

UJI IN VITRO KOMBINASI EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L) DAN KULIT BUAH SALAK (*Salacca zalacca*) TERHADAP BAKTERI *E. coli*

IN VITRO TEST OF COMBINATION OF GUAVA LEAF EXTRACT (*Psidium guajava* L) AND SNAKE FRUIT PEEL (*Salacca zalacca*) AGAINST *E. coli* BACTERIA

**Achmad Wahyudi¹,
Yeni Agustin², Mayaranti Wilsya³, Rizky Hidayati Salbia⁴**

^{1,2,3,4}STIK Siti Khadijah

Email : rizkyhidayatiasalbia@gmail.com

No. Hp : 082275408510

ABSTRAK

Infeksi bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu penyebab utama gangguan saluran pencernaan dan menunjukkan resistensi terhadap beberapa antibiotik konvensional. Tanaman seperti daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan kulit buah salak (*Salacca zalacca*) menjadi alternatif tanaman yang menjadi pengobatan tradisional yang potensial karena memiliki metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang memiliki efektivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak etanol dari kedua bahan tersebut terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan dengan metode difusi cakram. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang dipilih dengan menggunakan pelarut etanol 96% perbandingan 1:5. Ekstrak kulit salak dan ekstrak daun jambu biji dikombinasikan dengan konsentrasi 20%:30%, 20%:40%, dan 20%:50%. Pengujian dilakukan pada media nutrient agar yang diinokulasi *Escherichia coli* dan diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat berturut-turut 14,95 mm (kuat), 17,01 mm (kuat), dan 20,25 mm (sangat kuat). Kontrol positif ciprofloxacin menunjukkan zona hambat 29,12 mm, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat. Uji ANOVA menunjukkan hasil signifikan ($p = 0,001$), yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar perlakuan.

Kata kunci: Antibakteri, Daun jambu biji, *Escherichia coli*, Ekstrak etanol, Kulit buah salak

ABSTRCT

Escherichia coli bacterial infection is one of the main causes of digestive tract disorders and shows resistance to several conventional antibiotics. Plants such as guava leaves (*Psidium guajava* L.) and snake fruit skin (*Salacca zalacca*) are alternative plants that are potential traditional treatments because they have secondary metabolites alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins that have antibacterial effectiveness. This study aims to

determine the effectiveness of the combination of ethanol extracts of the two ingredients on the growth of *Escherichia coli*. This study was conducted using the disc diffusion method. Maceration is the extraction method chosen using 96% ethanol solvent in a ratio of 1:5. Snake fruit skin extract and guava leaf extract were combined with concentrations of 20%:30%, 20%:40%, and 20%:50%. Testing was carried out on nutrient agar media inoculated with *Escherichia coli* and incubated for 24 hours at 37°C. The results showed that the combination of extracts had antibacterial activity with inhibition zone diameters of 14.95 mm (strong), 17.01 mm (strong), and 20.25 mm (very strong), respectively. The positive control of ciprofloxacin showed an inhibition zone of 29.12 mm, while the negative control did not show an inhibition zone. The ANOVA test showed significant results ($p = 0.001$), indicating a significant difference between treatments.

Keywords : Antibacterial, Guava leaves, *Escherichia coli*, Ethanol extract, Snake fruit skin

PENDAHULUAN

Infeksi masih menjadi salah satu permasalahan kesehatan yang umum terjadi dinegara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab utama dari kasus infeksi tersebut adalah bakteri. Diantara berbagai jenis patogen, *Escherichia coli* merupakan salah satu yang paling sering terlibat dalam kasus infeksi pada manusia (Mutia, 2017).

Escherichia coli merupakan bakteri penyebab diare yang merupakan masalah serius yang mengancam masyarakat. Diare dicirikan dengan meningkatnya intensitas pengeluaran tinja 2-3 kali sehari, disertai tekstur tinja yang tidak normal seperti lembek hingga cair (Eve *et al.*, 2020). Diare berbahaya terutama bagi anak-anak dan kelompok rentan lainnya. Diare merupakan penyebab kematian ketiga terbanyak pada anak usia dibawah lima tahun, dengan estimasi sekitar 44,832 kematian per tahun. Selain itu, sebanyak 50,851 kematian juga terjadi pada kelompok usia 5 hingga 9 tahun. Secara global, sekitar 1,7 miliar kasus diare menyerang anak-anak setiap tahunnya (WHO, 2024).

Berdasarkan hal tersebut, upaya untuk mengatasi masalah diare sangat diperlukan. Banyak masyarakat Indonesia yang memanfaatkan tumbuhan sebagai solusi alami untuk mengobati diare akibat infeksi bakteri. Tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin memiliki potensi sebagai agen antibakteri. Penggunaan tumbuhan sebagai obat dikenal sebagai pengobatan tradisional. Kulit buah salak dan daun jambu biji merupakan tanaman yang memiliki efektivitas antibakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah salak mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat berturut-turut sebesar 6,8 mm ; 7,8 mm; 9,4 mm dan 18,6 mm pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% (Rahmah, 2016). Sementara itu, ekstrak daun jambu biji menghasilkan zonahambat sebesar 10.7 mm; 13.3 mm; dan 17.0 mm pada konsentrasi 10%; 15%; 20% (Niken *et al.*, 2022).

Berdasarkan penelitian sebelumnya peneliti tertarik untuk mengkombinasi ekstrak kulit buah salak dan ekstrak daun jambu biji dengan tujuan untuk meningkatkan efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Bahan

Simplisia daun jambu biji, simplisia kulit buah salak, etanol 96%, kloroform, amoniak, aquadest, H₂SO₄ 2N, tabung reaksi, pereaksi Mayer, reagen Wagner, reagen dragendorff, asam asetat glasial, asam sulfat, metanol, FeCl 1%, asam klorida, magnesium, HCl 2N, ciprofloxacin murni, bakteri *Esharchia coli*, H₂SO₄ 1%, barium klorida, aquadest, Nutrien Agar murni, dimetil sulfoksida (DMSO).

Ekstraksi

Masing- masing 500 g simplisia kulit salak dan daun jambu biji dilakukan metode maserasi diterapkan dengan pelarut etanol berkonsentrasi 96% menggunakan rasio bahan terhadap pelarut 1:5 selama 72 jam dengan pengadukan 3 kali sehari. Hasil ekstrak maserat lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan menggunakan *waterbath*.

Skrining Fitokimia

Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan terlebih dahulu dalam 1 ml larutan HCl dan 10 ml aquadest. Larutan tersebut kemudian dipanaskan selama 6 menit. Selanjutnya, ke dalam masing-masing tabung reaksi ditambahkan beberapa tetes pereagen mayer, wagner dan dragendorff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada uji mayer, endapan coklat pada uji wagner dan endapan merah pad uji dragendorff (Whardhani dan Supartono, 2015).

Identifikasi Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%. Kemudian larutan tersebut dibagi menjadi empat, masing-masingnya berisi 2 ml. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna yaitu biru tua, biru hitam, hitam, dan hitam kehijauan. Perubahan warna tersebut mengindikasikan adanya senyawa tanin dalam ekstrak yang bereaksi dengan larutan FeCl₃ (Whardhani dan Supartono, 2015).

Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan dalam 10 mL etanol berkonsentrasi 96%. Larutan tersebut dibagi ke dalam empat tabung reaksi masing-masing sebanyak 2 ml. Selanjutnya, sebanyak tiga tabung diberi tambahan 3 tetes HCl dan dilakukan pemanasan selama 15 menit. Hasil positif flavonoid jika menunjukkan warna kuning hingga merah tua (Whardhani dan Supartono, 2015).

Identifikasi Saponin

Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dalam 5 mL aquadest. Kemudian dilakukan pengocokan selama 10 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya busa yang tidak hilang dan tetap stabil selama 5 menit jika ditambahkan beberapa tetes HCl 2N (Whardhani dan Supartono, 2015).

Identifikasi Steroid / Terpenoid

Sebanyak 1 gram sampel ditambahkan masing-masing 1 ml kloroform, asam asetat anhidrat, dan H₂SO₄ secara perlahan. Reaksi positif terhadap senyawa terpenoid ditunjukkan dengan munculnya warna merah hingga merah keunguan, sedangkan warna hijau atau kehijauan menandakan adanya kandungan steroid (Whardhani dan Supartono, 2015).

Sterilisasi Alat Dan Bahan

semua alat dan media tanam disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama kurang lebih 15 menit. Untuk peralatan logam seperti ose dan pinset sterilisasi dilakukan dengan membersihkannya menggunakan alkohol, lalu dipanaskan langsung diatas api hingga bagian ujungnya berwarna merah menyala. (Girsang *et al.*, 2019).

Peremajaan Bakteri

Bakteri yang digunakan berasal dari biakan murni yaitu *Escherichia coli* lalu diambil menggunakan ose untuk dilakukan pembiakan dengan metode gores secara zig-zag pada permukaan media. Kemudian bungkus media dengan aluminium foil dan ditempatkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Asmiilyas *et al.*, 2017).

Pembuatan Suspensi

Suspensi disiapkan dengan mencampurkan beberapa ose kultur bakteri instan ke dalam 10 ml aquadest kemudian diaduk hingga homogen. Kemudian hasilnya dibandingkan berdasarkan standar kekeruhan larutan Mc Farland. Jika suspensi terlalu jernih, ditambahkan kultur bakteri, dan jika terlalu keruh, ditambahkan aquadest untuk disesuaikan (Soleha *et al.*, 2015).

Pengujian Efektivitas Antibakteri

Proses ini dilakukan menggunakan uji dengan metode difusi kertas cakram. Pada cawan media nutrient agar yang sudah memadat dilakukan penanaman bakteri dengan ditetesi suspensi bakteri dan diratakan menggunakan banteng L. Media didiamkan dengan tujuan suspensi bakteri terserap ke dalam media nutrient agar, lalu letakkan kertas cakram yang masing-masing ditetesi 20 µl larutan ekstrak kulit buah salak dan ekstrak daun jambu biji konsentrasi 20%:30%, 20%:40%, 20%:50%, larutan kontrol positif ciprofloxacin 0,1%, larutan kontrol negatif DMSO 10%. Kertas cakram ditempatkan secara teratur pada media yang telah diinokulasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, ukuran zona bening disekitar cakram diukur sebagai indikator aktivitas antibakteri. Setiap perlakuan konsentrasi diuji pada cawan petri terpisah sebanyak tiga kali (Retnaningsih *et al.*, 2019).

HASIL

Hasil Skrining Fitokimia

Pada penelitian ini skrining fitokimia menggunakan zat kimia dengan mengamati perubahan warna pada sampel.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Daun Jambu Biji Dan Kulit Buah Salak

No.	Skrining Fitokimia	Hasil	
		Kulit Buah Salak	Daun Jambu Biji
1	Alkaloid	+	+
2	Tanin	+	+
3	Flavonoid	+	+
4	Saponom	+	+
5	Steroid/tirterprnoid	-	-

Keterangan : (+) : Mengandung senyawa kimia

(-) : Tidak mengandung senyawa kimia

Berdasarkan uji fitokimia, ekstrak kulit buah salak dan daun jambu biji menunjukkan hasil positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin. Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa aktif dalam ekstrak etanol kedua bahan, yang berpotensi berperan sebagai agen antibakteri

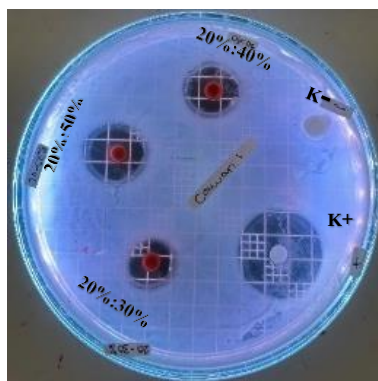
Hasil Uji Efektivitas Antibakteri

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat, tingkat efektivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak daun jambu biji dan kulit buah salak terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2. Hasil Pengujian Efektivitas Antibakteri

Kelompok uji	Diameter Hambat (mm)			Rata-rata	kategori
	P1 (mm)	P2 (mm)	P3 (mm)		
20%:30%	15,05 mm	15,35 mm	14,45 mm	14,95 mm	Kuat
20%:40%	17,45 mm	16,95 mm	16,65 mm	17,01 mm	Kuat
20%:50%	20,55 mm	20,7 mm	19,5 mm	20,25 mm	Sangat Kuat
Ciprofloxacin	28,95 mm	29,9 mm	28,5 mm	29,12 mm	Sangat Kuat
DMSO 10%	0	0	0	0	-

Zona hambat rata-rata yang dihasilkan oleh kombinasi ekstrak pada konsentrasi 20%:30% sebesar 14,95 mm, konsentrasi 20%:40% sebesar 17,01 mm, dan konsentrasi 20%:50% sebesar 20,25 mm. Berdasarkan klasifikasi efektivitas, konsentrasi tertinggi menunjukkan daya hambat yang sangat kuat. Kontrol positif ciprofloxacin menghasilkan zona hambat sebesar 29,12 mm, sementara kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat sama sekali.

Gambar 1. Diameter Zona Hambat Daun jambu Biji Dan Kulit Salak Terhadap *E. coli*

Berdasarkan gambar, rata-rata diameter zona hambat pada kombinasi konsentrasi ekstrak 20%:30% mencapai 14,95 mm berdasarkan tiga kali pengulangan dan diklasifikasikan sebagai daya hambat yang kuat. Pada kombinasi 20%:40% zona hambat meningkat menjadi 17,01 mm dan tetap berada dalam kategori kuat. Sementara itu, kombinasi 20%:50% menunjukkan peningkatan zona hambat hingga 20,25 mm, yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Sebagai pembandingan, kontrol positif dengan ciprofloxacin menghasilkan zona hambat sebesar 29,12 mm yang juga tergolong sangat kuat, sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO 10% tidak menunjukkan aktivitas antibakteri dengan zona hambat 0 mm.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa kombinasi ekstrak daun jambu biji dan kulit buah salak efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, dengan tingkat daya hambat yang tidak sama tergantung pada campuran konsentrasi kombinasi yang digunakan. Hasil kombinasi 20%:30% dengan diameter rata-rata sebesar 14,95 mm, terjadi peningkatan menjadi 17,01 pada konsentrasi 20%:40% dan menghasilkan zona hambat tertinggi 20%:50% dengan zona hambat 20,25 mm. Hasil kecil dari kontrol positif 29,12 mm. Kombinasi ekstrak menghasilkan zona hambat dibawahnya, namun menunjukkan kemampuan sebagai antibakteri alami.

peningkatan diameter zona hambat kemungkinan besar berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder yang terdapat padakedua ekstrak, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Flavonoid diketahui mampu mengganggu fungsi vital sel bakteri, antara lain dengan menghambat proses sintesis asam nukleat, merusak integritas membran sel, serta mengganggu metabolisme energi dan aktivitas enzim yang diperlukan untuk kelangsungan hidup bakteri (Purwati *et al.*, 2017). Sementara itu, tanin bekerja dengan cara merusak struktur dinding sel bakteri serta menghambat enzim-enzim penting seperti reverse transkriptase dan DNA topoisomerase yang berperan dalam proses replikasi sel mikroorganisme (Cushnie, 2017). Saponin menyebabkan lisis dengan cara mengganggu integritas membran sel melalui ikatan dengan polisakarida dinding sel. Alkaloid sendiri berperan dalam menghambat sintesis peptidoglikan serta mengganggu replikasi DNA dengan cara menginterkalasi dan menghambat aktivitas enzim topoisomerase (Rijayanti *et al.*, 2015). Studi oleh Rahma (2016) menunjukkan bahwa

ekstrak kulit buah salak dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% zona hambat yang dihasilkan 6,8 mm; 7,8 mm; 9,4 mm; 18,6 mm. Data ini memperkuat potensi kulit salak sebagai agen antibakteri. Sementara itu niken *et al.*, (2022) melaporkan bahwa ekstrak daun jambu biji mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 10.7 mm; 13.3 mm; dan 17.0 mm pada konsentrasi 10%; 15%; 20%. Temuan ini mendukung peran daun jambu biji sebagai sumber antibakteri yang efektif.

Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi 20%:50% merupakan hasil yang paling efektif karena memiliki kandungan metabolit yang lebih banyak dari pada konsentrasi yang lain. Meskipun zona hambat yang telah dihasilkan belum sekuat antibiotik sintesis, kombinasi ini berpotensi sebagai antibiotik alami.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak kulit buah salak (*Salacca zalacca*) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L) menunjukkan efektivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa kedua ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin, namun tidak terdeteksi adanya kandungan steroid maupun terpenoid
2. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L) dan kulit buah salak (*Salacca zalacca*) dengan perbandingan konsentrasi 20%:50% memberikan daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, yaitu dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 20,25 mm, yang termasuk dalam kategori sangat kuat.
3. Efektivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L) dan kulit buah salak (*Salacca zalacca*) lebih rendah dibandingkan dengan ciprofloxacin, namun tetap menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat dan signifikan. Kombinasi ini juga menunjukkan efek sinergis yang lebih baik daripada penggunaan ekstrak tunggal berdasarkan perbandingan dengan literatur sebelumnya.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian kombinasi ekstrak buah salak (*Salacca zalacca*) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L) diketahui memiliki efektivitas zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dalam kategori sangat kuat sehingga peneliti menyarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan untuk pembuatan formula sediaan oral dengan zat aktif ekstrak kulit buah salak dan ekstrak daun jambu biji untuk atasi masalah infeksi *Escherichia coli*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada seluruh pihak yang telah membimbing, mendukung dan membantu dalam pelaksanaan penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Asmiilyas., Handayani, F., Afriani, T.,& Suardi, M. (2017). Formulasi Gel Minyak Ylang-Ylang Dan Uji Daya Antibakteri Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Jurnal Ipteks Terapan*, 11(3), 246. <https://doi.org/10.22216/jit.2017.v11i3.872>
2. Cushnie, T. P. T. (2017). The antibacterial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
3. Eve, A., Aliero, A. A., Nalubiri, D., Adeyemp, R. O., Akinola, S. A., Pius, T., Nabaasa, S., Nabukeera, S., Alkali, B., & Ntulume, I. 2020. In Vitro Antibacterial Activity of Crude Extracts of Artocarpus heterophyllus Seeds against Selected Diarrhoea-Causing Superbug Bacteria. *Hindawi The Scientific World Journal*. 1-11.
4. Girsang, G., Rini, D., & Rahel, R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. *Cendana Medical Journal*, 450–455. <https://ejurnal.undana.ac.id/CMJ/article/view/2651/1929>
5. Mutia, G.S. 2017. Gambaran hasil pemeriksaan feses pasien diare di bagian rawat inap anak RSUP Dr. M. Djamil Padang. Univ Andalas [Internet].151:10–7.
6. Niken, N., Yusuf, R. N., & Annita, A. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(2), 726. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i2.5919>
7. Purwati, R., Widiyarti, G., & Wahyuningsih, E. (2017). Aktivitas antibakteri flavonoid terhadap bakteri patogen. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 5(1), 45–52.

8. Rahmah, U. (2017). Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Skripsi, April*, 1–9.
9. Retnaningsih, A., Primadhamanti, A., & Febrianti, A. (2019). Inhibitory Test Of Purple Leaf Ethanol Extract (*Graptophyllum pictum* (L.) GRIFF) On *Staphylococcus epidermidis* Bacteria And *Propionibacterium acnes* Bacteria Causes Of Acne With Discussion Methods Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Uungu (*Graptophyllum pic.* *Jurnal Analis Farmasi*, 4(1), 1–9.
10. Rijayamti, F., Lestari, S. D., & Sutrisna, E. (2015). Mekanisme kerja senyawa antibakteri alkaloid terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 10(2), 65–72.
11. Soleha, T.U., Carolina, N., & Stevan, K. 2015. The Inhibition Test of Red Betel Leaves (*Piper crocatum*) Towards *Staphylococcus aureus* and *Salmonella*
12. Wardhani, R. A. P., & Supartono. (2015). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Bakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 4(1), 46–51. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
13. World Health Organization. 2024. Diarrhoeal Disease. World Health Organization. Accessed November 5. <https://www.who.int/newsroom/factsheets/detail/diarrhoeal-disease>.