetoprim. Senyawa sulfonamida dan trimetoprim merupakan senyawa antibakteri. Zona hambat dapat terbentuk hanya sedikit atau tidak ada sama sekali, variasi kation divalent (kation yang berlebihan akan mengurangi ukuran zona bersih yang dihasilkan. Sedangkan bila kation sangat rendah maka zona yang terbentuk terlalu besar) dari media (Lalitha, 2004). Media Muller Hinton mempunyai kadar timidin yang rendah sehingga dapat digunakan sebagai media yang baik untuk uji daya antibakteri. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan media Nutrient Agar yang kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan media Muller Hinton sehingga mempengaruhi besarnya zona hambat (Pitaloka et al., 2016).

Hasil data dari jumlah koloni bakteri dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal Wallis. Namun, syarat uji Kruskal Wallis ialah data tidak harus berdistribusi normal ataupun homogen. Uji normalitas dan uji homogenitas diperlukan untuk membuktikan data tersebut berdistribusi normal dan homogen atau tidak. Apabila nilai $p > 0,05$ maka data tersebut berdistribusi normal dan homogen, sedangkan jika nilai $p < 0,05$ maka data tidak berdistribusi normal dan varians datanya tidak homogen. Hasil uji normalitas dan homogenitas dari data jumlah koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.9 dan 4.10 dengan kolom warna kuning.

Tabel 4.9 Hasil uji normalitas Shapiro wilk dari data jumlah koloni bakteri ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode dilusi tabung

Tests of Normality ^{b,c}							
	KHM dan KBM	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Jumlah_Koloni_Bakteri	Konsentrasi 10%	.192	4	.	.971	4	.850
	Konsentrasi 15%	.171	4	.	.994	4	.976
	Konsentrasi 20%	.214	4	.	.963	4	.798
	Konsentrasi 25%	.218	4	.	.920	4	.538

a. Lilliefors Significance Correction

b. Jumlah_Koloni_Bakteri is constant when KHM dan KBM = Kontrol Positif. It has been omitted.

c. Jumlah_Koloni_Bakteri is constant when KHM dan KBM = Kontrol Negatif. It has been omitted.

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Tabel 4.10 Hasil uji homogenitas Levene's dari data jumlah koloni bakteri ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode dilusi tabung

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.300	5	18	.027

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan Tabel 4.9, hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data berdistribusi normal karena setiap perlakuan memiliki nilai signifikan $p > 0,05$. Namun, hasil uji homogenitas yang telah disajikan pada Tabel 4.10 menunjukkan nilai asymp. sig. 0,027 atau $p < 0,05$. Nilai tersebut memberikan makna bahwa varians data tersebut tidak homogen sehingga data dapat diuji menggunakan *Kruskal Wallis test*. Hasil uji Kruskal Wallis dapat dilihat pada Tabel 4.11 dengan kolom warna kuning.

Tabel 4.11 Hasil uji Kruskal Wallis dari data jumlah koloni bakteri ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode dilusi tabung

Test Statistics ^{a,b}	
	Jumlah_Koloni_Bakteri
Chi-Square	22.596
Df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: KHM dan KBM

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Tabel 4.12 Hasil uji Mann Whitney dari data jumlah koloni bakteri ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode dilusi tabung

	10%	15%	20%	25%	K+	K-
10%						
15%	0,021*					
20%	0,021*	0,021*				
25%	0,021*	0,021*	0,021*			
K+	0,014*	0,014*	0,014*	0,014*		
K-	0,014*	0,014*	0,014*	0,014*	0,008*	

Keterangan: tanda (*) menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan Tabel 4.11, hasil uji Kruskal Wallis diperoleh nilai asymp. sig. 0,000 atau $p < 0,05$ yang mana memberikan makna bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara variabel bebas (perlakuan konsentrasi dan kontrol) dengan variabel terikat (jumlah koloni bakteri). Selanjutnya, data dapat diuji lanjutan menggunakan *Mann Whitney test*. Hasil uji Mann Whitney yang telah disajikan pada Tabel 4.12 menunjukkan bahwa antara perlakuan satu dengan perlakuan yang lain memperoleh nilai asymp. sig. kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), sehingga memberikan makna bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada jumlah koloni bakteri yang dihasilkan oleh masing-masing perlakuan.

Penggunaan ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro* pada penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri atau bersifat bakteriostatik karena senyawa metabolit sekunder yang dimiliki ekstrak dapat mengganggu sistem metabolisme bakteri. Fenomena ini merupakan salah satu tanda kebesaran Allah Swt. bagi orang-orang yang berfikir karena Allah Swt. telah menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini untuk kesejahteraan manusia dan tidak ada satupun yang sia-sia. Sebagaimana firman Allah Swt. dalam Q.S. Abasa (80) ayat 25-32 yang berbunyi:

أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا (٢٥) ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا (٢٦) فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا (٢٧) وَعَبَبْنَا وَقَضَبًّا (٢٨)
وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا (٢٩) وَحَدَاقًا عُجْبًا (٣٠) وَفَاكِهَةً وَأَبًّا (٣١) مَتَاعًا لَكُمْ وَلَا نِعَامًا لِي (٣٢)

Artinya : “Sesungguhnya Kami telah mencurahkan air (dari langit) dengan berlimpah, kemudian Kami belah Bumi dengan sebaik-baiknya, lalu Kami tumbuhkan padanya (Bumi) biji-bijian, anggur dan sayur-sayuran, zaitun, pohon kurma, kebun-kebun (yang) rindang, buah-buahan, dan rerumputan. (semua itu disediakan) Untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu” (Kementerian Agama RI, 2012).

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah Swt. telah mencurahkan hujan dari langit dengan sederas-derasnya. Kemudian menjadikan bumi merekah dengan ditumbuhi tumbuh-tumbuhan sehingga tumbuhlah biji-bijian dari bumi yang sebagian dimakan dan sebagian lain disimpan, anggur dan sayur-sayuran yang dimakan dalam keadaan segar, buah zaitun yang berkualitas baik serta pohon kurma yang produktif dan menghasilkan buah, kebun-kebun yang lebat, buah-buahan yang dimakan oleh manusia dan rerumputan yang menjadi makanan binatang ternak. Semua itu

dihidupkan oleh Allah Swt. demi kesenangan manusia dan binatang ternaknya (Shibab, 2002).

Surah Abasa (80) ayat 25-32 ini telah mengisyaratkan bahwa adanya interaksi antara tumbuhan dengan makhluk hidup lain, yaitu hewan dan manusia. Untuk itu, ekologi memberikan kedudukan pada tumbuhan sebagai kelompok produsen dan hewan atau manusia sebagai kelompok konsumen. Secara ekologis, tumbuh-tumbuhan sebagai kelompok produsen memiliki peranan yang sangat penting bagi makhluk hidup lain. Kemampuan tumbuhan untuk mengubah energi dari matahari berupa cahaya menjadi energi kimia tidak dapat dilakukan oleh organisme lain. Perubahan ini hanya dapat dilakukan oleh tumbuhan melalui peristiwa fotosintesis, itupun hanya bisa dilakukan oleh tumbuhan yang memiliki klorofil. Peristiwa transformasi energi ini adalah fenomena alam yang patut untuk dijadikan sebagai bahan perenungan akan kebesaran Sang Pencipta dan sebagai perenungan betapa pentingnya pelestarian alam termasuk tumbuhan (Hikmah, 2018).

Proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman berasal dari benih yang tampaknya tidak memberi manfaat melainkan dapat menghasilkan tumbuh-tumbuhan yang bermanfaat bagi manusia, sebagai contoh tanaman jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.). Menurut Leksono (2010), tumbuhan memiliki dua sumber manfaat, diantaranya ialah sebagai sumber makanan dan sebagai sumber obat-obatan. Keankaragaman hayati menyediakan beragam spesies organisme sumber makanan bagi manusia baik secara langsung maupun tidak langsung

melalui proses genetiknya. Selain itu, beberapa spesies tumbuhan juga bisa dimanfaatkan sebagai sumber bahan baku membuat obat-obatan.

Sebagaimana dalam hadits yang diriwayatkan oleh Ahmad no. 6986

حَدَّثَنَا سُفْيَانُ عَنِ الرَّهْرِيِّ عَنْ أَبِي سَلَمَةَ إِنَّ شَاءَ اللَّهُ عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ عَلَيْكُمْ بِهَذِهِ الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ فَإِنَّ فِيهَا شِفَاءً مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ قَالَ سُفْيَانُ السَّامُ الْمَوْتُ وَهِيَ الشُّونِيزُ

Artinya : “Telah menceritakan kepada kami Sufyan dari Az Zuhri dari Abu Salamah -InsyaAllah- dari Abu Hurairah dari Nabi Shallallahu 'alaihi wa Salam, beliau bersabda: "Hendaklah kalian menggunakan habbatus sauda' (biji hitam) ini, sebab di dalamnya terdapat obat bagi seluruh penyakit kecuali As Saam." Sufyan berkata: As Saam adalah kematian, dan maksud biji itu adalah jinten hitam (latin: *Nigella Sativa* -ed).”

Hadits diatas menjelaskan bahwa dari Abu Hurairah r.a., Rasulullah Saw. pernah bersabda “hendaklah kalian menggunakan habbatus sauda' (biji hitam) ini, sebab di dalamnya terdapat obat bagi seluruh penyakit kecuali kematian”. Maksud dari biji hitam itu adalah jinten hitam (*Nigella sativa*). Hadits ini membuktikan bahwa sejak dahulu Rasulullah Saw. sudah menganjurkan adanya pemanfaatan tumbuhan dalam mengobati segala macam penyakit kecuali kematian. Penggunaan tanaman sebagai obat pada suatu penyakit membutuhkan berbagai macam analisis dan observasi hingga menghasilkan suatu produk yang aman untuk digunakan. Oleh sebab itu, banyak penelitian dan ilmu kedokteran melakukan uji pengobatan menggunakan bahan nabati yaitu tumbuhan dibandingkan menggunakan bahan hewani (Najib, 2018).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- a. Pada pengujian zona hambat, ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi 10%, 15% dan 20% memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan masing-masing diameter zona hambat sebesar 6,25 mm, 7,875 mm, 8,75 mm dan kategori respons daya hambat yang sedang. Sedangkan pada konsentrasi 25% menunjukkan kategori respons daya hambat yang kuat dengan diameter zona hambat 10,85 mm.
- b. Pada pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM), ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% menunjukkan tidak adanya koloni yang tumbuh kurang dari 50 koloni dan kematian bakteri (0 koloni) sehingga dapat disimpulkan bahwa keempat konsentrasi ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) yang diuji bukan termasuk konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) atau dalam penelitian ini ekstrak daun jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) hanya mampu menghambat pertumbuhan (bersifat bakteriostatik) terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah diperlukan penelitian lebih lanjut terkait uji efektivitas dari bagian tanaman jambu biji daging buah putih (*Psidium guajava* L.) yang lain atau dari spesies tanaman lain atau kombinasi tanaman sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro* menggunakan metode ekstraksi yang lain, media yang lain dan metode uji yang berbeda.



DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, H., Susanti, D., Lantiany, D., Supriyanto, D., Irawan, Novianto, H., Rahman, H., 2020. Penilaian Resiko Hama dan Penyakit Ikan Karantina sebagai Upaya Pencegahan Penyebarannya Melalui Lalu Lintas Komoditas Perikanan dari Yogyakarta. *SIGANUS: JFMS* 2, 87–91. <https://doi.org/10.31605/siganus.v2i1.759>
- Adila, R., Nurmiati, Agustien, A., 2013. Uji Antimikroba *Curcuma* spp. terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Bio. UA*. 2, 1–7.
- Adnyana, I.K., Yulinah, E., Sigit, J.I., 2004. Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji Daging Buah Merah sebagai Antidiare. *Acta Pharmaceutica Indonesia* XXIX, 9.
- Afifi, R., Erlin, E., 2017. Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat *Propionibacterium acnes* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* Vol. 17 (2), 321–330. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v17i2.259>
- Agustrina, G., 2011. Potensi Propolis Lebah Madu Apis *Malifera* spp sebagai Bahan Antibakteri (*Skripsi*). Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Alapide-Tendencia, E.V., Dureza, L.A., 1997. Isolation of *Vibrio* spp. from *Penaeus monodon* (Fabricius) with Red Disease Syndrome. *Aquaculture*, 154 (2), 107–114. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00045-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00045-8)
- Anggita, D., Nurisyah, S., Wiriansya, E.P., 2022. Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal* 7, 46–58.
- Arlofa, N., 2015. Uji Kandungan Senyawa Fitokimia Kulit Durian sebagai Bahan Aktif Pembuatan Sabun. *Jurnal Chemtech* 1, 18–22.
- Aryaningrat, M.R.B., Astuti, N.K.A., Sumantri, 2019. Perbandingan Daya Hambat Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha* wight) Konsentrasi 100%, 70%, 50% dan Povidone Iodine 1% dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*, in: *PROCEEDING BOOK: The 4th Bali Dental Science & Exhibition Balidence 2019*. UNMAS Press, Bali.
- Aulia, D.R., Muthmainah, N., Yasmina, A., 2020. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung dan Daun Jambu Biji terhadap *Salmonella typhi*. *Homeostasis* 3, 7–14.

- Austin, B., 2010. Vibrios as Causal Agents of Zoonoses. *Journal of Veterinary Microbiology* 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.015>
- Badan Pusat Statistik [BPS], 2021. *Produksi Tanaman Buah-buahan 2020*. BPS-Statistics Indonesia.
- Bangu, A.I., 2018. Formulasi dan Evaluasi Granul Effervescent Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). (*Karya Tulis Ilmiah*). Program Studi Farmasi, Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang, Kupang.
- BPOM, B.P.O. dan M., 2004. *Ekstrak Kental Daun Jambu Biji dalam: Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta.
- Brock, Madigan, 1991. *Biology of Microorganism Fifth Edition*. Prentice Hall International.
- Budiarti, R., Husain, D.R., Hasyim, Z., Abdullah, A., 2016. Kemampuan Beberapa Isolat Bakteri Endosimbion Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. *Hasanuddin University Repository* 11.
- Cahyono, B., 2010. *Sukses Budidaya Jambu Biji di Pekarangan & Perkebunan*, 1st ed. Lily Publisher, Yogyakarta.
- Candrarisna, M., Santosa, E.B., Indarjulianto, S., Amanu, S., 2015. Uji Sensitivitas Anti Bakteri dan Anti Jamur terhadap *Megabacterium* secara in vitro. *VITEK: Bidang Kedokteran Hewan* 5, 1–5.
- Chen, S.-Y., Jane, W.-N., Chen, Y.-S., Wong, H., 2009. Morphological Changes of *Vibrio parahaemolyticus* under Cold and Starvation Stresses. *International Journal of Food Microbiology* 129 (2), 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.11.009>
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 564–582.
- Cushnie, T.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26, 343–356.
- Dali, S., Natsir, H., Usman, H., Ahmad, A., 2011. Bioaktivitas Antibakteri Fraksi Protein Alga Merah *Gelidium amansii* dari Perairan Cikoang Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. *Journals* 15, 47–52.
- Daniels, N.A., MacKinnon, L., Bishop, R., Altekrose, S., Ray, B., Hammond, R.M., Thompson, S., Wilson, S., Bean, N.H., Griffin, P.M., Slutsker, L., 2000. *Vibrio parahaemolyticus* Infections in the United States, 1973–1998. *J INFECT DIS* 181, 1661–1666. <https://doi.org/10.1086/315459>

- Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K., Mahatmi, H., 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Indonesia Medicus Veterinus* 1, 337–351.
- Davis, W.W., Stout, T.R., 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology* 22, 659–665.
- De Schryver, P., Defoirdt, T., Sorgeloos, P., 2014. Early Mortality Syndrome Outbreaks: A Microbial Management Issue in Shrimp Farming? *PLoS Pathogens* 10 (4), e1003919. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003919>
- Deepika, D.S., Sowmya, D.L., Kumar, P.K.R., Ashok, P., 2014. Physicochemical and Bacteriological Status of Drinking Water in Pedabida, Agency Area, Andhra Pradesh. *International Journal of Current Research* 6, 5647–5651.
- Dewi, F.K., 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar (*Skripsi*). Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Ditjen POM, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Dwidjoseputro, D., 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Cetakan ke 13. Djambatan. Jakarta 214.
- Elya, B., Soemiati, A., Farida, F., 2009. Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Manggis Hutan (*Garcinia rigida* miq.). *Majalah Ilmu Kefarmasian* 6, 9–17.
- Esati, N.K., Darmika, R., La, E.O.J., Prasetya, A.A.P.R., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Daun Afrika asal Bali terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Acta Holist. Pharm.* 3, 24–29.
- Fitriah, F., Mappiratu, M., Prismawiryanti, P., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) dari Beberapa Tingkat Kepolaran Pelarut. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia* 3, 242–251.
- Fратиwi, Y., 2015. The Potential of Guava Leaf (*Psidium guajava* L.) for Diarrhea. *J. Majority* 4, 6.
- Ganesh, S., J., S., P., K., N., C., K., R., 2012. Isolation and Identification of *Vibrio* spp. in Diseased *Channa punctatus* from Aquaculture Fish Farm. *INDIAN J. MAR. SCI.* 14, 159–163.
- Ganiswara, S., Setiabudy, R., Suyatna, F.D., 1995. *Farmakologi dan Terapi, IV*. ed. Bagian Farmakologi Kedokteran UI, Jakarta.

- Gonçalves, F.A., Andrade Neto, M., Bezerra, J.N.S., Macrae, A., Sousa, O.V. de, Fonteles-Filho, A.A., Vieira, R.H.S.F., 2008. Antibacterial Activity of Guava, *Psidium guajava* Linnaeus, Leaf Extracts on Diarrhea-Causing Enteric Bacteria Isolated from Seabob Shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 50 (1), 11–15. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000100003>
- Haidarjati, A., Fajriyah, N.N., Slamet, S., 2020. Uji Aktivitas Nafsu Makan Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n-Heksan Daun Singkong (*Manihot utilisima*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Proceeding of The URECOL* 484–487.
- Hakim, A.R., Saputri, R., 2020. Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika* 6, 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Handarni, D., Putri, S.H., Tensiska, T., 2020. Skrining Kualitatif Fitokimia Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *JKPTB* 8, 182–188. <https://doi.org/10.21776/ub.jkptb.2020.008.02.08>
- Harborne, J.B., 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB, Bandung 9–71.
- Heath, H.B., Reineccius, G., 1986. *Flavor Chemistry and Technology*. Springer, The AVI, Publishing Co. Inc, Westport, Connecticut.
- Hernandez, G.L.C., Cifuentes, E., Rothenberg, S.J., 2006. Environmental Factors Associated with the Presence of *Vibrio parahaemolyticus* in Sea Products and the Risk of Food Poisoning in Communities Bordering the Gulf of Mexico. *Journal of Environmental Health Research* 5 (2), 75.
- Hikmah, B., 2018. Manfaat Tumbuhan bagi Manusia (Studi Sains dan Surah 'Abasa 25-32) (*Skripsi*). UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Hirudkar, J.R., Parmar, K.M., Prasad, R.S., Sinha, S.K., Lomte, A.D., Itankar, P.R., Prasad, S.K., 2020. The Antidiarrhoeal Evaluation of *Psidium guajava* L. Against Enteropathogenic *Escherichia coli* Induced Infectious Diarrhoea. *Journal of Ethnopharmacology* 251, 10. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112561>
- Hurryah, M., Hilyana, S., Mukhlis, A., 2015. Penggunaan Ekstrak Daun Jambu Biji *Psidium guajava* untuk Meningkatkan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes altivelis* terhadap Serangan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Perikanan Universitas Mataram* 7, 23–29.

- Indriani, S., 2006. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *J. II. Pert. Indon* 11, 13–17.
- Jayanti, M.F., 2011. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) varian Merah dan Putih terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* (Skripsi). Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.
- Kadarwenny, C.P., 2017. Penetapan Kadar Alkaloid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dari Ekstrak Etanol Daun Kemaitan (*Lunasia amara* Blanco) (Skripsi). Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember.
- Kartasapoetra, G., 1996. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*, Cet. 3. ed. Rineka Cipta, Jakarta.
- Katzung, B.G., 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Buku ke-3, Penerjemah dan Editor: Badan Farmakologi FK UNAIR, 8th ed. Salemba Medika, Surabaya.
- Kementerian Agama RI, 2012. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*. Wali, Jakarta.
- Kunarso, D.H., 1989. Teknik Membran Filter untuk Mendeteksi Bakteri Pencemar. *Oceana XIV*, 133–143.
- Kusmana, C., Hikmat, A., 2015. The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management (jpsl)* 5, 187–198. <https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>
- Kusmarwati, A., Yenni, Y., Indriati, N., 2017. Resistensi Antibiotik pada *Vibrio parahaemolyticus* dari Udang Vaname Asal Pantai Utara Jawa untuk Pasar Ekspor. *JPB Kelautan dan Perikanan* 12, 91–106.
- Kusmiyati, K., Agustini, N.W.S., 2006. Antibacterial Activity Assay from *Porphyridium cruentum* Microalgae. *Biodiversitas* 8 (1). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d080110>
- Lalitha, D.M.K., 2004. Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Performance standards for antimicrobial testing: Twelfth Informational Supplement* 56238, 454–456.
- Leksono, A.S., 2010. *Keanekaragaman Hayati*. Universitas Brawijaya Press.
- Lennette, T.H., Barilows, A., LennHausler, W.J., Shadoni, H.J., 1991. *Manual Clinical Microbiology*, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.

- Marefa, D., 2021. Pengaruh Perbandingan Sari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dan Sari Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kualitas Sifat Organoleptik Permen Jelly (*Skripsi*). Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Raden Intan, Lampung.
- Marjoni, R., 2016. *Dasar-dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi*. C.V. Trans Info Media, Jakarta.
- Masruroh, U.D., 2018. Analisis Nilai Rendemen dari Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) Menggunakan Sistem Evaporator Vacuum (Analyses Rendemen Value of Seaweed (*Eucheuma spinosum*) in Vacuum Evaporation System) (*Skripsi*). Universitas Diponegoro, Semarang.
- McLaughlin, J.B., Bopp, C.A., Allison, C.G., Bird, M.M., 2005. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* Gastroenteritis Associated with Alaskan Oysters. *The New England Journal of Medicine* 8.
- Miranti, E., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak dari Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* (*Skripsi*). Program Studi S1 Farmasi Stikes Bhakti Husada Mulia, Madiun.
- Misna, M., Diana, K., 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *GALENIKA Journal of Pharmacy* 2, 138–144.
- Mizunoe, Y., Wai, S.N., Ishikawa, T., Takade, A., Yoshida, S., 2000. Resuscitation of Viable but Nonculturable Cells of *Vibrio parahaemolyticus* Induced at Low Temperature under Starvation. *FEMS Microbiology Letters* 186 (1), 115–120. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09091.x>
- Najib, A., 2018. *Ekstraksi Senyawa Bahan Alam*. Deepublish.
- Naseer, S., Hussain, S., Naeem, N., Pervaiz, M., Rahman, M., 2018. The Phytochemistry and Medicinal Value of *Psidium guajava* (Guava). *Clinical Phytoscience* 4 (1), 32. <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0093-8>
- Nasiri, T.N., Sani, S.A., Abdullah, R., Faik, A.A.M., Jawan, R., Sabullah, M.K., 2020. Phytochemical and Antimicrobial Investigation and Comparison Between Young and Mature *Psidium guajava* Leaves Extract. *Borneo Science* 41, 10.
- Naufa, F., 2016. *Panduan Praktis Budidaya Jambu Merah*, 1st ed. Akar Publishing, Depok.

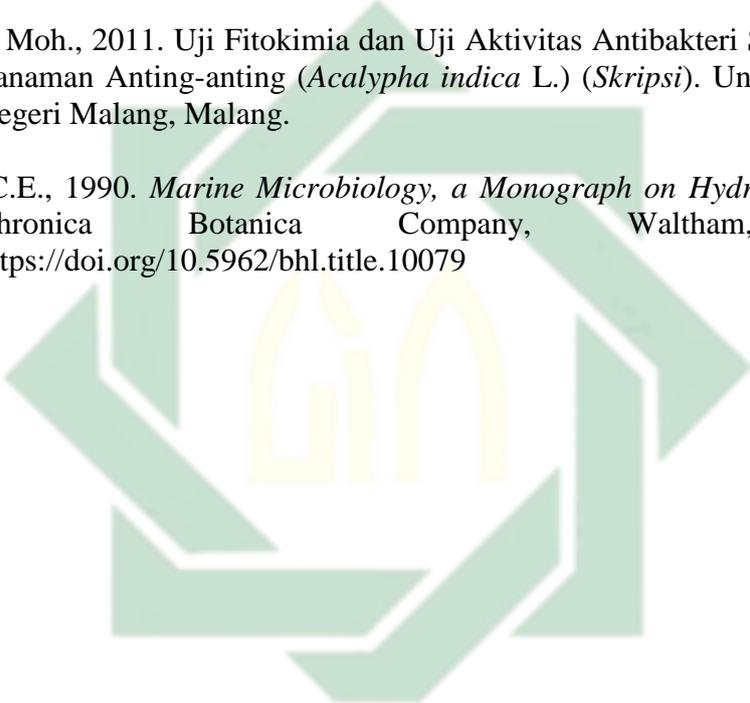
- Nguyen, Hai Thanh, Dang, L.T., Nguyen, Hanh Thi, Ha Hoang, H., Ngoc Lai, H.T., Nguyen, H.T.T., 2018. Screening Antibacterial Effects of Vietnamese Plant Extracts Against Pathogens Caused Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease in Shrimps. *Asian J Pharm Clin Res* 11, 77. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i5.23618>
- Nitimulyo, K.H., Isnansetyo, A., Triyanto, T., Istiqomah, I., Murdjani, M., 2005. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi *Vibrio* spp. Patogen Penyebab Vibriosis pada Kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *JFS* 7, 80. <https://doi.org/10.22146/jfs.9053>
- Novriadi, R., 2014. Penyakit Ikan Air Laut di Indonesia. *Kementerian Kelautan dan Perikanan* 38.
- Nunggut, Y., 2020. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* (Karya Tulis Ilmiah). Program Studi Diploma III Analisis Kesehatan, STIKes Insan Cendekia Medika, Jombang.
- Nurjanah, S., Prayitno, S.B., Sarjito, 2014. Sensitivitas Bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang Diisolasi pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sakit terhadap Berbagai Macam Obat Beredar. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 3, 308–316.
- Oktabimasakti, 2015. Efektivitas Antibakteri Gel Ekstrak Metanol Kulit Batang Tanjung (*Mimusops elengi* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. (Naskah Publikasi). Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak 1–12.
- Oktavianus, S., 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (Skripsi). Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Pelczar, M. J, Chan, E.C.S., 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid I. Alih Bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S. S., dan Angka, S. L., UI Press, Jakarta.
- Permana, A.R., 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.) (Skripsi). Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Pinata, D., Nawfa, R., 2011. Uji Kualitatif Etanol yang Diproduksi secara Enzimatis Menggunakan *Z. Mobilis* Permeabel. *Prosiding Kimia FMIP Institut Teknik Sepuluh November (ITS)*.
- Pinta, Lolo, W.A., Yamlean, P.V.Y., 2017. Identifikasi Kandungan Fitokimia dan Uji Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum Ekstrak Etanol

- Daun Pangi (*Pangium edule* REINW. EX BLUME) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *PHARMACON Jurnal Ilmu Farmasi-UNSRAT* 6, 8.
- Pitaloka, A.Z., Wahjuningrum, D.A., Cahyani, F., 2016. Perbedaan Daya Antibakteri Alicin Bawang Putih (*Allium sativum*) 16,7% dan Chlorhexidine 2% terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Conservative Dentistry Journal* 6, 34–39.
- Poeloengan, M., 2013. Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. *Jurnal Veteriner*.
- Post, G., 1987. *Textbook of Fish Health*. T.F.H. Publications, USA.
- Prasetyo, Inorih, E., 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-obatan (Bahan Simplisia)*, 1st ed. Badan Penerbitan Fakultas Pertanian (UNIB), Bengkulu.
- Prawirosujanto, S., Looho, E., Heman, Sutrisno, B., Lesmono, B., 1977. *Materia Medika Indonesia*, 1st ed. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Pribadi, E.R., 2009. Pasokan dan Permintaan Tanaman Obat Indonesia serta Arah Penelitian dan Pengembangannya. *Perspektif* 8 (1), 52–64.
- Putra, R.D.P., 2018. Ekstraksi Kandungan Tanin pada Daun Jambu Biji (*Psidium folium*) dengan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE) (*Skripsi*). Universitas Brawijaya, Malang.
- 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 Pharmaciae Indo* 7, 51–57.
- Rahman, I.W., Fadlilah, R.N., Kristiana, H.N., Dirga, A., 2022. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Serratia marcescens*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan* 13, 14–22.
- Ratnasari, 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Diklorometan dan Etil Asetat Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (*Skripsi*). Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Robinson, T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB, Bandung.
- Rosmania, Yanti, F., 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains: UP2M, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University* 2, 76–86.

- Rukmana, N.R., Mahasri, G., Hidayah, S.N., Ulkhaq, M.F., Kencono, H., 2019. Bacterial Identification from Marine Ornamental Fish in Fish Quarantine, Quality Control and Fishery Products Safety Class I Denpasar, Bali. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 236, 012107. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012107>
- Saleh, H.A., Saokani, J., Rijal, S., 2016. Penentuan Nilai Kalor serta Pengaruh Asam Klorida (HCl) terhadap Kadar Bioetanol Bonggol Pisang (*Musa paradisiaca*). *Al-Kimia* 4, 68–77. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v4i1.1458>
- Sari, F.P., Sari, S.M., 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. *Technical Report*, Diponegoro University.
- Sarjito, M.A., Haditomo, A.H.C., 2016. Keanekaragaman Agen Penyebab Vibriosis pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan Sensitivitasnya terhadap Antibiotik. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 5, 98–107.
- Sembiring, B.B., Bermawie, N., Rizal, M., Kartikawati, A., 2020. Pengaruh Teknik Ekstraksi Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Jamu Indonesia* 5, 22–32.
- Setyowati, D.N., Cokrowati, N., 2021. Identification of Vibriosis from Seaweed Culture in Lombok, West Nusa Tenggara. *Journal of Fish Health* 1, 12–15. <https://doi.org/10.29303/jfh.v1i1.164>
- Shibab, M.Q., 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'an*. Lentera Hati, Jakarta.
- Sinaga, E.M., Aritonang, B., Ambarwati, N.F., Ritonga, A.H., 2021. Pembuatan Sabun Padat Antiseptik Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. f.). *Jurnal Indah Sains dan Klinis* 2, 17–24.
- Sirgel, F.A., Wiid, I.J., van Helden, P.D., 2009. *Measuring Minimum Inhibitory Concentrations in Mycobacteria*, in: *Mycobacteria Protocols*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 173–186.
- Situmorang, U.S., 2019. Formulasi dan Uji Sensitivitas Sediaan Gel dari Antibiotik Doksisisiklin dan Tetrasiklin terhadap Bakteri *Propionibacterium acne* (*Skripsi*). Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia, Medan.

- Starr, M.P., Stop, H., Troper, H.G., Balows, A., Schlegel, M.G., 1981. *The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria*. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg. New York.
- Supardi, I., 1999. *Mikrobiologi dalam Pengelolaan dan Keamanan Pangan*. Alumni, Bandung.
- Supriharyono, 2009. *Konservasi Ekosistem Sumberdaya Hayati di Wilayah Pesisir dan Laut Tropis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Suryani, L., Stepriyani, S., 2007. Daya Antibakteri Infusa Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Mutiara Medika* 7, 23–28.
- Suyitno, Haryadi, Supriyadi, 1989. *Rekayasa Pangan*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Syamsir, E., 2011. *Kasus Vibrio parahaemolyticus di dalam Seafood*. IPB, Bogor.
- Talaro, K.P., Chess, B., 2018. *Foundations in Microbiology*, 10th ed. McGraw-Hill Education, New York, NY.
- Thomas, A.N.S., 1989. *Obat Tradisional*, 1st ed. Karnisius, Yogyakarta.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H., 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 1 (1), 98–106.
- Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L., 2010. *Microbiology: an Introduction*, 10th ed. Benjamin Cummings, San Francisco.
- Trianto, A., Wibowo, E., Suryono, S., R.S., 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* sebagai Antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Ilmu Kelautan* 9, 186–189.
- Truong, M.U., Dao, T.T.U., Tu, T.D., 2021a. Antimicrobial Activity of Herbal Extracts Against *Vibrio* spp. Bacteria Isolated from White Feces Syndrome on White Leg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in some Provinces in the Mekong Delta. *CTUJS* 13, 61–68. <https://doi.org/10.22144/ctu.jen.2021.031>
- Utami, N.F., Sutanto, S., Nurdayanty, S.M., Suhendar, U., 2020. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi* 10, 76–83.

- Vebliani, R., Muthmainah, N., Yasmina, A., 2020. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung dan Daun Jambu Biji terhadap *Escherichia coli* In Vitro. *Homeostasis* 3, 141–146.
- Voight, R., 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, V, Diterjemahkan oleh, Soedani Noerono. ed. Penerbit Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Wong, H.-C., Chen, M.-C., Liu, S.-H., Liu, D.-P., 1999. Incidence of Highly Genetically Diversified *Vibrio parahaemolyticus* in Seafood Imported from Asian Countries. *International Journal of Food Microbiology* 52, 181–188. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00143-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00143-9)
- Zamroni, Moh., 2011. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Tanaman Ating-ating (*Acalypha indica* L.) (Skripsi). Universitas Islam Negeri Malang, Malang.
- ZoBell, C.E., 1990. *Marine Microbiology, a Monograph on Hydrobacteriology*. Chronica Botanica Company, Waltham, Mass., <https://doi.org/10.5962/bhl.title.10079>



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A