

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI
(*Psidium guajava L.*) DAN DAUN JAMBU METE
(*Anacardium occidentale L.*) TERHADAP
Escherichia coli ATCC 25922**



Diajukan oleh:

**Fanny Atrisca Devi
19133870A**

Kepada
**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
Juni 2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI
(*Psidium guajava L.*) DAN DAUN JAMBU METE
(*Anacardium occidentale L.*) TERHADAP
Escherichia coli ATCC 25922**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Diajukan oleh:

**Fanny Atrisca Devi
19133870A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

HALAMAN PENGESAHAN

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN
JAMBU BIJI (*Psidium guajava L.*) DAN DAUN JAMBU METE (*Anacardium
occidentale L.*) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**

Oleh:

Fanny Atrisca Devi

19133870A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal : 10 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

Iswandi, S.Si, M.Farm., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Drs. Edy Prasetya, M.Si

Penguji :

1. Jason Merari P, Dr.,MM.,M.Si.,Apt

1.

2. Dra. Nony Puspawati, M.Si

2.

3. Ghani Nurfiiana, M.Farm.,Apt

3.

4. Iswandi S.Si, M.Farm., Apt.

4.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Saya siap menerima sanksi baik akademis maupun hukum apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain.

Surakarta, Juni 2017



Fanny Atrisca Devi

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“Bila kau tak tahan lelahnya belajar, maka kau harus tahan menanggung perihnya kebodohan”

(Imam Syafie)

Tugas kita bukanlah untuk berhasil. Tugas kita adalah untuk mencoba, karena di dalam mencoba itulah kita menemukan dan belajar membangun kesempatan untuk berhasil

(Mario Teguh)

“Obat dari segala obat, manjur diatas manjur bagi penyakit hati apapun adalah “Rasa Syukur”. Cukup kecil saja dosisnya, sudah efektif mengobati hingga ke dalam-dalamnya”

(Tere Liye)

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

*Bapak, ibu, adik ku, keluargaku dan
suamiku*

*Makasih untuk semua doa dan dukungan
yang diberikan,*

*teman dan sahabat yang selalu
mendukungku,*

agama, almamater, bangsa dan negriku.

KATA PENGANTAR

Assalammu'alaikum Wr.Wb

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan hidayahNya, Penulis dapat menyelesaikan Skripsi guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

Alhamdulillahirobbil'alamin, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L.*) DAN DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L.*) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922”**. Diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang teknologi farmasi.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara moril maupun materil. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk di setiap langkah hidupku
2. Dr. Djoni Taringa, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
3. Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Iswandi, S.Si,M.Farm.,Apt selaku Pembimbing Utama dan Drs. Edy Prsetya,M.Si selaku Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.

5. Dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.
6. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
7. Bapak, Ibu, Adikku dan Suamiku serta seluruh keluarga besarku yang telah memberikan cinta, kasih sayang, doa, dukungan dan pengorbanan, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
8. Sahabat dan teman-teman atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Wallaikumsalam Wr.Wb

Surakarta, Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN MOTO PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Daun Jambu Biji	5
1. Sistematika Daun Jambu Biji	5
2. Nama Daerah	5
3. Morfologi Daun Jambu Biji	6
4. Kandungan Kimia	6
5. Kegunaan Tanaman	6
B. Daun Jambu Mete	7
1. Sistematika Daun Jambu Mete	7
2. Nama Daerah	7
3. Morfologi Daun Jambu Mete	8
4. Kandungan Kimia	8
5. Kegunaan Tanaman	9
C. Simplisia.....	10
1. Pengertian Simplisia.....	10
2. Pencucian dan Pengeringan.....	10

D. Ekstraksi.....	11
1. Pengertian Ekstraksi.....	11
2. Metode Maserasi.....	11
3. Pelarut.....	12
E. Diare.....	12
F. <i>Escherichia coli</i>	13
1. Sistematika <i>Escherichia coli</i>	13
2. Morfologi dan Identifikasi.....	13
3. Fisiologi <i>Escherichia coli</i>	14
4. Toksin <i>Escherichia coli</i>	14
4.1 Enterotoksigenik <i>Escherichia coli</i> (ETEC).....	14
4.2 Enteroivasif <i>Escherichia coli</i> (EIEC).....	15
4.3 Enteropatogenik <i>Escherichia coli</i> (EPEC).....	15
4.4 Enterohemoragik <i>Escherichia coli</i> (EHEC).....	15
5. Patogenesis.....	15
6. Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	16
7. Pengobatan Diare.....	16
G. Antibakteri.....	16
1. Definisi Antibakteri.....	16
2. Mekanisme Kerja Antibakteri.....	17
2.1 Penghambatan Metabolisme Sel.....	17
2.2 Penghambatan Sintesis Dinding Sel.....	17
2.3 Penghambatan Keutuhan Membran Sel.....	17
2.4 Penghambatan Sintesis Protein.....	18
2.5 Penghambatan Sintesis Asam Nukleat.....	18
H. Uji Aktivitas Antibakteri.....	18
1. Metode Difusi.....	18
2. Metode Dilusi.....	19
I. Media.....	20
1. Pengertian Media.....	20
2. Macam - Macam Bentuk Media.....	20
3. Jenis – Jenis Media Pertumbuhan Bakteri.....	20
3.1 Media Sintetik.....	20
3.2 Media Kompleks.....	21
3.3 Media Biakan Khusus.....	21
3.4 Media Selektif dan Deferenisial.....	21
3.5 Media Anaerob.....	21
3.6 Media Pengayaan.....	21
J. Sterilisasi.....	22

K. Kotrimoksazol	22
L. Efek Kombinasi Obat	23
1. Antagonis	23
2. Sinergisme	24
M. Landasan Teori	24
N. Hipotesis	26
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Populasi Dan Sampel	27
1. Populasi	27
2. Sampel	27
B. Variabel Penelitian	27
1. Identifikasi Variabel Utama	27
2. Klasifikasi Variabel Utama	27
2.1 Variabel Bebas	27
2.2 Variabel Kendali	28
2.3 Variabel Tergantung	28
3. Definisi Operasional Variabel Utama	28
C. Alat Dan Bahan	30
1. Alat	30
2. Bahan	30
D. Jalannya Penelitian	30
1. Pengumpulan simplisia.....	30
2. Determinasi Tanaman	31
3. Pembuatan Serbuk	31
4. Penetapan Susut Pengeringan Sebuk Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete	31
5. Pembuatan Ekstrak	31
5.1 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji	31
5.2 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Mete	32
6. Tes Bebas Etanol Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete	32
7. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete	32
7.1 Uji Saponin.....	32
7.2 Uji Flavonoid	32
7.3 Uji Tanin	33
7.4 Uji Alkaloid	33
8. Sterilisasi	33
9. Identifikasi Bakteri Uji <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	33
9.1 Identifikasi Bakteri Secara Makrocroskopis	33

9.2	Pembuatan Suspensi Bakteri Uji <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	33
9.3	Identifikasi Bakteri Secara Mikroskopis.....	34
10.	Uji Biokimia	34
10.1	Sim (<i>Sulfide Indol Motilitas</i>).....	34
10.2	Kia (<i>Kliger Iron Agar</i>)	34
10.3	Lia (<i>Lisin Iron Agar</i>).....	35
10.4	Simmons Citrat	35
11.	Pembuatan Larutan Kombinasi Ekstrak	35
12.	Pengujian Aktifitas Antibakteri	35
E.	Analisa Hasil	37
F.	Skema Jalannya Penelitian	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
A.	Penyiapan Bahan Tanaman	41
1.	Identifikasi Tanaman Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava L.</i>) dan Daun Jambu Mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>).....	41
2.	Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu biji dan serbuk daun jambu mete.....	41
3.	Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Jambu Biji Dan Daun Jambu Mete	42
4.	Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete	43
5.	Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete.....	44
6.	Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete	44
B.	Pengujian Aktivitas Antibakteri terhadap <i>Escherichia coli</i>	46
1.	Hasil Identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	46
1.1.	Hasil Identifikasi Koloni	46
1.2.	Hasil Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	46
1.3.	Hasil Identifikasi Mikroskopis <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 Dengan Pewarnaan Gram	47
1.4.	Hasil Identifikasi Secara Biokimia.....	48
2.	Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji Dan Daun Jambu Mete Terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 Secara Dilusi	50
3.	Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji Dan Daun Jambu Mete Terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 Secara Difusi	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
A.	Kesimpulan.....	57
B.	Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava L.</i>).....	5
Gambar 2. Daun Jambu Mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>).....	7
Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>) dan daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>)	38
Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	39
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	40
Gambar 6. Foto Identifikasi Koloni <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	46
Gambar 7. Foto Identifikasi Pewarnaan Gram <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji	41
Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mete dan jambu mete.....	42
Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan serbuk	42
Tabel 4. Hasil perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu biji	43
Tabel 5. Hasil perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu mete	43
Tabel 6. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun jambu biji dan jambu mete	44
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji	45
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu mete	45
Tabel 9. Identifikasi uji biokimia pada <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	48
Tabel 10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>) dan daun jambu mete (<i>Anacardium Occidentale L.</i>) terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara dilusi.....	51
Tabel 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>) dan daun jambu mete(<i>Anacardium Occidentale L.</i>) terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara difusi	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Foto determinasi tanaman daun jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>)	66
Lampiran 2.	Foto determinasi tanaman daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>)	67
Lampiran 3.	Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering serbuk daun jambu biji & jambu mete	68
Lampiran 4.	Perhitungan penetapan susut pengeringan sebak daun jambu biji & jambu mete	69
Lampiran 5.	Perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu biji & jambu mete	70
Lampiran 6.	Perhitungan pembuatan larutan ekstrak dilusi	71
Lampiran 7.	Pembuatan larutan kombinasi ekstrak sediaan uji	72
Lampiran 8.	Foto tanaman jambu biji, serbuk daun jambu biji dan ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>)	73
Lampiran 9.	Foto tanaman jambu mete, serbuk daun jambu mete dan ekstrak daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>)	74
Lampiran 10.	Gambar alat penelitian	75
Lampiran 11.	Formulasi dan pembuatan media	76
Lampiran 12.	Foto hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>)	80
Lampiran 13.	Foto hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>)	81
Lampiran 14.	Foto hasil identifikasi koloni, uji biokimia, dan identifikasi mikroskopis <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	82
Lampiran 15.	Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara dilusi	83
Lampiran 16.	Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara difusi	85
Lampiran 17.	Hasil uji statistik	86

INTISARI

DEVI AF., 2016, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L.*) DAN DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L.*) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) secara empiris digunakan sebagai antidiare. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas dari kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Pembuatan ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode dilusi dan difusi. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk metode dilusi adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Perbandingan kombinasi yang digunakan untuk metode difusi adalah 1:1,1:3, dan 3:1. Data yang diperoleh diolah dengan analisis statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan metode satu arah, sehingga di dapat hasil signifikan dari data tersebut.

Hasil penelitian pada metode dilusi didapat KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah konsentrasi 25%. Sedangkan metode difusi dengan metode *boor prop* yang paling efektif adalah perbandingan 3:1 dengan diameter rata-rata 12,67 mm.

Kata kunci : Antibakteri, *Escherichia coli*, Kombinasi, Daun jambu biji (*Psidium guajava L.*), Daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)

ABSTRACT

DEVI AF., 2016, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST EXTRACT COMBINATION OF GUAVA LEAVES (*Psidium guajava L.*) AND CASHEW LEAVES (*Anacardium occidentale L.*) TO *Escherichia coli* ATCC 25922, ESSAY, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY,SURAKARTA.

Guava leaves (*Psidium guajava L.*) and chasew leaves (*Anacardium occidentale L.*) use as anthidiarrhea empirically. The purpose of this study is to know the activity of the extract combination from guava leaves and chasew leaves that have antibacterial activity to *Escherichia coli* ATCC 25922.

The method to make ethanolic extract from guava and chasew leaves is macerate and using ethanol 96% as solvent. In this research using dilution and diffusion. The extract's concentrations that use in dilution method are 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Ratio of combinations that use in diffusion method are is 1:1,1:3 and 3:1. Data obtained from the studies will analyzing with *One Way Anova* to know significan different from the data.

The result of dilution method is Minimum Bactericid Concentration (MBC) 25%. Diffusion method that using boor prop method show more effective in ratio 3 : 1 with diameter 12,67 mm.

Keywords : Antibacterial, *Escherichia coli*, combinations, Guava leaves (*Psidium guajava L.*), Cashew leaves (*Anacardium occidentale L.*)

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit diare merupakan salah satu penyakit utama yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat Indonesia. Indonesia merupakan salah satu negara berkembang dengan angka kejadian penyakit diare yang tinggi karena tingginya morbiditas dan mortalitas (Magdarina, 2010). Angka kejadian diperkirakan antara 20-50 kejadian diare per 100 penduduk setiap tahunnya (Paramitha *et al.* 2010). Diare adalah gangguan pencernaan yang ditandai dengan penurunan konsentrasi dari tinja (menjadi lunak atau cair) dalam waktu 24 jam. Gambaran secara klinis diare adalah dengan frekuensi tiga kali atau lebih dan menyebabkan badan lesu dan lemas, tidak nafsu makan, dan sering kali juga didahului dengan muntah (Kairupan *et al.* 2014).

Salah satu penyebab penyakit diare adalah bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat dalam usus. *Escherichia coli* ditemukan dalam usus besar manusia dan tidak menimbulkan penyakit pada inang pada keadaan normal. *Escherichia coli* pada keadaan tertentu apabila terjadi perubahan terhadap inang seperti sistem imun yang menurun bakteri ini mampu menimbulkan penyakit pada manusia (Sarson *et al.* 2014). *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare yaitu dengan melakukan invasi pada mukosa, memproduksi enterotoksin. Mekanisme tersebut menghasilkan peningkatan sekresi cairan dan menurunkan absorpsi cairan sehingga akan terjadi dehidrasi dan hilangnya nutrisi atau elektrolit (Muttaqin dan Sari, 2011).

Salah satu alternatif pengobatan untuk diare adalah dengan menggunakan tanaman obat (Defrin *et al.* 2010). Salah satu contoh tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan untuk diare yaitu daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). Senyawa aktif pada daun jambu biji yang memiliki aktivitas antibakteri adalah flavonoid, tanin dan saponin (Naim, 2004). Efek farmakologis dari daun jambu biji yaitu antiinflamasi,

antidiare, analgesik, antibakteri, antidiabetes, antihipertensi dan penambah trombosit.

Tanaman lain yang dapat digunakan sebagai pengobatan untuk diare yaitu daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). Di Indonesia kulit batang pohon jambu mete juga digunakan sebagai obat kumur dan obat sariawan (Prihatman, 2000). Daun jambu mete mempunyai khasiat sebagai antimikroba, antidiabetes, anastesi, disentri, nyeri usus besar, anti-inflamasi, bronkitis, batuk dan sipilis (Adebote, *et al.*, 2009) alergi, sakit perut, diare, infeksi kulit (Chabi Sika *et al.*, 2013). Daun jambu mete mengandung dua kandungan utama, yaitu tanin dan fenol (Sulistyawati, 2009).

Berdasarkan penelitian terdahulu menurut Adnyana dkk (2004), telah di uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji daging buah putih dan jambu biji daging buah merah terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, dan *Salmonella typhi*. Ekstrak etanol daun jambu biji daging buah putih memiliki kemampuan hambat bakteri yang cukup besar. Hasil penelitian tersebut didapatkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *Escherichia coli* (60 mg/ml vs >100 mg/ml), *Shigella dysenteriae* (30 mg/ml vs 70 mg/ml), *Shigella flexneri* (40 mg/ml vs 60 mg/ml), dan *Salmonella typhi* (40 mg/ml vs 60 mg/ml).

Menurut Sulistyawati dan Sri (2009) membuktikan adanya aktivitas fenol pada daun jambu mete yang berfungsi sebagai antifungi dan tanin dalam daun jambu mete juga bermanfaat sebagai antiseptik dan antifungi. Menurut Dahake (2009) daun jambu mete memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri dan jamur, diantaranya adalah *S.aureus*, *B.subtilis*, *P.aeruginosa*, *E.coli*, *C.albicans* dan *A.niger*.

Menurut Rika Aswarita (2013) salah satu contoh bahan yang dikombinasikan hasilnya lebih baik yaitu pada tanaman daun lidah buaya (*Aloe vera*) dan daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara ekstrak daun lidah buaya dan daun jambu biji terhadap *Escherichia coli*. Semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula diameter daya hambat yang terbentuk pada ekstrak tunggal maupun kombinasi

ekstrak. Menurut Jawezt *et al* (2002) bila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar daripada jumlah kedua efek.

Penggunaan kombinasi obat herbal ialah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi, penggunaan dua obat yang berbeda secara bersama-sama dapat memberikan interaksi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) sehingga efeknya lemah dan interaksi yang satunya dapat memperlihatkan kerja sama yang baik antara kedua obat (sinergisme) sehingga efeknya saling menguatkan. Efek antagonis dapat terjadi apabila obat yang pertama melemahkan efek obat yang kedua sedangkan sinergisme terjadi apabila kedua obat dikombinasikan bersama dan efeknya lebih baik dari pada dosis tunggal dari masing-masing obat (Tjay dan Rahardja 2007).

Latar belakang tersebut menjadi dasar perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan kombinasi antara daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak tanaman tersebut yang berhasiat sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Pelarut yang digunakan dalam metode maserasi adalah etanol 96%. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena menghasilkan ekstrak yang kental sehingga mempermudah untuk proses identifikasi. Metode maserasi dipilih karena tidak memakai pemanasan serta merupakan ekstraksi yang sederhana (Depkes 1986).

B. Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 ?
2. Manakah ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) atau kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri serta pada kombinasi berapa yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. Mengetahui manakah ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) atau kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri serta pada kombinasi berapa yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat sebagai obat tradisional dan dapat menambah ilmu pengetahuan bagi masyarakat untuk mengatasi masalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Jambu Biji

1. Sistematika Daun Jambu Biji

Sistematika tanaman jambu biji menurut (Herbie T, 2015) sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: Psidium
Jenis	: <i>Psidium guajava L.</i>



(Sumber : (Hapsoh dan Hasanah (2011)

Gambar 1. Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*)

2. Nama Daerah

Setiap daerah di Indonesia memiliki kekhasan dalam penyebutan nama jambu biji, diantaranya yaitu Sumatera: glima breueh (Aceh), galiman (Batak Karo), masiambu (Nias), biawas, jambu krutuk, jambu krikil, jambu biji, jambu klutuk (Melayu). Jawa: jambu klutuk (Sunda), hambu bhender (Madura). Sotong

(Bali), guawa (Flores), goihawas (Sika). Sulawesi: gayawas (Manado), dambu (Gorontalo), jambu paratugala (Makasar). Maluku: luhu hatu (Ambon), gayawa (Ternate, Halmahera) (Hapsoh dan Hasanah, 2011).

3. Morfologi Daun Jambu Biji

Jambu biji berasal dari Amerika tropik, tumbuh pada tanah yang gembur maupun liat, pada tempat terbuka, dan mengandung air yang cukup banyak. Pohon jambu biji banyak ditanam sebagai pohon buah-buahan.

Jambu biji adalah tumbuhan dengan batang yang berkayu, mengelupas, bercabang, dan berwarna cokelat, kulit batang licin. Daun berwarna hijau dan tunggal, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi rata berhadapan, petulangan daun menyirip berwarna hijau kekuningan. Bunganya termasuk bunga tunggal, terletak di ketiak daun, bertangkai, kelopak bunga berbentuk corong. Pada mahkota bunga berbentuk bulat telur, benang sari pipih berwarna putih atau putih kekuningan. Berbentuk bulat seperti telur dan bijinya kecil-kecil, keras, dan dalamnya berwarna putih pada jambu biji. Pada jambu biji putih memiliki daun berbentuk panjang, langsing, bulat oval dengan ujung tumpul dan lancip. Warna beragam hijau tua, hijau muda, merah tua, dan hijau berbelang kuning. Permukaan daun ada yang halus mengkilap dan halus biasa (Widiaty, 2008).

4. Kandungan Kimia

Daun jambu biji mengandung tanin yang bersifat astringen sehingga bermanfaat sebagai antidiare dan mengurangi kontraksi usus. Daun jambu biji mengandung metabolit sekunder terdiri dari tanin, polifenolat, flavonoid, monoterpenoid, siskuiteren, alkaloid, kuinolon dan saponin (Kurniawati 2006). Menurut Ismail *et al.* (2012) Daun jambu biji kaya akan tannin, fenol, flavonoid, minyak atsiri, lektin, vitamin, asam lemak Buah jambu biji mengandung banyak vitamin C sehingga membantu penyembuhan penyakit. Kandungan pectin dapat menurunkan kolesterol (H. Abdul Latief, 2012).

5. Kegunaan Tanaman

Daun jambu biji dimanfaatkan sebagai salah satu sumber bahan obat. Buah jambu biji (*Psidium guajava L.*) bermanfaat untuk pengobatan (terapi) bermacam-macam penyakit, seperti memperlancar pencernaan, menurunkan kolesterol,

antioksidan, menghilangkan rasa lelah dan lesu, demam berdarah, dan sariawan. Selain buahnya, bagian tanaman lainnya, seperti daun, kulit akar maupun akarnya, dan buahnya yang masih muda juga berkhasiat obat untuk menyembuhkan penyakit disentri, keputihan, sariawan, kurap, diare, pingsan, radang lambung, gusi bengkak, dan peradangan mulut, serta kulit terbakar sinar matahari (Cahyono 2010).

B. Daun Jambu Mete

1. Sistematika Daun Jambu Mete

Sistematika tanaman jambu mete menurut (Herbie T, 2012) sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Suku	: Anacardiaceae
Marga	: Anacardium
Jenis	: Anacardium L.
Species	: <i>Anacardium occidentale</i> L.



Sumber : (Obtrando 2010.)

Gambar 2. Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.)

2. Nama Daerah

Nama umum tumbuhan adalah jambu monyet. Tumbuhan ini dikenal masyarakat Indonesia dengan nama daerah yaitu: jambu erang, jambu monyet, gaju (Sumatera), jambu mede, jambu mete (Jawa), jambu jipang, jambu dwipa

(Nusa Tenggara), jambu parang, jambu sepal, jambu gayus, jambu seran, janggus, gayus (Kalimantan), jambu dare, jambu sereng (Sulawesi), kanoke, masapana, buwa yakis, buwa jaki (Maluku), Cashew (Inggris), Jambu mede (Sunda), Gaju (Lampung) (Dalimartha, 2000).

3. Morfologi Daun Jambu Mete

Jambu monyet termasuk jenis dikotil atau tumbuhan yang berdaun lembaga dua. Jambu monyet termasuk tumbuhan yang berkeping biji dua atau juga disebut tumbuhan berbiji belah. Jambu monyet mempunyai batang pohon yang tidak rata dan berwarna cokelat tua. Daunnya bertangkai pendek dan berbentuk lonjong (bulat telur) dengan tepian berlekuk- lekuk, dan guratan rangka daunnya terlihat jelas. Bunganya berwarna putih. Bagian buahnya yang membesar, berdaging lunak, berair, dan berwarna kuning kemerah- merahan adalah buah semu. Pohon tinggi 8-12 m, memiliki cabang dan ranting yang banyak. Batang melengkung, berkayu, bergetah, percabangan mulai dari bagian pangkalnya (Dalimartha, 2008). Daun tunggal, bertangkai, panjang 4-22,5 cm, lebar 2,5-15 cm. Helai daun berbentuk bulat telur sungsang, tepi rata, pangkal runcing, ujung membulat dengan lekukan kecil di bagian tengah, pertulangan menyirip, berwarna hijau (Dalimartha, 2000).

Bunga majemuk, bentuk malai, terletak di ketiak daun dan di ujung cabang, mempunyai daun pelindung berbentuk bulat telur dengan panjang 4-55 mm dan berwarna hijau muda. Mahkota bunga berbentuk runcing, saat masih muda berwarna putih setelah tua berwarna merah. Bunga berumah satu memiliki bunga betina dan bunga jantan (Dalimartha, 2000). Buahnya buah batu, keras, melengkung. Tangkai buahnya lama kelamaan akan menggelembung menjadi buah semu yang lunak, seperti buah peer, berwarna kuning, kadang-kadang bernoda merah, rasanya manis agak sepat, banyak mengandung air, dan berserat. Biji bulat panjang, melengkung, pipih, warnanya cokelat tua (Dalimartha, 2000).

4. Kandungan Kimia

Jambu monyet mengandung senyawa kimia seperti tanin, asam anarkardat dan kardol, yang bermanfaat sebagai antibakteri dan antiseptik (Sugeng haryanto, 2012). Skrining fitokimia menunjukkan bahwa jambu mete mengandung fenol,

flavonoid, steroid, triterpen, fenolik dan minyak atsiri (Fazali F *et. al.*, 2011 ; Arul *et. al.*, 2011), asam anakardat dan tatrol (Agedah C *et. al.*, 2010), saponin, tanin, alkaloid (Omojasola PF *et. al.*, 2004).

Kulit kayu mengandung tanin yang cukup banyak zat samak, asam galat, dan ginkgol katekin. Buah mengandung protein, lemak, vitamin (A,B dan C), kalsium, fosfor, besi dan belerang. Asam anakardat berkhasiat bakterisidal, fungisidal, mematikan cacing dan protozoa (Dalimartha, 2008). Buah jambu mete mengandung air, karbohidrat, protein, lemak, serat, abu, vitamin C, vitamin B1, vitamin B2, kalsium, niasin dan tanin (Saragih, 2003).

5. Kegunaan Tanaman

Daun jambu mete mempunyai khasiat antibakteri (Dahake *et. al.*, 2009), antijamur (Ayepola *et. al.*, 2009), antiradang dan penurun gula darah (Dalimartha 2000). Jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) bagian yang dapat digunakan dari tanaman ini sangat banyak, mulai dari daun, akar, kulit pohon, dan buah. Daun jambu mete mempunyai khasiat sebagai antimikroba, antidiabetes, anastesi, disentri, nyeri usus besar, anti-inflamasi, bronkitis, batuk dan sipilis (Adebote, *et al.*, 2009) alergi, sakit perut, diare, infeksi kulit (Chabi Sika *et al.*, 2013). Daun jambu mete ini mempunyai kandungan senyawa asam elagat senyawa fenol, flavonol, asam anakardol dan tanin-galat (DepKes RI, 1989).

Daun berbau aromatik, rasanya kelat, berkhasiat antiradang dan penurun kadar glukosa darah (hipoglikemik) (Dalimartha, 2008). Selain itu juga berfungsi sebagai antimikroba, antidiabetes, anastesi, disentri, nyeri usus besar, anti-inflamasi, bronkitis, batuk dan sipilis (Adebote *et al.*, 2009).

Akar daun jambu mete digunakan sebagai pencuci perut. Daun jambu mete yang masih muda dimanfaatkan sebagai lalap di daerah Jawa bagian timur sebagai salah satu pengganti sayuran dalam konsumsi mereka sehari-hari (Dalimartha, 2000).

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan dan Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan anatara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanamana atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004).

2. Pencucian dan pengeringan

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prastowo 2013).

Proses pengeringan simplisia terutama bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Proses pengeringan ini juga menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (Gunawan dan Mulyani 2004). Cara pengeringan ada dua cara yaitu pengeringan udara terbuka dan pengeringan dengan udara panas buatan. Pengeringan dengan udara terbuka dapat dilakukan dibawah sinar matahari langsung (Brotosisworo 1978).

Pengeringan yang dilakukan dengan sinar matahari langsung akan menyebabkan terjadinya penguraian bahan berkhasiat. Pelaksanaan pengaturan pengeringan ditentukan dari bentuk atau bagian bahan yang akan dikeringkan (Broto Sisworo 1978).

D. Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan dan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut berada di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Akhyar 2010).

2. Metode maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Prinsip dari metode ini adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus) (Depkes 2000).

Maserasi dapat dilakukan dengan cara: 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk (Sediaan galenik 1986). Setelah 5 hari, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Maserasi memiliki keuntungan yaitu metode ini sangat sederhana namun mampu memisahkan senyawa kimia yang diinginkan hanya menggunakan pelarut tertentu (Harbone 1987), sedangkan kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama, dan penyariannya kurang sempurna (Depkes, 1986).

3. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dari bahan obat tertentu berdasarkan daya larut yang aktif, zat yang tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan tergantung preparat yang digunakan (Ansel 1989). Selain itu, pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor, diantaranya adalah murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral atau inert, tidak mudah menguap tidak mudah terbakar, tidak mudah menguap, serta tidak mempengaruhi zat berkhasiat (List 2000).

Pelarut yang digunakan adalah etanol. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam, tanin dan saponin (Depkes 1986). Etanol dapat menghambat kerja enzim, dan dapat memperbaiki stabilitas bahan aktif yang optimal serta tidak menyebabkan pembengkakan sel sehingga hanya sedikit bahan pengotor yang turut serta dalam cairan pengestraksi (Voigt 1994). Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsinya baik (Depkes, 1986). Dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% yang merupakan bahan pelarut dengan campuran etanol dan air yang menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal.

E. Diare

Diare adalah frekuensi Buang Air Besar (BAB) yang abnormal akibat kondisi ketidakseimbangan absorpsi air, sekresi air dan elektrolit dengan feses yang tidak berbentuk atau cair yang frekuensinya lebih dari 3 kali dalam 24 jam. Frekuensi dan konsistensi BAB bervariasi antar individu. Mekanisme kerja terjadinya diare infeksi meliputi penempelan bakteri pada sel epitel dengan atau tanpa kerusakan mukosa, invasi mukosa, dan produksi enterotoksin atau sitotoksin (Cielsa dan Guerrant 2003).

Beberapa hal yang dapat menyebabkan diare termasuk bakteri *Salmonella typhi*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Escherichia coli*, virus *Rotavirus*, *Norovirus*, parasit *Cryptosporidium*, *Giardia*, racun bakteri dari *Staphylococcus* dan beberapa

senyawa seperti laksatif, antasida yang mengandung magnesium, antineoplastik, prostaglandin, dan obat antiinflamasi non steroid (Sukandar *et al.* 2013).

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit diare. Bakteri ini bekerja dengan mekanisme melalui enterotoksin dan invasi mukosa. Kebanyakan pasien yang terinfeksi bakteri ini mengalami gejala seperti diare (feses berlendir), mual dan kejang abdomen. Lamanya penyakit ini rata-rata 5 hari (Procop dan Cockrerill 2003).

Infeksi oleh *Escherichia coli* dapat diobati dengan melihat acuan pada *guideline The Treatment of Diarrhoea: a Manual for Physicians and Other Senior Health Workers* yaitu menggunakan kotrimoksazol sebagai lini pertama (WHO 2005). Kotrimoksazol merupakan antibiotik yang mengandung kombinasi sulfametoksazol dan trimethoprim yang mempunyai spektrum luas sebagai antibakteri (Ganiswara 2007).

F. *Escherichia coli*

1. Sistematika *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut (Jawetz *et al.* 2012) sebagai berikut :

Divisi : Protophyta

Sub devisi : Schizomycetea

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : *Escherichia*

Jenis : *Escherichia coli*

2. Morfologi dan identifikasi

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobakteriaceae yang berupa bakteri gram negatif dan merupakan flora normal yang banyak di temukan di saluran usus manusia. Bakteri ini berbentuk batang pendek (kokobasil), berderet seperti rantai, mempunyai flagel, berukuran $0,4 \mu\text{m} - 0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$ dan mempunyai simpai, pada biakan *Endo Agar* akan membentuk koloni berwarna merah dengan kilat logam yang permanen. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik

di hampir semua media pembenihan, dapat meragi laktosa atau memecahkan karbohidrat dengan membentuk asam dan gas (Maksum 2002). *Escherichia coli* dapat hidup soliter maupun berkoloni, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob (Carter & Wise 2004).

Kebanyakan strain di dalam usus, bersifat non patogen yang tidak membahayakan dan dapat membantu fungsi normal dan nutrisi. Tetapi bakteri ini bisa menjadi patogen bila mencapai jaringan di luar saluran pencernaan khususnya saluran air kemih bisa menyebabkan ISK (Infeksi Saluran Kemih), saluran empedu, di aliran darah dapat menyebabkan sepsis, di paru-paru, atau di peritoneum bisa menyebabkan peradangan.

Sebagian besar penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit infeksi ini dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih. (Jawetz *et al.* 2012).

3. Fisiologi *Escherichia coli*

Escherichia coli tumbuh baik dalam temperatur antara 8°C - 48°C dan temperatur optimum 37°C. *Escherichia coli* menghasilkan kolisin, yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri usus yang patogenik, dipakai sebagai indikator untuk menguji adanya pencemaran air oleh tinja. *Escherichia coli* bersifat lateral yaitu peritrik dimana flagel tersebar dari ujung-ujung sampai pada sisi. Rata-rata pergerakan bakteri *Escherichia coli* kira-kira 25 m/detik atau 10 cm/jam. Flagel berguna untuk bergerak, melekat, dan konjugasi. *Escherichia coli* berada dalam medium yang mengandung sumber karbon maka akan mengubah derajat asam (pH) dalam medium menjadi asam dan akan membentuk gas sebagai hasil proses terurainya glukosa menjadi senyawa lain (Melliawati 2009).

4. Toksin *Escherichia coli*

4.1 Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC). ETEC memproduksi toksin LT (termolabil) dan ST (termostabil). Toksin-toksin ini bekerja pada eritrosit untuk menstimulasi sekresi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya diare (Gillespie & Bamford 2008).

4.2 Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC). EIEC mempunyai kemampuan untuk memasuki epitel usus dan menyebabkan penyakit diare seperti disentri yang disebabkan oleh *Shigella Sp.* Bakteri menginvasi sel mukosa, menimbulkan kerusakan sel dan terlepasnya lapisan mukosa. Strain ini menghasilkan hemolisin yang berkaitan dengan infeksi saluran kemih (Gillespie & Bamford 2008).

4.3 Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC). EPEC merupakan *Escherichia coli* yang pertama kali dikenali sebagai patogen primer yang menyebabkan wabah diare di tempat perawatan anak. Penempelan berhubungan dengan hilangnya mikrovili dan disebabkan oleh pengaturan ulang dari aktin sel penjamu (Gillespie & Bamford 2008).

4.4 Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC). EHEC memproduksi verotoksin yang bekerja pada sel vero *in vitro*. Diare berdarah yang disebabkan dapat diperparah oleh hemolisis dan gagal ginjal akut. Organisme ini komersial pada sapi dan ditransmisikan ke manusia melalui buruknya *hygiene* di tempat pemotongan dan tempat produksi makanan (Gillespie & Bamford 2008).

5. Patogenesis

Escherichia coli praktis selalu ada dalam saluran pencernaan hewan dan manusia karena secara alamiah *Escherichia coli* merupakan salah satu penghuni tubuh. Penyebaran *Escherichia coli* dapat terjadi dengan cara kontak langsung (bersentuhan, berjabat tangan) kemudian diteruskan melalui mulut. Penyebaran secara pasif dapat terjadi melalui makanan atau minuman (Melliawati 2009).

Gejala umum infeksi *Escherichia coli* diantaranya diare berdarah, mual muntah, nyeri abdomen, dan kram perut. Infeksi *Escherichia coli* pada bayi, anak-anak, lanjut usia, pada seseorang dengan sistem kekebalan tubuh yang rendah (penderita HIV/AIDS), dapat menimbulkan komplikasi yang menyebabkan kematian (Kusumaningsih 2010).

6. Identifikasi *Escherichia coli*

Pengujian konfirmasi atau Uji IMVIC dilakukan dengan menginokulasi biakan bakteri pada media Nutrien Agar (NA) ke dalam indol, metil merah, voges proskauer, dan sitrat (IMVIC). Hasil uji konfirmasi *Escherichia coli* positif bila uji IMVIC menunjukkan hasil uji indol positif yang ditandai dengan warna merah tua pada permukaan media; hasil uji metil merah positif yang ditandai dengan warna merah; hasil uji voges proskauer negatif yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna; dan hasil uji sitrat negatif yang ditandai dengan warna hijau (Maksum 2002).

7. Pengobatan diare

Pengobatan diare dapat diberikan setelah mengetahui penyebab yang pasti. Obat antibiotik dapat diberikan jika pada pemeriksaan laboratorium ditemukan bakteri patogen (Suraatmaja 2007). Pengobatan diare yang tidak disebabkan oleh infeksi (tidak ada panas dan simtom sistemik) dapat diberikan terapi simtomatik seperti terapi rehidrasi, pemberian loperamid, adsorben atau pemberian oralit yang sering disebut terapi suportif dan diet. Oralit berfungsi untuk mencegah dehidrasi yang sangat berbahaya bagi penderita diare, terutama bayi dan lansia. Sedangkan diare yang disebabkan oleh infeksi (timbul panas dan simtom sistemik) dapat diberikan obat antibiotik yang sesuai (Priyanto dan Lestari 2009).

Pemberian terapi antibiotik untuk penyakit diare yang disebabkan oleh infeksi *Escherichia coli* pada acuan guideline *The Treatment of Diarrhoea : a Manual for Physicians and Other Senior Health Workers* yaitu dengan menggunakan kotrimoksazol sebagai lini pertama (WHO 2005).

G. Antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri merupakan suatu bahan atau senyawa yang pada umumnya dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan sekelompok bakteri, khususnya yang bersifat patogen pada manusia. Antibakteri berdasarkan sifat toksisitas selektif dalam menghambat pertumbuhan tanpa merusak inang, berupa zat yang

hanya menghambat pertumbuhan bakteri (aktivitas bakteristatik) dan zat yang membunuh bakteri (aktivitas bakterisid) (Radji 2010).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya antimikroba dibagi dalam lima kelompok yaitu yang mengganggu metabolisme sel mikroba, yang menghambat sintesis dinding sel mikroba, yang merusak keutungan membran sel mikroba, yang menghambat sintesis protein sel mikroba, dan yang menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroba (Ganiswara 2007).

2.1 Penghambatan metabolisme sel. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoat (PABA) untuk kehidupannya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional, sehingga kebutuhan asam folat tidak terpenuhi hal ini bisa menyebabkan bakteri mati. Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini ialah sulfonamid, trimethoprim, asam p-aminosalisilat, dan sulfon (Ganiswara 2007).

2.2 Penghambatan sintesis dinding sel. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, kerusakan dinding sel akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka. Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah penisilin, sefalosporin, vankomisin, basitrasin, dan sikloserin (Ganiswara 2007).

2.3 Penghambatan keutuhan membran sel. Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, dapat meloloskan beberapa zat yang terlarut dan bahan zat-zat yang terlarut lainnya. Salah satu kerja antibakteri adalah mengubah tegangan permukaan sehingga merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain – lain. Obat yang termasuk kelompok ini ialah polimiksin, golongan polien serat

berbagai antimikroba kemoterapeutik seperti antiseptik *surface active agents* (Ganiswara 2007).

2.4 Penghambatan sintesis protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30 S dan 50 S. Komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70 S. Penghambatan sintesis protein terjadi dengan berbagai cara antimikroba berikatan dengan komponen ribosom 30 S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba. Antibiotik berikatan dengan ribosom 50 S dan menghambat translokasi kompleks tRNA-peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptida. Akibatnya, rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA-asam amino yang baru. Obat yang termasuk kelompok ini ialah golongan aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol (Ganiswara 2007).

2.5 Penghambatan sintesis asam nukleat. Antimikroba berikatan dengan enzim polymerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Obat yang termasuk kelompok ini ialah rifampisin, dan golongan kuinolon (Ganiswara 2007).

H. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat dilakukan untuk mengetahui apakah suatu zat tersebut memiliki aktivitas yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Uji aktivitas antibakteri ini dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi atau pengenceran.

1. Metode Difusi

Metode disk difusi (*tes Kirby & Bauer*) untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut (Pratiwi 2008).

Pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode agar dengan cara sumuran. Tiap sumur pada permukaan agar telah diinokulasi mikroba dimasukkan larutan pengujian, kemudian diinkubasi pada suhu optimum untuk pertumbuhan mikroba (Rostina 2007). Metode cakram (tes *Kirby & Bauer*) menggunakan piringan atau cakram yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi 2008).

Pengujian ini dapat dievaluasi ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dengan melihat kemampuan ekstrak tersebut menghambat pertumbuhan bakteri pada media tersebut. Daerah hambat yang terbentuk ditunjukkan dengan lingkungan bening disekitar lubang/cakram yang berisi larutan uji (Rostina 2007).

Keuntungan dari metode difusi dibandingkan metode yang lain yaitu lebih ekonomis, sederhana, dan mudah dibuat. Kelemahan metode ini karena tidak bisa digunakan untuk semua jenis mikroba misalnya mikroba dengan pertumbuhan lambat ataupun anaerob obligat (Depkes 1999).

2. Metode Dilusi

Metode dilusi dilakukan dengan mencampurkan secara homogen suatu obat dalam media dengan jumlah yang berbeda-beda atau membuat larutan obat dengan kadar yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi bakteri kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono 1982).

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji.

Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 1986), dan satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi 2008).

Kekurangan metode dilusi yaitu sampel yang digunakan harus jernih karena jika keruh akan mempersulit pengamatan (Putra 2010).

I. Media

1. Pengertian media

Media adalah bahan untuk menumbuhkan mikroorganisme dan tumbuh di dalam atau di atas media. Media yang digunakan harus steril dan pH harus sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril, artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Media ada beberapa macam menurut bentuk, sifat, dan susunannya yang ditentukan oleh senyawa penyusun media, prosentase campuran, dan tujuan penggunaan. Media juga digunakan untuk isolasi, identifikasi maupun diferensiasi (Suriawiria 2005).

2. Macam – macam bentuk media

Bentuk media ada tiga jenis yaitu media padat, cair dan semi padat. Media padat apabila ke dalam media ditambahkan antara 12 – 15 gram tepung agar-agar per 1.000 ml media. Tepung agar – agar yang ditambahkan tergantung pada jenis dan kelompok mikroba yang ditambahkan. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan mikroalga.

Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media tidak ditambahkan zat pematid, media cair dipergunakan untuk perbaikan mikroalga terutama bakteri dan ragi.

Media semi cair atau semi padat digunakan untuk menguji ada tidaknya mortalitas dan kemampuan fermentasi. Media ini untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawiria 1985).

3. Jenis – jenis media pertumbuhan bakteri

3.1 Media sintetik. Media ini digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan mengandung faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Pertumbuhan bakteri sebanding dengan kadar asam laktat yang

dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji. Organisme yang banyak menumbuhkan faktor pertumbuhan disebut *fastidious*, misalnya *Lactobacillus* (Radji 2011).

3.2 Media kompleks. Media ini mengandung nutrisi tinggi, yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging, tumbuhan, ataupun protein dari sumber lain. Vitamin, mineral, dan bahan organik diperoleh dari ekstrak daging atau ragi yang merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentuk cairan disebut *Nutrient Broth*, sedangkan yang ditambahkan media agar disebut *Nutrient Agar* (Radji 2011).

3.3 Media biakan khusus. Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan O₂ dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dari pada konsentrasi CO₂ di udara (Radji 2011).

3.4 Media selektif dan deferensial. Media selektif dan diferensial digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif digunakan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan, contoh *Bismuth Sulfite Agar* digunakan untuk mengisilasi bakteri *Salmonella thypi* pada tinja. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama (Radji 2011).

3.5 Media anaerob. Bakteri anaerob ditanam pada media spesial disebut reducing media yang menggunakan natrium thioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan perlahan-lahan untuk menghilangkan oksigen yang terserap. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasikan dalam media agar di dalam cawan petri (Radji 2011).

3.6 Media pengayaan. Media ini dalam bentuk media cair bila digunakan untuk pengayaan biakan bakteri dan hampir sama dengan media selektif, tetapi dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan. Tahap pengayaan adalah upaya untuk menumbuhkan bakteri dalam beberapa kali pemindahan ke media yang baru. Ketika biakan pengayaan terakhir disebarkan di atas media padat

yang mengandung komposisi yang sama dengan media cair, hanya koloni yang mampu menggunakan fenol yang bertahan tumbuh (Radji 2011).

J. Sterilisasi

Peralatan maupun bahan yang akan digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Keadaan steril yang dimaksud yaitu bebas dari mikroba yang merusak ataupun mengganggu dalam proses pengerjaan. Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi 2008). Sterilisasi didesain untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme. Target suatu metode inaktivasi tergantung dari metode dan tipe mikroorganismenya, yaitu tergantung dari asam nukleat, protein, atau membran mikroorganisme tersebut (Pratiwi 2008).

K. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol adalah kombinasi dua obat antibiotik sulfametoksazol (Smx) dan trimetoprim (Tmp) digunakan dalam bentuk kombinasi karena Obat kombinasi ini untuk membunuh bakteri yang menyebabkan berbagai infeksi, termasuk infeksi saluran kemih, paru-paru (pneumonia), telinga, dan diare. Sulfametoksazol dan trimetoprim menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba, sehingga kombinasi kedua obat memberikan efek sinergis (Ganiswarna, 2007). Mekanisme antibakterinya berdasar atas kerjanya pada tahap yang berurutan pada reaksi enzimatik untuk pembentukan asam tetrahidrofolat. Sulfametoksazol menghambat masuknya PABA ke dalam asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin dan beberapa asam

amino (metinin, glisin). Trimetoprim menghambat enzim dihidrofolat reduktase mikroba secara sangat selektif (Ganiswara, 2007). Menurut data interpretive standart antibiotik kotrimoksazol memiliki nilai resisten yaitu ≤ 10 mm, intermediate 11-15 mm dan susceptible ≥ 16 mm. Keuntungan penting lain dari kombinasi ini adalah timbulnya resistensi lebih lambat daripada komponen-komponennya sendiri. Hal ini adalah jelas, karena bakteri yang menjadi resistensi untuk satu komponen masih dapat dimusnahkan oleh yang lain (Tjay & Rahardja 2002).

L. Efek Kombinasi Obat

Obat tradisional yang memiliki khasiat empiris yang sama (efek sinergis) banyak digunakan saat ini. Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan tepat. Baik takaran, waktu dan cara penggunaan serta pemilihan bahan yang sesuai dengan indikasi dan efek farmakologi yang saling mendukung satu sama lain (efek komplementer) untuk mencapai efektivitas pengobatan. Obat tradisional memiliki beberapa kelebihan yaitu efek sampingnya yang relative kecil dan harganya murah. Bahan obat alam juga memiliki beberapa kelemahan yang juga merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional. Kelemahan tersebut antara lain, efek farmakologinya lemah, bahan baku belum terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Pramono 2007).

Kombinasi obat adalah perpaduan dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar berkhasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) atau kerja sama (sinergisme) (Tan dan Raharja 2002). Efek dari kombinasi obat ada 2 yaitu :

1. Antagonis

Antagonis adalah terjadi apabila efeknya yang dihasilkan lemah serta obat yang pertama melemahkan efek obat yang kedua

2. Sinergisme

Sinergisme adalah kerjasama antara dua obat dan dikenal dua jenis yaitu: Adisi (penambahan). Adisi yaitu efek kombinasi sama dengan jumlah kegiatan masing-masing obat dan potensiasi (peningkatan potensi). Potensiasi yaitu kedua obat saling memperkuat khasiatnya sehingga terjadi efek yang melebihi jumlah matematis.

M. Landasan Teori

Tanaman banyak terdapat di Indonesia, tanaman tradisional banyak yang digunakan sebagai sumber obat-obatan. Jambu biji (*Psidium guajava L.*) adalah salah satu jenis tanaman obat tradisional yang dapat digunakan sebagai pengobatan untuk diare. Senyawa aktif pada daun jambu biji yang memiliki aktivitas antibakteri adalah flavonoid, tanin dan saponin (Naim, 2004). Berdasarkan penelitian sebelumnya menurut Adnyana dkk (2004), ekstrak daun jambu biji daging buah putih dan daun jambu biji daging buah merah memiliki kemampuan daya hambat bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, dan *Salmonella typhi*.

Tanaman lain yang memiliki yang dapat digunakan sebagai pengobatan untuk diare yaitu jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). Daun jambu mete mengandung dua kandungan utama, yaitu tanin dan fenol (Sulistyawati, 2009). Menurut Sulistyawati dan Sri (2009) membuktikan adanya aktivitas fenol pada daun jambu mete yang berfungsi sebagai antifungi dan tanin dalam daun jambu mete juga bermanfaat sebagai antiseptik dan antifungi. Hasil penelitian Dahake (2009) daun jambu mete memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri dan jamur, diantaranya adalah *S.aureus*, *B.subtilis*, *P.aeruginosa*, *E.coli*, *C.albicans* dan *A.niger*.

Penelitian ini akan mengkombinasikan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan jambu mete (*Anacardium occidentale L.*), diharapkan kombinasi ini dapat memberikan efek yang lebih optimal dari pada bentuk tunggal ekstrak. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922. *Echerichia coli* merupakan flora normal saluran usus. *Echerichia coli*

pada keadaan tertentu dapat terjadi perubahan terhadap sel inang seperti sistem imun yang menurun dan mampu menimbulkan penyakit pada manusia (Sarson *et al.* 2014). Manusia mudah sekali terkena infeksi dari bakteri ini, misalnya diare, peradangan, dan kehilangan cairan (Volk & Wheeler 1990). *Echerichia coli* memproduksi toksin labil toxin (LT) dan stable toxin (ST). Toksin – toksin ini bekerja pada eritrosit untuk menstimulasi sekresi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya diare (Gillespie & Bamford 2008).

Pengambilan ekstrak daun jambu biji dan jambu mete menggunakan metode maserasi yang merupakan penyarian sederhana dengan cara kerja merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut selama ± 5 hari. Keuntungan metode maserasi adalah cara pengerjaannya sederhana dan mudah diusahakan. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena menghasilkan ekstrak yang kental sehingga mempermudah untuk proses identifikasi.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dilusi menggunakan 12 tabung dengan interval pengenceran 2 kali kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan pada tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil yang di dapatkan tidak dapat dilihat karena tertutupi oleh kekeruhan sehingga mempersulit pengamatan konsentrasi hambat minimum jadi dilakukan inokulasi pada media *Endo Agar* dalam cawan petri sehingga diketahui ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri. Setelah diketahui hasil KBM dilanjutkan metode difusi dengan cara membuat sumuran pada cawan petri dengan menggunakan “*boor prop*”. Dalam cawan petri terdiri dari sumuran kotrimoksazol sebagai kontrol positif, DMSO 1% sebagai kontrol negatif, ekstrak tunggal jambu biji, ekstrak tunggal jambu mete, dan perbandingan kombinasi 1:1;1:3;3:1. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu hasil diamati dengan cara diameter daerah (zona) diukur hambatan disekitar lubang yang jernih.

N. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu :

Pertama, dapat ditentukan Konsentrasi Bunuh Minimum KBM dari ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) maupun kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri serta pada kombinasi ekstrak memiliki aktivitas paling efektif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) beserta kombinasinya.

Variabel utama kedua penelitian ini adalah aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) beserta kombinasinya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung sedang pengertian variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh selain variabel bebas.

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi dari ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) dengan perbandingan kombinasi 1:1; 1:3 ; 3:1.

2.2 Variabel kendali. Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh penelitian secara tepat.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jambu biji, daun jambu mete, bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

2.3 Variabel tergantung. Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini.

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah aktivitas kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media uji yang dilihat dari luas daerah yang jernih.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) adalah daun jambu biji yang diambil dari Desa Jatirejo Kabupaten Nganjuk.

Kedua, daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) adalah daun jambu mete yang diambil dari Kecamatan Slogohimo Kabupaten Wonogiri.

Ketiga, serbuk daun jambu biji adalah daun yang diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 50°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40.

Keempat, serbuk daun jambu mete adalah daun yang diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 50°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40.

Kelima, ekstrak daun jambu biji adalah hasil dari maserasi serbuk dengan pelarut etanol 96%.

Keenam, ekstrak daun jambu mete adalah hasil dari maserasi serbuk dengan pelarut etanol 96%.

Ketujuh, kombinasi ekstrak daun jambu biji dengan daun jambu mete 1:1 adalah ekstrak etanol daun jambu biji 0,5mg dan ekstrak etanol daun jambu mete 0,5mg dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 1%.

Kedelapan, kombinasi ekstrak daun jambu biji dengan daun jambu mete 1:3 adalah ekstrak etanol daun jambu biji 0,25mg dan ekstrak etanol daun jambu mete 0,75mg dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 1%.

Kesembilan, kombinasi ekstrak daun jambu biji dengan daun jambu mete 3:1 adalah ekstrak etanol daun jambu biji 0,75mg dan ekstrak etanol daun jambu mete 0,25mg dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 1%.

Kesepuluh, bakteri uji dari penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diambil dari Laboratorium Universitas Setiabudi Surakarta.

Kesebelas, penentuan aktivitas antibakteri adalah dengan cara metode dilusi yang pengujian dengan membuat konsentrasi ekstrak tunggal daun jambu biji dan ekstrak tunggal daun jambu mete yang diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati dengan melihat taraf kekeruhan.

Keduabelas, penentuan aktivitas antibakteri dengan metode difusi adalah mengukur diameter daerah hambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Diujikan pada ekstrak tunggal daun jambu biji, ekstrak tunggal daun jambu mete, serta kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete dengan perbandingan kombinasi (1:1); (1:3); dan (3:1).

Ketigabelas, uji aktivitas antibakteri ekstrak terefektif dengan metode difusi, yaitu berupa ekstrak tunggal maupun ekstrak kombinasi yang paling baik terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat timbang analisa yang mempunyai ketelitian baca minimum 0,1 mg dan daya muat maksimal 100g, ayakan nomer 40, *moisture balance*, tabung reaksi, gelas ukur, vial, pipet tetes, pipet volume, micropipette, syring, pinset, inkubator, corong kaca, penangas air, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat *rotary evaporator*, pembakar spirtus, *beaker glass*, jarum ose, autoklav, blender, oven, mikroskop, object glass, deg glass, kain flannel, batang pengaduk, labu ukur, gelas arloji, kertas koran, kapas lidi steril, kertas koran, cawan petri.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri adalah daun jambu biji dan jambu mete yang masih segar berwarna hijau.

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion* (BHI), *Endo Agar* (EA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sulfide Indol Motility* (SIM), *Kliger Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Simmon Citrat* (SC).

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, asam asetat, asam sulfat pekat, HCl 2N, larutan mayer, HCL pekat, larutan dragendorf, magnesium, pelarut amil alkohol, F_2Cl_3 , reagen Erlich, larutan kristal violet, minyak imersi, larutan safranin, larutan lugol, larutan alkohol dan DMSO 1%.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan simplisia

Daun jambu biji dan jambu mete diambil yang masih segar, berwarna hijau muda dan bersih. Kemudian di cuci bersih dan dilanjutkan ke tahap selanjutnya. Pengambilan simplisia daun jambu biji yang diambil dari Desa Jatirejo dan daun jambu mete yang diambil dari Kabupaten Wonogiri.

2. Determinasi tanaman

Determinasi daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) dilakukan dengan menunjukkan tanaman daun jambu biji dan jambu mete yang meliputi daun, batang, bunga, akar, dan buah kemudian menetapkan kebenarannya sesuai ciri – ciri morfologinya. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

3. Pembuatan serbuk

Pembuatan serbuk daun jambu biji dengan cara daun jambu biji dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Daun jambu biji dan daun jambu mete yang sudah bersih dipotong-potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan cara di oven selama kurang lebih 5 hari. Daun jambu biji dan daun jambu mete yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperbesar luas permukaan antara cairan penyari dengan serbuk.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan jambu mete

Penetapan kadar air daun jambu biji dan daun jambu mete dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Timbang serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete sebanyak 2 gram, suhu yang digunakan adalah 95°C dan waktu pengeringan secara manual yaitu selama 15 menit. Penandaan hasil analisis telah selesai yaitu sampai diperoleh bobot konstan yang dilakukan penimbangan sampai 3 kali. Kadar air akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

5. Pembuatan ekstrak etanol

5.1 Ekstrak etanol daun jambu biji. Serbuk daun jambu biji ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan dalam ke botol coklat diisi dengan 3750ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75, kemudian direndam selama 5 hari. Setelah 5 hari ampas dibilas dengan 1250ml pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh disaring dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

5.2 Ekstrak etanol daun jambu mete. Serbuk daun jambu mete ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 3750ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75, kemudian direndam selama 5 hari. Setelah 5 hari ampas dibilas dengan 1250ml pelarut etanol 96%. Ekstak yang diperoleh disaring dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50⁰C.

6. Tes bebas etanol daun jambu biji dan daun jambu mete

Tes bebas etanol dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol. Dengan cara ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun jambu mete masing–masing ditambahkan asam asetat (CH_3COOH) dan asam sulfat pekat (H_2SO_4) kemudian dipanaskan, jika tidak terdapat bau khas ester berarti sudah tidak terdapat alkohol dalam ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun jambu mete.

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete

Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung didalamnya. Identifikasi dilakukan terhadap senyawa saponin, flavonoid, tanin dan alkaloid dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi.

7.1 Uji saponin. Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan aquadest, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit. Setelah dipanaskan tunggu sampai dingin lalu kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang menandakan adanya kandungan saponin (Ramyashree *et al.* 2012).

7.2 Uji flavonoid. Ekstrak sebanyak 0,5 gram dicampur dengan aquadest. Setelah itu, didihkan selama 5 menit kemudian di saring. Filtrat ditambah 0,5 mg serbuk Mg dan ditambahkan 1 ml HCl pekat dan amil alkohol. dicampur dan dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada amil alkohol (Alamsyah 2014).

7.3 Uji tanin. Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan aquadest sampai terendam dan dipanaskan selama 3 sampai 5 menit kemudian ditambahkan 2 tetes larutan NaCl 10% lalu direaksikan dengan menambahkan FeCl₃. Perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree *et al.* 2012).

7.4 Uji alkaloid. Ekstrak sebanyak 0,5 gram dicampurkan dengan aquadest. Setelah itu ditambahkan 1 ml HCl 2N. Dibuat dalam 2 tabung, tabung 1 ditambah reagen Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih kekuningan. Tabung 2 ditambah reagen Dragendrof terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga (Alamsyah 2014).

8. Sterilisasi

Sterilisasi inkas dengan menggunakan formalin, media yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat – alat dari gelas yang ada ukurannya di sterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Suriawiria 1985).

9. Identifikasi bakteri uji

9.1. Identifikasi bakteri secara maksroskopis. Identifikasi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, suspensi *Escherichia coli* diinokulasikan pada media *Endo Agar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif bila penampakan koloni dengan kilat logam dan warna medium merah violet (Volk dan Wheller 1988).

9.2. Pembuatan suspensi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922

Pengambilan suspensi dilakukan dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media BHI (*Brain Heart infusion*) dan kemudian kekeruhannya distandarkan dengan *McFarland* 0,5 yaitu setara dengan 10⁸ CFU/ml bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Tujuan distandarkannya dengan *Mc. Farland* 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan selama penelitian sama dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian. Tahap selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

9.3. Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan gram dilakukan untuk meyakinkan bahwa bakteri *Escherichia coli* merupakan gram negatif ditandai dengan sel bakteri yang berwarna merah dan berbentuk batang. Perwarnaan Gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas yang difiksasi lalu tetes Kristal Violet (Gram A) sebagai pewarna utama pada preparat sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadest mengalir kemudian tetesi mordant (*lugol,s iodin*/Gram B) sebagai penguat warna dan diamkan kurang lebih selama 1 menit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir dan dikering anginkan, setelah itu preparat dilunturkan dengan Gram C (alkohol) dan diamkan selama kurang lebih 45 detik, dicuci dengan aquadest mengalir kemudian keringkan. Larutan safranin (Gram D) diberikan selama 3 menit, dicuci dengan air mengalir dan keringkan. Minyak imersi diberikan diatas kaca preparat bakteri. Kaca preparat diamati menggunakan mikroskop perbesaran 10x100 kali.

10. Uji biokimia

10.1. SIM (*Sulfide Indol Motilitas*). Biakan murni bakteri diinokulasi pada permukaan media dengan cara inokulasi tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk menguji adanya sulfida indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif bila bewarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah reagen Ehrlich A dan B. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media. Hasil tersebut bisa dituliskan dengan tanda (-+++).

10.2. KIA (*Kliger Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat dan sulfida. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, terdapatnya gas serta terbentuknya warna hitam pada media. Uji positif bila lereng akan bewarna merah (ditulis K), bagian dasar bewarna kuning (ditulis A), terbentuknya gas yang ditandai dengan pecahnya media (ditulis G), sulfida positif terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil positif dapat dituliskan yaitu A/A S-.

10.3. LIA (*Lisin Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinokulasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya lisin deaminasi dan dekarboksilase. Selanjutnya diamati pada bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Bila uji positif maka lereng akan bewarna coklat (ditulis R). Bewarna ungu yang berarti suasananya asam (ditulis A) disertai terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil positif dapat dituliskan yaitu K/K S-.

10.4. Simmon Citrat. Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon. Uji ini bila media bewarna biru. Hasil positif dapat dituliskan yaitu bewarna hijau (-).

11. Pembuatan Larutan Kombinasi Sediaan Ekstrak

Ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun jambu mete dikombinasi dengan perbandingan (1:1), (1:3) dan (3:1). Perbandingan (1:1) dibuat dengan mengambil ekstrak daun jambu biji sebanyak 0,5 ml dan ekstrak daun jambu mete 0,5 ml. Perbandingan (1:3) dibuat dengan dengan mengambil ekstrak daun jambu biji sebanyak 0,25 ml dan ekstrak daun jambu mete 0,75 ml. Dan perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil ekstrak daun jambu biji sebanyak 0,75 ml dan ekstrak daun jambu mete 0,25 ml.

12. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan metode dilusi dan difusi. Metode dilusi bertujuan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada sediaan ekstrak. Setelah mendapatkan KBM dilanjutkan dengan metode difusi. Metode dilusi menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril. Konsentrasi larutan stok yaitu 50%, kemudian diencerkan dengan DMSO 1%. Konsentrasi pada metode dilusi menggunakan seri konsentrasi pengenceran 50% ; 25% ; 12.5% ; 6.25% ; 3.12% ; 1.56% ; 0,78% ; 0,39% ; 0,19% ; 0,09%. Tabung pertama sebagai kontrol negatif yang berisi sediaan ekstrak dan tabung terakhir sebagai kontrol positif yang berisi suspensi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922. Secara aseptis masukan sediaan ekstrak

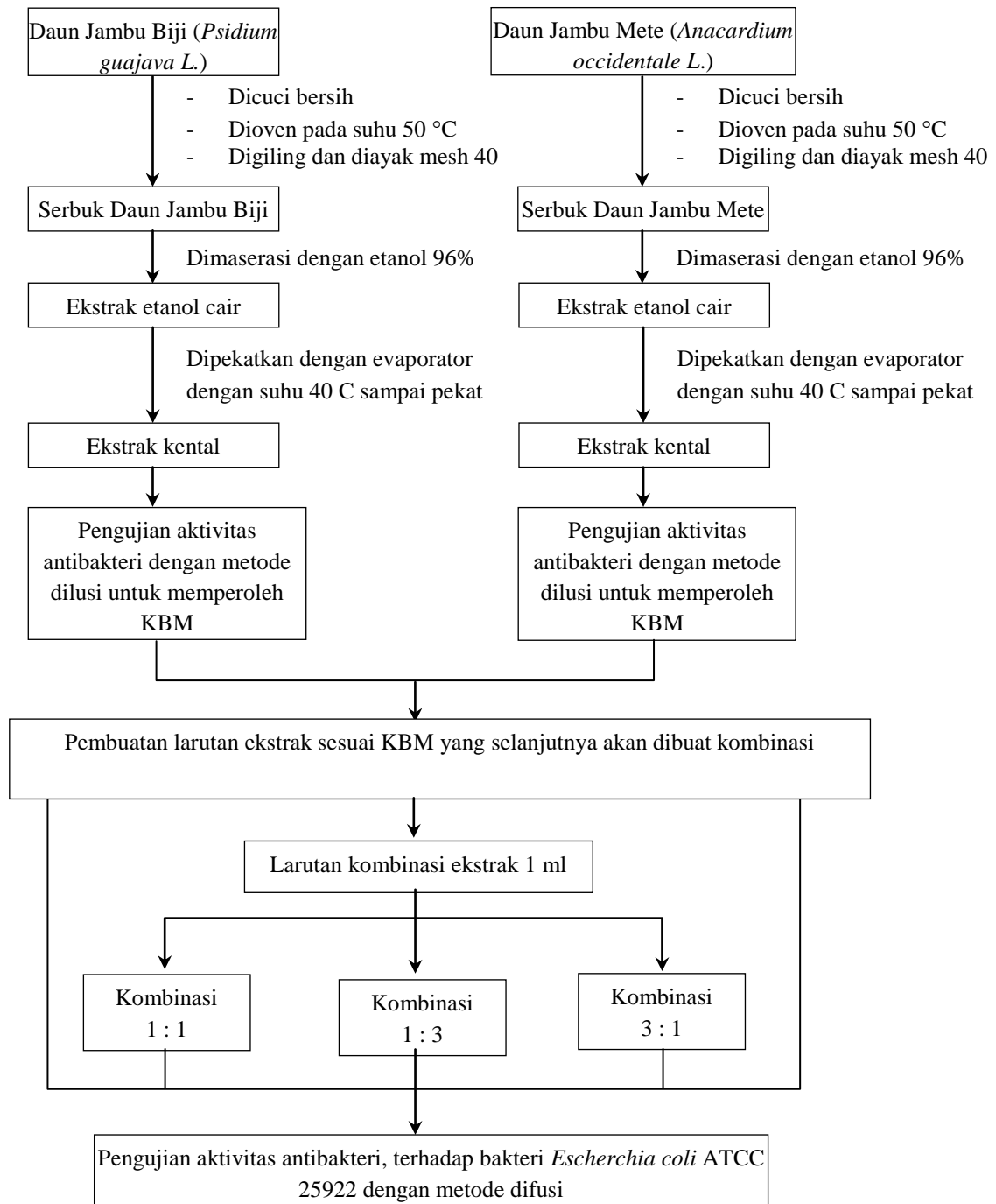
1 ml pada tabung 1 dan 0,5 ml pada tabung ke 2 dan ke 3. Memasukkan 0,5 ml media BHI pada tabung ke 3 sampai tabung ke 11, kemudian dipipet 0,5 ml pada tabung 3 dan dimasukkan ke dalam tabung 4 dan homogenkan, begitu seterusnya hingga tabung ke 11 lalu dibuang. Selanjutnya lakukan secara aseptis dan masukan 0,5 ml suspensi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 dari tabung 2 sampai tabung 11. Kemudian seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam lalu amati kekeruhannya. Hasil yang didapatkan tidak dapat dilihat karena tertutupi oleh kekeruhan yang berasal dari ekstrak yang berwarna hijau sehingga mempersulit pengamatan konsentrasi hambat minimum. Hal tersebut dapat diatasi dengan melakukan inokulasi pada semua tabung dalam cawan petri pada media *Endo Agar* sehingga diketahui ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri. Daerah yang tidak ditumbuhi koloni bakteri yang tumbuh merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri. Konsentrasi yang diperoleh tersebut sebagai KBM, kemudian konsentrasi tersebut digunakan sebagai acuan untuk pembuatan larutan ekstrak kombinasi.

Pengujian selanjutnya yaitu dengan metode difusi. Metode difusi bertujuan untuk menentukan diameter daerah hambat. Metode difusi yang digunakan yaitu menggunakan "boor prop". Pembuatan larutan kombinasi ekstrak adalah 1 ml. Metode difusi dilakukan dengan menggoreskan suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 kedalam media MHA (*Mueller Hinton Agar*) menggunakan kapas lidi steril. Metode selanjutnya dilakukan dengan mengisi sumuran dengan ekstrak tunggal, perbandingan kombinasi ekstrak beserta kontrol yang telah dipersiapkan. Sumuran pertama berisi ekstrak tunggal jambu biji, ekstrak tunggal jambu mete, perbandingan kombinasi 1:1;1:3;3:1, DMSO 1% sebagai kontrol negatif dan kotrimoksazol sebagai pembanding kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati hasilnya kemudian diukur diameter daerah hambat yang jernih menggunakan jangka sorong (satuan mm). Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar sumuran menunjukkan ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi dari daun jambu biji dan daun jambu mete memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

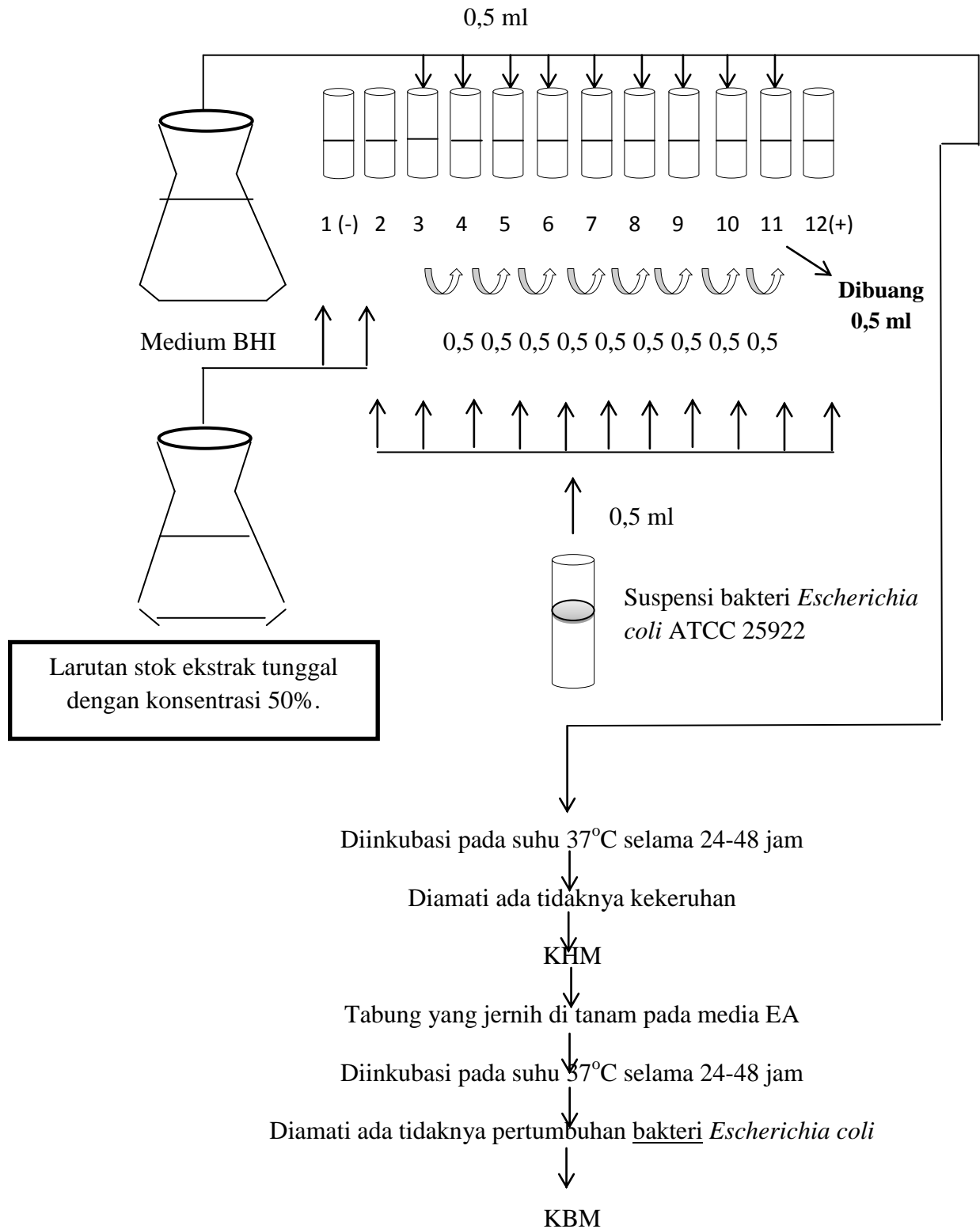
E. Analisa Hasil

Data hasil penelitian diperoleh adanya diameter daerah hambat pada pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih disekeliling sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter daerah hambat dari masing-masing sumuran. Data yang diperoleh di analisa dengan menggunakan *Kolmogorof-Smirnov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *analysis of varian* (ANOVA) satu jalan.

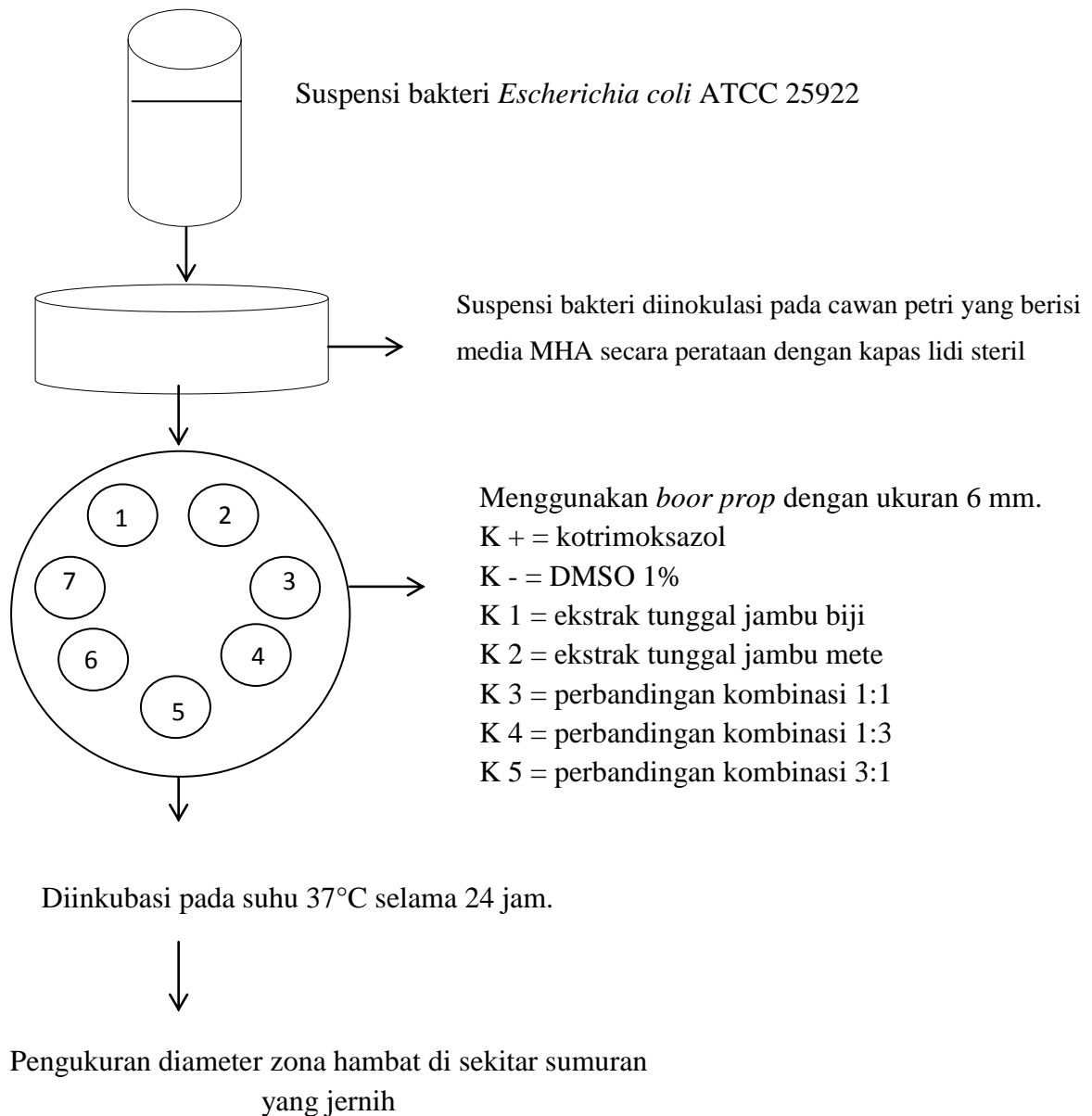
F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)



Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi terhadap bakteri

Escherichia coli ATCC 25922

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penyiapan Bahan Tanaman

1. Identifikasi Tanaman Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*) dan Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale L.*)

Identifikasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diteliti dan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun jambu biji dan daun jambu mete yang telah diidentifikasi di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas setia Budi, Surakarta.

Hasil identifikasi tanaman menunjukkan bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1 & 2.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu biji dan serbuk daun jambu mete

Daun jambu biji diambil dalam keadaan segar yang tumbuh di daerah Desa Jatirejo, Kabupaten Nganjuk. Sedangkan daun jambu mete dalam keadaan segar yang tumbuh di daerah Kecamatan Slogohimo Kabupaten Wonogiri. Kemudian dilakukan pengeringan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur atau mikroorganisme. Pengeringan dilakukan oven pada suhu 50°C selama 3 hari kemudian dilakukan perhitungan bobot kering terhadap bobot basah pada daun jambu biji dan daun jambu mete.

Tabel 1. Hasil persentase bobot basah terhadap bobot kering daun jambu biji

Bobot basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (% b/b)
4000	2400	60

Tabel 2. Hasil persentase bobot basah terhadap bobot kering daun jambu mete

Bobot basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (% b/b)
4500	1700	37,78

Hasil bobot basah daun jambu biji 4 gram dan diperoleh bobot kering daun jambu biji 2,4 gram. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 60 % b/b. Sedangkan hasil bobot basah daun jambu mete 4,5 gram diperoleh bobot kering daun jambu mete 1,7 gram. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 37,78 % b/b. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 3.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete

Serbuk daun jambu biji dan serbuk daun jambu mete masing-masing ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian susut pengeringan serbuk dengan menggunakan alat *moisture balance*. Penetapan susut pengeringan daun jambu biji dilakukan di Laboratorium Teknologi Universitas Setia Budi.

Hasil penentuan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan serbuk daun jambu mete dengan menggunakan *Moisture Balance*.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan serbuk daun jambu mete

Replikasi	Bobot awal (gram)		Bobot Akhir (gram)		Susut pengeringan (% b/b)	
	A	B	A	B	A	B
1	2	2	1,83	1,72	9,4	9,4
2	2	2	1,82	1,71	9	9,5
3	2	2	1,83	1,72	9,4	9,4
Rata-rata					9,27	9,43

Keterangan :

Serbuk A : serbuk daun jambu biji

Serbuk B : serbuk daun jambu mete

Berdasarkan tabel 3, rata-rata hasil perhitungan susut pengeringan serbuk daun jambu biji yang dilakukan tiga kali replikasi yaitu sebesar 9,27 % b/b dan serbuk daun jambu mete yang dilakukan tiga kali replikasi yaitu sebesar 9,43 %

b/b. Serbuk daun jambu biji dan serbuk daun jambu mete memenuhi syarat karena prosentase susut pengeringan kedua serbuk kurang dari 10%. Susut pengeringan kurang dari 10% agar mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur maupun bakteri. Susut pengeringan yang terlalu tinggi dalam serbuk dapat menurunkan kualitas simplisia. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete dapat dilihat pada lampiran 4.

4. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete

Serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi yang bertujuan agar cairan penyari menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan di desor keluar (Depkes, 1986). Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% agar menghasilkan ekstrak yang kental sehingga mempermudah untuk proses identifikasi, ekstrak cair kemudian dipekatkan dengan evaporator pada suhu 50°C. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dapat dilihat pada tabel 4 dan daun jambu mete dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Hasil perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu biji

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen (% b/b)
500	142	28,4

Tabel 5. Hasil perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu mete

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen (% b/b)
500	196,62	38,32

Hasil penetapan ekstrak daun jambu biji dari proses maserasi dengan pelarut etanol memiliki rendemen 28,4 % b/b. Sedangkan pada daun jambu mete dengan pelarut etanol memiliki rendemen 38,32 % b/b. Organoleptis ekstrak berwarna hitam pekat, bentuk kental dan bau khas aromatik. Perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete dapat dilihat pada lampiran 5.

5. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete

Uji bebas alkohol dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete. Hasil tes esterifikasi etanol pada ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun jambu biji dan jambu mete

Esterifikasi	Hasil		Inteprestasi Data	
	Ekstrak A	Ekstrak B	Ekstrak A	Ekstrak B
Alkohol	Tidak tercium bau ester khas alkohol	Tidak tercium bau ester khas alkohol	-	-

Keterangan

Ekstrak A : ekstrak daun jambu biji

Ekstrak B : ekstrak daun jambu mete

- : tidak tercium bau khas ester

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji dan jambu mete sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol yang ditunjukkan dengan tidak terciumnya bau ester yang khas etanol. Uji bebas etanol bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri, sehingga tidak mengganggu aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete.

6. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Jambu Mete

Ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun jambu mete yang didapat diuji kandungan kimia yang terkandung untuk membuktikan dimana senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) dilakukan menggunakan tabung reaksi. Gambar hasil identifikasi kandungan kimia daun jambu biji dan daun jambu mete dapat dilihat dalam pada lampiran 12 & 13. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete dapat dilihat pada tabel 7 dan 8.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*)

Kandungan Kimia	Pustaka	Interpetasi Hasil Ekstrak
Alkaloid	Terbentuk endapan merah sampai jingga pada reagen Dragendroff dan terbentuk endapan putih kekuningan pada reagen Mayer (Alamsyah 2014).	+
Flavonoid	Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada amil alkohol (Alamsyah 2014).	+
Saponin	Reaksi positif ditunjukkan adanya busa yang stabil dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	+
Tanin	Reaksi positif bila menjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	+

Keterangan :

+ : terdapat golongan senyawa

- : tidak terdapat golongan senyawa

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)

Kandungan Kimia	Pustaka	Interpetasi Hasil Ekstrak
Alkaloid	Terbentuk endapan merah sampai jingga pada reagen Dragendroff dan terbentuk endapan putih kekuningan pada reagen Mayer (Alamsyah 2014).	+
Flavonoid	Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada amil alkohol (Alamsyah 2014).	+
Saponin	Reaksi positif ditunjukkan adanya busa yang stabil dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	+
Tanin	Reaksi positif bila menjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	+

Keterangan :

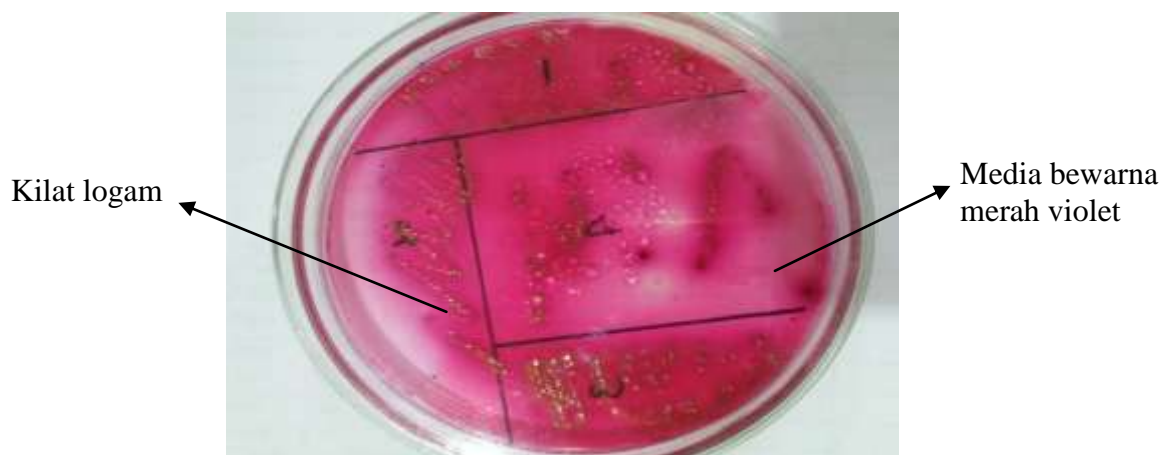
+ : terdapat golongan senyawa

- : tidak terdapat golongan senyawa

B. Pengujian Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

1. Hasil Identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922

Hasil Identifikasi Makroskopis *Escherichia coli* ATCC 25922. Bakteri diinokulasikan pada media *Endo Agar*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil dinyatakan positif apabila didapati penampakan koloni merah dengan logam kilau yang permanen dan warna medium merah violet (Volk & Wheller 1988). Dalam media *Endo Agar* terdapat laktosa sehingga mampu memfermentasi laktosa kemudian terurai menjadi aldehyd dan asam. Aldehyd akan memecah antara ikatan fushsin (cat) dengan natrium sulfit karena adanya aldehyd ikatan tersebut di pecah menjadi fushin. Fushin akan memberikan warna kilat logam pada koloni. Gambar identifikasi bakteri secara makroskopis dapat dilihat pada lampiran 14.



Gambar 6. Foto Identifikasi Koloni *Escherichia coli* ATCC 25922

1.1 Hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922. Pengambilan suspensi dilakukan dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media BHI (*Brain Heart infusion*) dan kemudian kekeruhannya distandarkan dengan *McFarland* 0,5 yaitu setara dengan 10^8 CFU/ml bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Tujuan distandarkannya dengan *Mc. Farland* 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang

digunakan selama penelitian sama dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

1.2 Hasil Identifikasi Mikroskopis *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan Pewarnaan Gram. Pewarnaan gram dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 tersebut termasuk golongan bakteri gram negatif. Prinsip dari pewarnaan gram khususnya pada bakteri gram negatif adalah bakteri tersebut akan berikatan dengan pewarna akhir yang diberikan pada pengujian. Bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 diperoleh hasil dengan sel bakteri berwarna merah, bentuk batang. Kristal Violet (Gram A) ditetaskan sehingga menyebabkan Kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Penetasan mordant (lugol iodine/Gram B) ditetaskan sehingga menyebabkan terbentuknya ikatan dengan iodine yang akan meningkatkan afinitas peningkatan zat warna oleh sel bakteri, seluruh bakteri akan berwarna ungu. Gram C (alkohol) ditetaskan sehingga menyebabkan terbentuknya pori-pori pada gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga kompleks kristal violet-iodine tidak menempel pada dinding sel bakteri, hal ini menyebabkan sel Gram negatif akan kehilangan warna ungunya. Pewarna safranin (Gram D) dapat menyebabkan sel bakteri sel bakteri gram negatif menjadi warna merah. Gambar hasil identifikasi mikroskopis dapat dilihat pada lampiran 14.



Gambar 7. Foto Identifikasi Pewarnaan Gram *Escherichia coli* ATCC 25922

1.3 Hasil Identifikasi Secara Biokimia. Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara untuk mengidentifikasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologisnya. Identifikasi uji biokimia pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menggunakan medium yang terdiri dari, *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Klinger's Iron Agar* (KIA), *Lisin Iron Agar* (LIA), dan Simmons Citrat. Hasil identifikasi uji biokimia pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Identifikasi uji biokimia pada *Escherichia coli* ATCC 25922

Pengujian	Hasil	Pustaka
SIM	+++	+++
KIA	A/AG S (-)	A/AG S (-)
LIA	K/K S (-)	K/K S (-)
CITRAT	-	-

Keterangan

SIM: *Sulfida Iron Agar*

KIA: *Klinger Iron Agar*

LIA: *Lisin Iron Agar*

+: Reaksi positif

- : Reaksi negative

A : Kuning

B : Merah atau ungu

S : Hitam

G : Gas

Medium *Sulfida Indol Motility* (SIM) untuk mengetahui terbentuknya *sulfida*, *indol* dan *motilitas*. Pengujian *Sulfida Indol Motility* menunjukkan hasil +++, artinya uji H₂S negatif dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media *Sulfida Indol Motility*, bakteri *Escherichia coli* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hidrogen sulfida sehingga media tidak bewarna hitam. Uji indol dengan menambah tiga tetes Erlich A dan Erlich B menunjukkan hasil positif terbentuknya lapisan merah diatas permukaan yang artinya bakteri *Escherichia coli* membentuk indol dari tryptopan sebagai sumber karbon. Tryptopan merupakan asam amino esensial yang dapat mengalami reaksi oksidasi dengan cara kegiatan enzimatik bakteri. Konversi tryptopan menjadi produk metabolik di mediasi oleh enzim tryptopanase. Uji motilitas diperoleh hasil positif, ditunjukkan dengan adanya penyebaran pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media SIM.

Medium *Klinger's Iron Agar* (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Hasil yang diperoleh yaitu A/AG S(-), A/A artinya pada lereng dan dasar media bewarna kuning. G artinya terdapat gas sehingga menyebabkan media terangkat, S (-) artinya uji H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam, hal ini terjadi karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang menghasilkan hidrogen sulfida H₂S dan H₂S yang akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media. Adanya H₂S ditandai dengan adanya warna hitam antara dasar dan lereng. Medium *Klinger's Iron Agar* (KIA) mengandung laktosa dan glukosa dalam konsentrasi 1% laktosa, glukosa 0,1% dan phenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dan merah menjadi kuning dalam suasana asam. *Klinger's Iron Agar* juga mengandung thiosulfate yaitu substrat untuk penghasil H₂S.

Medium *Lisin Iron Agar* (LIA) untuk mengetahui lisin deaminasi dan dekarboksilase. Pengujian dengan LIA menunjukkan hasil K/KS(-), K/K artinya pada lereng dan dasar media bewarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendeakarboxilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media, S(-) artinya uji H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media *Lisin Iron Agar* (LIA).

Medium *Simmons citrat* untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian citrat menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna sehingga media tetap bewarna hijau. Hal ini menunjukkan bahwa *Escherichia coli* tidak menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Dalam medium citrat terdapat indikator BTB (*Bromo Thymol Blue*) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan citrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan dan menyebabkan suasana menjadi basa, hal ini menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada lampiran 14.

2. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara dilusi

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan metode dilusi atau dengan menggunakan seri pengenceran pada larutan uji yang bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu konsentrasi terendah obat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu konsentrasi terendah dari suatu antimikroba yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri. Metode uji dilusi cair merupakan metode yang terjadi interaksi secara langsung antara larutan uji dengan suspensi bakteri yang tersebar merata dalam media.

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan seri konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%, 0,39%, 0,19%; 0,09%; kontrol positif berupa suspensi bakteri dan kontrol negatif berupa ekstrak. Suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang digunakan dalam medium BHI mempunyai perbandingan pengenceran 1:1000. Perhitungan pembuatan larutan ekstrak dapat dilihat pada lampiran 6. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan pada tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil yang didapatkan tidak dapat dilihat karena tertutupi oleh kekeruhan yang berasal dari ekstrak yang berwarna hijau sehingga mempersulit pengamatan konsentrasi hambat minimum. Hal tersebut dapat diatasi dengan melakukan inokulasi pada semua tabung dalam cawan petri pada media *Endo Agar* sehingga diketahui ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri.

Inokulasi pada media *Endo Agar* pada seri konsentarsi 50%,25%,12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%, 0,39%, 0,19%; 0,09%; kontrol positif menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan media bewarna merah dan adanya kilat logam yang menandakan adanya pertumbuhan koloni *Escherichia coli* ATCC 25922. Inokulasi pada konsentarsi 50% dan 25 % dalam media *Endo Agar* tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa pada seri konsentarsi 50% dan 25% ekstrak daun jambu biji dan daun

jambu mete mempunyai aktivitas antibakteri yang mampu membunuh bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada penelitian ini didapatkan hasil dari ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah konsentrasi 25%. Hasil uji aktivitas antibakteri dari senyawa uji dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Konsentrasi	Hasil Inokulasi					
	A	B	A	B	A	B
Kontrol Negatif (-)	-	-	-	-	-	-
50%	-	-	-	-	-	-
25%	-	-	-	-	-	-
12,5%	-	-	+	+	+	+
6,25%	+	+	-	-	+	+
3,12%	+	+	+	+	+	+
1,56%	+	+	+	+	+	+
0,78%	+	+	+	+	+	+
0,39%	+	+	+	+	+	+
0,19%	+	+	+	+	+	+
0,09%	+	+	+	+	+	+
Kontrol Positif (+)	+	+	+	+	+	+

Keterangan

Ekstrak A : ekstrak daun jambu biji

Ekstrak B : ekstrak daun jambu mete

+

- : tidak adanya pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922

3. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara difusi

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 pada ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete dilakukan dengan menggunakan metode difusi yang bertujuan untuk mengetahui terbentuk atau tidaknya daerah jernih di sekitar sumuran, dimana hal tersebut dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang dilakukan menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Uji difusi ini dilakukan untuk mengetahui kombinasi ekstrak yang mempunyai daya hambat paling efektif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Pengujian aktivitas antibakteri sediaan ekstrak daun jambu biji dan daun jambu

mete terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan perbandingan kombinasi 1:1 ; 1:3 ; 3:1 ; ekstrak tunggal daun jambu biji ; ekstrak tunggal daun jambu mete; kotrimoksazol sebagai pembanding dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Hasil metode difusi dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium Occidentale L.*) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara difusi

Bahan Uji	Diameter Daerah Hambat (mm)			
	Replikasi			Rata-rata \pm SD
	1	2	3	
Kontrol (-)	0	0	0	0 \pm 0 ^b
Kontrol (+)	18	17	16	17 \pm 0,577
Jambu Biji	8	8	7	7,67 \pm 0,577 ^{b a}
Jambu Mete	10	9	10	9,67 \pm 0,577 ^{b a c}
Perbandingan 1 : 1	11	10	10	10,33 \pm 0,577 ^{b a c}
Perbandingan 1 : 3	11	10	10	10,33 \pm 0,577 ^{b a c}
Perbandingan 3 : 1	12	13	13	12,67 \pm 0,577 ^{b a c d e f}

Keterangan

Kontrol (-) : DMSO 1%

Kontrol (+) : Kotrimoksazol

Berbeda signifikan dengan :

a : berbeda signifikan terhadap DMSO 1%

b : berbeda signifikan terhadap kotrimoksazol

c : berbeda signifikan terhadap jambu biji

d : berbeda signifikan terhadap jambu mete

e : berbeda signifikan terhadap perbandingan 1:1

f : berbeda signifikan terhadap perbandingan 1:3

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak tunggal maupun kombinasi dari daun jambu biji dan daun jambu mete memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Tabel diatas menunjukkan perbedaan antara sampel uji dan kontrol positif yang ditunjukkan pada diameter zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Pada metode difusi antibiotik yang digunakan adalah kotrimoksazol sebagai pembanding pengujian

daya antibakteri. Pemilihan kotrimoksazol sebagai pembanding karena menghambat reaksi enzimatis obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba sehingga kombinasi kedua obat memberikan efek yang sinergis untuk membunuh bakteri (Ganiswara 2007). Kontrol negatif menunjukkan tidak adanya zona hambat, sehingga kontrol yang digunakan tidak berpengaruh dalam pengujian aktivitas antibakteri. Kontrol positif menunjukkan bahwa adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Pelarut dan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 1% berfungsi sebagai kosolven dan tidak menghambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan.

Menurut Davis dan Stout (1971), ketentuan antibakteri adalah sebagai berikut : daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah. Hasil pengujian yang didapat rata – rata diameter daya hambat pada ekstrak tunggal jambu biji, ekstrak tunggal jambu mete serta perbandingan 1:1; 1:3; 3:1 secara berturut turut adalah 7,67 mm; 9,67 mm; 10,33 mm; 10,33 mm dan 12,67 mm dan kotrimoksazol sebesar 17 mm. Menurut data interpretive standart antibiotik kotrimoksazol masuk dalam kategori susceptible (≥ 16 mm) karena memiliki kemampuan daya hambat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 17 mm.

Hasil penelitian dapat dilihat bahwa diameter daerah hambat yang dihasilkan ekstrak daun jambu mete yaitu lebih besar dibandingkan dengan ekstrak daun jambu biji, karena ekstrak daun jambu mete lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan adanya pengaruh senyawa-senyawa kimia yang terdapat didalamnya. Ekstrak daun jambu mete diasumsikan kandungan senyawa aktif tanin, saponin dan fenol dalam jumlah besar dan alkaloid dalam jumlah sedikit yang berperan sebagai antibakteri (Omojasola dan Awe 2004). Efektivitas antibakteri senyawa tanin yang terdapat dalam tumbuhan salah satunya dipengaruhi oleh konsentrasi tanin. Semakin tinggi kadar tanin aktivitas antibakteri akan meningkat.

Perbandingan ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun jambu mete 1:1 memiliki diameter daerah hambat kecil karena pada masing-masing ekstrak memiliki konsentrasi yang kecil sehingga akan memberikan aktivitas antibakteri yang kecil. Data perbandingan 1:1 dan 1:3 tidak ada perbedaan yang signifikan, walaupun pada ekstrak tunggal daun jambu mete efektivitasnya besar tetapi ketika dikombinasikan dengan ekstrak tunggal jambu biji dan konsentrasinya dinaikkan efektivitasnya sama dengan ekstrak tunggal daun jambu mete. Efektivitas ekstrak daun jambu mete lebih baik dalam ekstrak tunggal bukan dikombinasikan. Faktor yang mempengaruhi hasil diameter daerah hambat yang terbentuk pada kombinasi 1:1 dan 1:3 sama diasumsikan adanya persamaan perlakuan serta kemampuan ekstrak dalam berdifusi sama.

Aktivitas paling efektif ditunjukkan pada kombinasi ekstrak daun jambu biji yang lebih besar dengan perbandingan kombinasi 3:1 terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan diameter daerah hambat 12,67 mm karena memiliki efek sinergisme. Hal ini juga disebabkan ekstrak daun jambu biji memiliki konsentrasi lebih besar dibandingkan ekstrak etanol jambu mete sehingga lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dibandingkan ekstrak tunggal dari kedua ekstrak. Diasumsikan efektivitas ekstrak daun jambu biji meningkat jika dikombinasikan dengan ekstrak daun jambu mete bukan dalam ekstrak tunggal. Kemampuan hambatan yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun jambu biji adanya senyawa metabolit sekunder yang dimilikinya yaitu tanin. Tanin merupakan senyawa yang bersifat polar dan memiliki kemampuan dengan berikatan dengan protein melalui jembatan hidrogen pada dinding sel bakteri sehingga menyebabkan turunnya permeabilitas dinding sel (Maryati dkk 2008). Tanin dapat digunakan sebagai antibakteri karena mempunyai gugus fenol, sehingga tanin mempunyai sifat-sifat seperti alkohol yaitu bersifat antiseptik yang dapat digunakan sebagai komponen antimikroba (Naim,2004). Cara kerja antibakteri adalah dengan cara mengkerutkan dinding sel/membrane sel sehingga terganggunya permeabilitas sel, akibat terganggunya permeabilitas sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan terhambat/mati (Ajizah, 2004).

Kandungan senyawa kimia lain yang berperan dalam aktivitas antibakteri pada daun jambu biji dan daun jambu mete adalah alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina 2008). Saponin memiliki mekanisme kerja dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.* 2009). Menurut Cavalieri *et al.* (2005), senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma bocor dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida. Flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (IndoBIC 2005).

Hasil diameter daerah hambat pada kombinasi 1:1 yaitu sebesar 10,33 mm, 1:3 sebesar 10,33 mm dan 3:1 sebesar 12,67 mm. Diameter daerah hambat paling efektif dari ketiga kombinasi adalah 12,67 mm pada kombinasi 3:1. Peningkatan diameter daerah hambat karena adanya tingginya kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Semakin besar konsentrasi maka luas zona hambat akan semakin besar (Miksusanti *et. al.*, 2011). Zona hambat yang terbentuk oleh konsentrasi ekstrak tidak stabil dikarenakan adanya kerja yang tidak sinergis antara senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri dalam ekstrak (Marlina dan Chairul 2011). Faktor – faktor yang mempengaruhi ukuran diameter daerah hambat adalah kekeruhan suspensi bakteri, waktu pengeringan/peresapan suspensi bakteri ke dalam media MHA, perbedaan perlakuan, perbedaan alat, ketebalan agar, jarak antara sumuran. Pengujian ini menunjukkan bahwa kotrimoksazol jauh lebih baik dalam penghambatan terhadap *Eschericia coli* ATCC 25922 dibandingkan dengan sampel uji. Hal ini dikarenakan kotrimoksazol merupakan senyawa spesifik yang dapat langsung bekerja pada target sehingga memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan

tanaman tradisional yang belum memiliki senyawa spesifik dalam penghambatan, sehingga aktivitasnya tidak sekuat senyawa obat sintesis.

Berdasarkan hasil diameter daerah hambat di analisis dengan *One Sample Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat data tersebut terdistribusi normal atau tidak kemudian diperoleh data yang menunjukkan terdistribusi normal $>0,383$ sehingga dapat dilakukan uji ANOVA *one way*. Pengujian pada setiap sampel uji terdapat perbedaan nyata dalam menghambat *Escherichia coli* ATCC 25922 yang ditunjukkan pada tabel diameter daerah hambat hasil uji *Tukey HSD*. Tabel *Homogeneous Subset* yang terbagi menjadi 5 bagian yang bertujuan untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki perbedaan secara signifikan. Terlihat dari sediaan uji terbagi dalam 5 subset, setiap subset mempunyai perbedaan signifikan dalam menghambat aktivitas antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Perbandingan kombinasi 1:1,1:3 dan jambu mete berada dalam satu subset yang artinya tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kontrol positif tidak sebanding dengan semua hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan. Hal tersebut ditunjukkan dari kotrimoksazol yang tidak berada satu subset dengan sediaan uji. Hasil analisis data statistik ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun jambu mete serta kombinasi keduanya dapat dilihat pada lampiran16.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) hasil dari kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan pada daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) dalam membunuh *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode dilusi, konsentrasinya adalah 25%.

Kedua, ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) atau kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri serta kombinasi 3:1 yang memiliki aktivitas penghambatan paling efektif yaitu sebesar 12,67 mm terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

B. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas kombinasi ekstrak etanol 96% daun jambu biji dan daun jambu mete :

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri dengan meningkatkan perbandingan kombinasi ekstrak.

Kedua, untuk memperoleh aktivitas antibakteri yang paling efektif dengan cara membandingkan beberapa metode ekstraksi serta dengan bakteri lain.

Ketiga, untuk mengetahui efek sinergis kombinasi ekstrak etanol 96% daun jambu biji dan daun jambu mete secara *in-vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, B. et al. (2009) *Einstein@Home search for periodic gravitational waves in early S5 LIGO data*. Physical Review D, 80 (4). 042003. ISSN 1550-7998 (doi:10.1103/PhysRevD.80.042003)
- Abdul Latief, Haji. 2012. *Obat Tradisional*. Jakarta : ECG
- Agedah C, Bawo DD, Nyananyo B. Identification of antimicrobial properties of cashew *Anacardium occidentale L.* (Family Anacardiaceae). J Appl Sci Environ. Manage. 2010. 14(3): 25-7.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava*) Bioscientiae. Volume 1, No. 1. Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat.
- Akhyar, 2010. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa* Griff.) terhadap *Vibrio harveyi*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.
- Alamsyah HK, Widowati 1, Sabdono A. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) dari perairan pulau panjang jepara terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*, *Journal Of Marine Research* 3:69-87
- Arul, Thangavel KP. Antioxidant and antimicrobial activity using different extracts of *Anacardium occidentale L.* International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. 2011. 2(3): 436-43.
- Ayepola OO, Ishola RO. Evaluation of antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* (Linn.), American-Eurasian Network for Scientific Information. 2009. 3(1): 1-3.
- Ansel CH. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Diterjemahkan oleh Farida Ibrahim. Edisi ke-4. Jakarta: UI-Press. Hlm 60-65.
- Bonang, G., Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium Dan Klinik*, PT. Gramedia, Jakarta.
- Brotosisworo. 1978. *Farmakognosi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Cahyono, B. 2010. *Sukses Budi Daya Jambu Biji di Pekarangan dan Perkebunan*. Andi, Yogyakarta.

- Carter GR, Wise DJ. 2004. *Essential of Veterinary Bacteriology and Mycology* 6. Ed. Iowa: Blackwell Publishing.
- Cavalieri, S.J., *et al.* 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American Society for Microbiology, USA.
- Chabi Sika K, *et al.* (2013). Indigenous knowledge and traditional management of cashew (*Anacardium occidentale L.*) genetic resources in Benin. *J. Exp. Biol. Agric. Sci.* 1(5):375-382
- Ciesla WP, Guerrant RL, 2003. *Infectious Diarrhea*. In: Wilson WR, Drew WL, Henry NK, *et al.*, ed.
- Dahake,P., Vishal,J., dan Arun,J. 2009. Antimicrobial screening of different extract of *Anacardium occidentale Linn.* Leaves. *IJCRGG.* (1/4): 856-858.
- Dalimartha Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor : Trobus Agriwidya.
- Dalimartha, S. (2008). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Jakarta: Perpustakaan Nasional RI
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Mediaka. hlm.80-81.
- Davis, W.W., dan T. R. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology.* 22: 659 – 665.
- Defria DP, Santun BR, Lelly Y, 2010. Efek Anti Diare Ekstrak Air Umbi Sarang Semut (*Mmercodia pendem*) Pada Mencit Putih (*Mus Muskulus*) *Prasiding SnaPP edisi Eksata* 2: 54-71
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm 4-11, 25-26.
- [Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. Halaman 194-197, 513-520, 536, 539-540,549-552.
- [Depkes RI]. 1999. *Good Laboratory Pratices*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ditjen POM, Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9-11-16.

- Fazali F, *et al.* 2011. Phytochemical screening, *in vitro* antioxidant activities of aqueous extract of *Anacardium occidentale* Linn. and its effects on endogenous antioxidant enzymes in hypercholesterolemic induced rabbits. *Research Journal of Biological Sciences*. 6(2): 69-74.
- Ganiswara, S. (2007). *Obat Otonom*. dalam Farmakologi dan Terapi ed.5. editor: Sulistia ganiswara. Jakarta: Departemen farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Hal: 36,56,57.
- Gillespie SH, Bamford KB. 2008. *At Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Edisi ketiga. Astikawati R, Safitri A, editor. Jakarta : Erlangga.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hapsah dan Hasanah, Y., 2011. *Budidaya Tanaman Obat dan Rempah*. USU Press. Medan.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Kosasih P, Iwang S. Penerjemah; Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemah dari: *Phytochemical Methods*.
- Herbie. T. (2015). *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta : Octopus Publishing House
- Indonesian, Biotechnology Information Centre (IndoBIC), 2005, *Senyawa Antimikroba Dari Tanaman*, http://indobic.Id/berita_detail.php?idberita=124 diakses pada tanggal 21 Januari 2008.
- Ismail, M., *et al.* (2012). Antibacterial Activity of Leaves Extract of Guava (*Psidium guajava*). *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*,3:1 2.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Ed ke-16. Gerard Bonang, penerjemah; Jakarta: EGC. Hlm 239,241-243. Terjemahan dari: *Review of Medical Mikrobiology*
- Jawetz, Z., Melnick & Adelberg. 2002. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII. Jakarta: Salemba Medika
- Jawetz Melnick, J.L., and Adelberg, E.A., 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Editor edisi bahasa Adisti adityaputri et al, Jakarta : EGC.
- Juliantina, F. R. 2008. Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *JKKI – Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.

- Kairupan PC, Fatimawati , Widya AL. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmakon Journal Ilmiah Farmasi* 3:93-98.
- Ketut Adnyana*, dkk 2004. Unit Bidang Ilmu Farmakologi-Toksikologi, Departemen Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha 10 Bandung 40132.
- Kurniawati, A. 2006. *Formulasi Gel Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) dengan Menggunakan Aquapec HV 505*. Skripsi. Jurusan Farmasi FMIPA Unpad. 64 hlm.
- Kusumaningsih A. 2010. Beberapa Bakteri Patogenik Penyebab Foodborne Disease Pada Bahan Pangan Asal Ternak. *Wartazoa* 20:103-111
- List P. H., P. C.Schmidt. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. Alih bahasa David Ellaby. Florida: CRC Press. Hal. 67. 71. 73. 107-111.
- Magdarina. 2010. *Morbiditas dan Mortalitas Diare pada Balita di Indonesia Tahun 2000-2007*.
- Maksum R. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: penerbit buku kedokteran EGC. Hlm: 125-129.
- Marlina, Eva dan Chairul Saleh. 2011. "Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl)", *Jurnal Kimia Mulawarman*, Vol. 8, No.2: 63-69
- Maryati, J., M. Karmila. 2008. *Pemanfaatan Daun Jambu Biji (Psidium guajava) Sebagai Alternatif Pengawetan Telur Ayam Ras* (Online). <http://isjd.pdiilipi.go.id.pdf>, diakses tanggal 16 Januari 2013
- Melliawati, R. 2009. *E. coli* dalam kehidupan manusia. *Bio trends/Vol.4/No.1/Th.2009*
- Miksusanti., Fitriya & Nike M. (2011). Aktivitas Campuran Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) *Jurnal Penelitian Sains*,14:40-47.
- Muttaqin, Arif & Sari, Kurmala. 2011. *Gangguan Gastrointestinal : Aplikasi Asuhan Keperawatan Medikal bedah*. Jakarta : Salemba medika.
- Naim, R. 2004. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. Fkh dan Sekolah Pascasarjana. IPB


- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha cuircas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 – 37.
- Obtrando. 2010. “*Anacardium Occidentale, L_ Jambu Mete*”. Dari buku ppot2. <http://obtrando.files.wordpress.com/2010/09/anacardium-occidentale-dari-bukupot2.pdf>
- Omojasola,P. F dan S. Awe. 2004. "The Antibacterial Activity of The Leaf Extract of *Anacardium occindetale* and *Gyssypium hirsutum* Against Some Selected Microorganisme", *Bioscience Research Communication*, Vol. 16, No.1: 25-28.
- Paramitha GW, Mutiara Soprima, Budi Hariyanto 2010. Perilaku Ibu Pengguna Botol Susu Dengan Kejadian Diare Pada Balita. *Meteri Kesehatan* 14 : 46-50
- Pramono, Gatot. 2007. *Aplikasi Component Display Theory dalam Multimedia dan Web Pembelajaran*. Departemen Pendidikan Nasional Pusat Teknologi Informasi dan Komunikasi Pendidikan.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga. Hlm. 188.
- Prastowo EA. 2013. *Standarisasi Simplisia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Prihatman, K., 2000, *Jambu Mete, Tentang Budidaya Pertanian, Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaaan*,BAPPENAS.
- Priyanto, A., dan Lestari, S., 2009, *Endoskopi Gastrointestinal*, 86, Salemba Medika, Jakarta.
- Procop GW, Cockerill F. 2003. *Enteritis Caused by Escherichia coli and Shigella and Salmonella Species*. Di dalam: Wilson WR, Drew WL, Henry NK, et al,Editors. *Current Diagnosis and Treatment in Infection Disease*. New York: Lange Medical Books. hlm 584-660
- Putra A.B.W. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap *Propionibacterium acne*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* Serta Uji Bioautografi [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta : EGC.

- Radji M., 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Ramyashree M, Krishna Ram H, Shivabasavaiah. 2012. Ethnomedical value of opuntia elatior fruits and its effect in mice. University of Mysore. Karnataka. India. *Journal of Pharmacy Research* : 4554-4558
- Rika Aswarita 2013. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) Dan Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*) Terhadap Daya Hambat *Escherichia Coli* Secara *In Vitro*. Aceh : Pendidikan Biologi PPs, Unsyiah. *Jurnal EduBio Tropika*, Volume 1, Nomor 2, hlm. 61-120.
- Rostina. 2007. Uji Aktivitas Hasil Penyarian Biji Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Terhadap Beberapa Mikroba Penyebab Infeksi Kulit, Karya Ilmiah Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Saragih, Yan Pieter dan Yadi Haryadi. 2003. *Seri Agribisnis: Mete (Budi Daya Jambu Mete dan Pengupasan Gelondong)*. Penebar Swadaya. Depok.
- Sarson MRR , Jane Wuisan, Henoch Awaloei 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bawang Merah (*Allium cepa L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Journal e-Biomedik* 2 :1-3.
- Sudarsono, dkk (2002). *Tumbuhan Obat II (Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan)*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional-Universitas Gadjah Mada.
- Sugeng Haryanto Spd. 2012. *Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia*. Gede Yogyakarta : Penerbit PALLMALL.
- Sukandar Elin Y., dkk,. 2013. *ISO Farmakoterapi Buku 1*. Jakarta: ISFI penerbitan. Hlm. 741-743
- Sulistiyawati, Dewi dan Sri Mulyati. 2009. "Uji Aktivitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale, L*) terhadap *Candida albicans*", *Biomedika*, Vol. 2, No.1: 47 - 50.
- Suraatmaja, Sudaryat. 2007. *Kapita Selekta Gastroenterologi*. Sagung Seto, Jakarta
- Suriawiria, U., 1985, *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Penerbit Angkasa, Bandung, 61-65
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Papas Sinar Sinanti. Jakarta.

- Tjay, Tan Hoan dan Raharja, Kirana. (2002), *Obat-Obat Penting: Khasiat Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi Kelima, Cetakan Kedua, Penerbit PT.Alex Media Komputindo, Jakarta.
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja, 2007, *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi Keenam, 262, 269-271, PT. Elex Media Komputindo, Jakarta
- Voigt, R, 1994, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi edisi 5, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal 170.
- Volk, W.A., dan Wheeler, M.F. 1988.*Mikrobiologi Dasar*. Jilid II. Terjemahan Soenartomo Adisoemarto. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Volk and Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar*, jilid 2. Edisi kelima. Erlangga . Jakarta.
- WHO. 2005. *The Treatment of Diarrhoea: a Manual for Physicians and Other Senior Health Workers*, 4th rev., World Health Organization, Geneva.
- Widiaty , W, 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji Untuk Mencegah Serangan Jamur *Saprolegnia sp* Pada Telur Ikan Patin [Skripsi]. Jatinangor : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Unpad.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto determinasi tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava L.*)



UPT- LABORATORIUM

No : 093/DET/UPT-LAB/20/X/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Fanny Atrisca Devi
NIM : 19133870 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Jambu biji (*Psidium guajava L.*)**

Determinasi berdasarkan Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16a. golongan 10. 239b – 243b – 244b – 248b – 249b – 250a – 251b – 253b – 254b – 255a. familia 94. Myrtaceae. 1b – 2a. 2. Psidium. *Psidium guajava L.*

Deskripsi I :

Habitus : Pohon, tinggi 3 – 10 m.


Batang : Percabangan monopodial, berkayu, kulit perang, licin, terkelupas dalam potongan. Ruas tangkai teratas segiempat tajam.

Daun : Tunggal, berhadapan, tepi rata. Daun muda berbulu abu-abu. Daun bertangkai pendek, memanjang, pangkal runcing, ujung tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, seperti kertas, panjang 8,2 – 9 cm, lebar 4 – 4,2 cm. Daun penumpu tidak ada.

Bunga : Beraturan, di ketiak, bertangkai, dalam payung berbunga 1 – 3, tangkai 1 – 4 cm. Tabung kelopak bentuk lonceng atau corong, panjang 0,5 cm; pinggirannya tidak rontok, panjang lk 1 cm. Daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 1,5 -2 cm, putih, segera rontok. Benang sari pada tonjolan dasar bunga yang berbulu, putih, pipih dan lebar. Bakal buah tenggelam, beruang 4 – 5.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46 Jakarta Pusat, 1978.


Surabaya, 21 Oktober 2016
Tipe Determinasi



Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Foto determinasi tanaman daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)



UPT- LABORATORIUM

No : 088/DET/UPT-LAB/20/VI/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :


Nama : Fanny Atrisca Devi
NIM : 19133870 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi


Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)**
Determinasi berdasarkan Steenis : FLORA
1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177a – 178a. familia 68. Anacardiaceae.
1a – 2a. 2. Anacardium. *Anacardium occidentale L.*

Deskripsi :

Habitus : Pohon, berbatang bengkok, bercabang dekat tanah.
Batang : Percabangan monopodial. Ranting hanya berdaun pada ujungnya.
Daun : Tunggal, bertangkai, bulat telur terbalik, pangkal runcing, ujung melekuk ke dalam, gundul, 13,5 – 14,5 kali 7,9 – 8,4 cm.
Bunga : Berumah satu, berkelamin campuran. Malai rata, lebar 15 -25 cm, berambut. Daun pelindung bulat telur memanjang lebar, meruncing, panjang 0,5 – 1 cm. Anak tangkai bunga 2 – 5mm. Kelopak berambut, tinggi 4 – 5 mm. Daun mahkota runcing, berambut, putih, segera berganti warna merah. Panjang lk 1 cm, tonjolan dasar bunga sangat kecil. Bunga jantan: tangkai sari panjang 1 cm; staminodia terkurung dalam mahkota; putik rudimenter, terkurung dalam tabung benang sari. Bunga betina; benang sari panjang lk 6 mm; staminodia 2 – 4 mm; bakal buah oval lebar.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Jember, 21 Oktober 2016
Tim Determinasi

Dr. Kartamah Wirjosoendjojo, SU.



Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudl.ac.id, e-mail : info@setiabudl.ac.id

**Lampiran 3. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering
sebuk daun jambu biji & daun jambu mete**

Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering

Bobot basah(g)		Bobot kering (g)		Rendemen (%)	
Daun Jambu Biji	Daun Jambu Mete	Daun Jambu Biji	Daun Jambu Mete	Daun Jambu Biji	Daun Jambu Mete
4	4,5	2,4	1,7	60	37,78

Perhitungan bobot basah terhadap bobot kering sebagai berikut :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} \text{ Jambu Biji} = \frac{2,4}{4} \times 100 \% = 60 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} \text{ Jambu Mete} = \frac{1,7}{4,5} \times 100 \% = 37,78 \%$$

Lampiran 4. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji & daun jambu mete

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji

Replikasi	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Susut Pengeringan (%)
1	2.000	1,83	9,4
2	2.000	1,82	9
3	2.000	1,83	9,4

$$\text{Rata - rata} = \frac{9,4+9+9,4}{3} = 9,27$$

Jadi persentase rata – rata susut pengeringan serbuk daun jambu biji adalah 9,27%

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu mete

Replikasi	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Susut Pengeringan (%)
1	2.000	1,72	9,4
2	2.000	1,71	9,5
3	2.000	1,72	9,4

$$\text{Rata - rata} = \frac{9,4+9,5+9,4}{3} = 9,43$$

Jadi persentase rata – rata susut pengeringan serbuk daun jambu mete adalah 9,43%

Lampiran 5. Perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu biji & jambu mete

Perhitungan Kadar Rendemen Ekstrak

Bobot serbuk (g)		Bobot ekstrak (g)		Rendemen (%)	
Daun Jambu Biji	Daun Jambu Mete	Daun Jambu Biji	Daun Jambu Mete	Daun Jambu Biji	Daun Jambu Mete
500	500	142 g	196,62 g	28,4%	38,32%

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk}} = 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen daun jambu biji} = \frac{142}{500} \times 100 \% = 28,4 \%$$

$$\% \text{ Rendemen daun jambu mete} = \frac{196,62}{500} \times 100 \% = 38,32 \%$$

Lampiran 6. Perhitungan pembuatan larutan ekstrak dilusi

Membuat larutan ekstrak dilusi

$$\text{Konsentrasi 50\%} = \frac{50}{100} = \frac{5}{10} = 0,5 \text{ gr}$$

$$\text{DMSO 1\%} = \frac{1}{100} = \frac{0,1}{10} = 0,1 \text{ ml di ad kan Aq 10 ml}$$

0,5 gr ekstrak + 1 ml
DMSO 1%
dihomogenkan



Pipet 1 ml

Lampiran 7. Pembuatan larutan kombinasi ekstrak sediaan uji

1. Pembuatan larutan kombinasi 1:1. Mengambil 0,5 ml larutan ekstrak daun jambu biji dan 0,5 ml larutan ekstrak daun jambu mete kemudian homogenkan.
2. Pembuatan larutan kombinasi 1:3. Mengambil 0,25 ml larutan ekstrak daun jambu biji dan 0,75 ml larutan ekstrak daun jambu mete kemudian homogenkan.
3. Pembuatan larutan kombinasi 3:1. Mengambil 0,75 ml larutan ekstrak daun jambu biji dan 0,25 ml larutan ekstrak daun jambu mete kemudian homogenkan.

Lampiran 8. Foto tanaman jambu biji, serbuk daun jambu biji dan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)



Tanaman jambu biji



Serbuk daun jambu biji



Ekstrak daun jambu biji

Lampiran 9. Foto tanaman jambu mete, serbuk daun jambu mete dan ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)



Tanaman jambu mete



Serbuk daun jambu mete



Ekstrak daun jambu mete

Lampiran 10. Gambar alat penelitian

Botol maserasi



Incubator



Autoclaf



Moisture Balance



Oven



Vakuum evaporator

Lampiran 11. Formulasi dan pembuatan media

a. Formulasi dan pembuatan Brain Heart Infusion (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
Aquadest	1000 ml

Reagen – reagen diatas dilarutkan dalam Aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian di sterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998)

b. Formulasi dan pembuatan Endo Agar

Pepton from maeat	10,0 gram
Di potassium hydrogen fosfat	3,5 gram
Laktosa	10,0 gram
Sodium sulfit	2,5 gram
FuchSION	0,4 gram
Agar – agar	12,5 gram

pH 7,4

Reagen – reagen diatas dilarutkan dalam Aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian di sterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri.

c. Sulfide indol motility (SIM)

Pepton from casein	20 gram
Pepton from meat	6 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,2 gram
Sodium thiosulfate	0,2 gram
Agar – agar	0,2 gram
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan - bahan diatas dilarutkan dalam Aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian di sterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Bridson 1998).

d. Klinger Iron Agar (KIA)

Pepton from casein	15 gram
Pepton from meat	5 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 gram
Meat extract	3 gram
Yeast extract	3 gram
Sodium chloride	5 gram
Laktosa	10 gram
Glukosa	1 gram

Sodium thiosulfate	0,5 gram
Phenol red	0,024 gram
Agar – agar	12 gram
Aquadest	ad 1000 ml, pH 7,4

Bahan - bahan diatas dilarutkan dalam Aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian di sterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Bridson 1998).

e. Lysine Iron Agar (LIA)

Pepton from casein	5 gram
Yeast extract	3 gram
Glukosa	1 gram
Lysine monohidrchloride	10 gram
Sodium thiosulfate	0,04 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 gram
Bromo cresol purple	0,02 gram
Agar – agar	12,5 gram
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan - bahan diatas dilarutkan dalam Aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian di sterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Bridson 1998).

f. Citrate Agar

Ammonium hydrogen fosfat	1 gram
DI – potassium hydrogen fosfat	1 gram
Sodium chloride	5 gram
Magnesium sulfat	0,2 gram
Bromo thymol blue	0,08 gram
Agar – agar	12,5 gram
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan - bahan diatas dilarutkan dalam Aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian di sterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Bridson 1998).

**Lampiran 12. Foto hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu
biji (*Psidium guajava* L.)**



Alkaloid



Flavonoid



Saponin



Tanin

Lampiran 13. Foto hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)



Alkaloid



Flavonoid



Tanin



Saponin

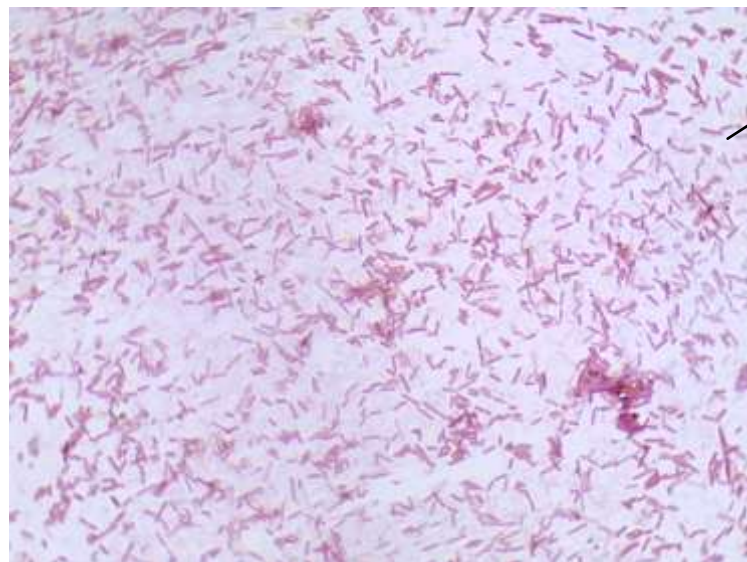
Lampiran 14. Foto hasil identifikasi koloni, uji biokimia, dan identifikasi mikroskopis *Escherichia coli* ATCC 25922



Identifikasi secara makroskopis



Uji biokimia



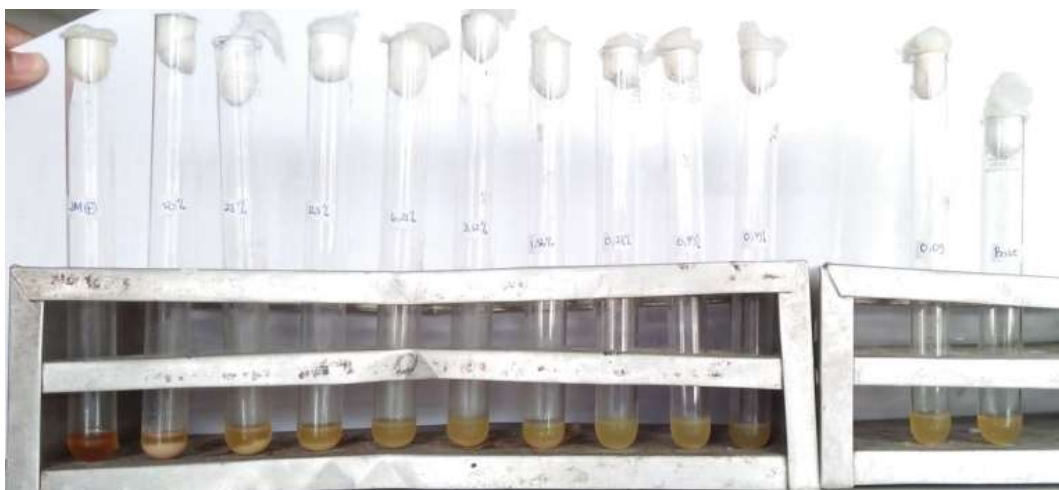
Gram negatif
Sel bakteri berwarna merah
dan bentuk batang

Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram

Lampiran 15. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara dilusi



Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 pada pengenceran tabung



Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu mete terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 pada pengenceran tabung

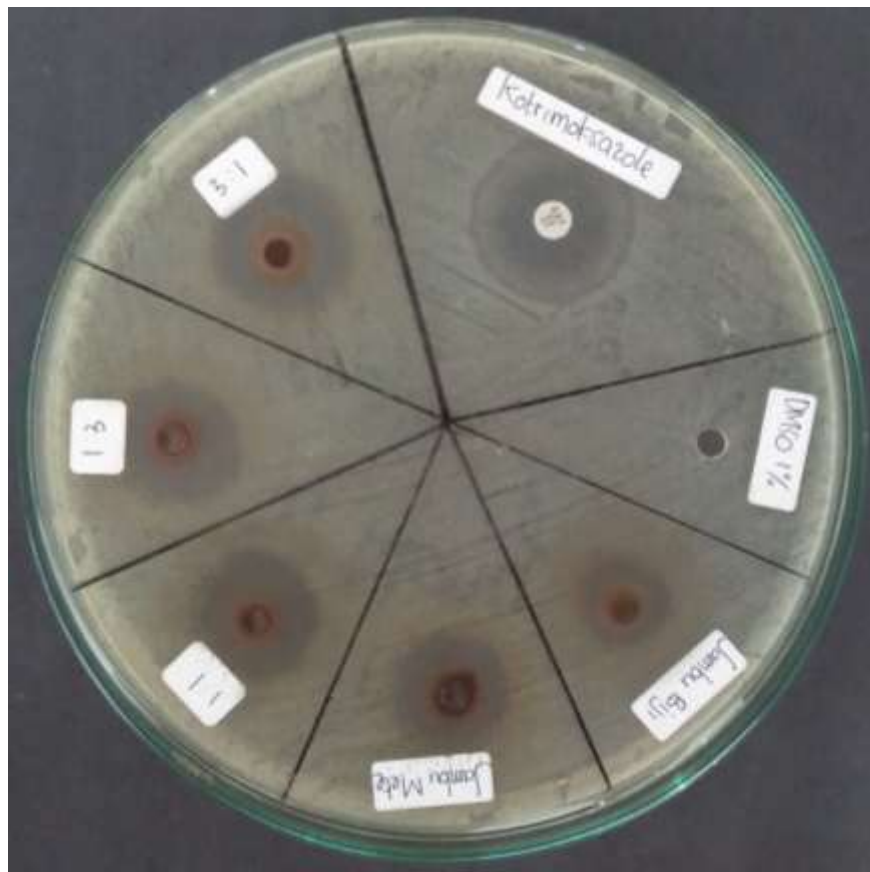


Foto hasil inokulasi ekstrak daun jambu biji terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 yang ditanam pada media *Endo Agar*



Foto hasil inokulasi ekstrak daun jambu mete terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 yang ditanam pada media *Endo Agar*

Lampiran 15. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara difusi



Keterangan

Kontrol – : DMSO 1%

Kontrol + : kotrimoksazol

Ekstrak tunggal jambu biji

Ekstrak tunggal jambu mete

Perbandingan kombinasi 1:1 (ekstrak jambu biji : ekstrak jambu mete)

Perbandingan kombinasi 1:3 (ekstrak jambu biji : ekstrak jambu mete)

Perbandingan kombinasi 3:1 (ekstrak jambu biji : ekstrak jambu mete)

Lampiran 16. Hasil uji statistik

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
DIAMETER	21	9.62	4.863	0	17

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DIAMETER
Normal Parameters ^{a,b}	N	21
	Mean	9.62
	Std. Deviation	4.863
Most Extreme Differences	Absolute	.198
	Positive	.119
	Negative	-.198
	Kolmogorov-Smirnov Z	.907
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.383

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

DIAMETER

					95% Confidence Interval for Mean	
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
KOTRIMOKSAZOL	3	16.67	.577	.333	15.23	18.10
DMSO 1%	3	.00	.000	.000	.00	.00
JAMBU BIJI	3	7.67	.577	.333	6.23	9.10
JAMBU METE	3	9.67	.577	.333	8.23	11.10
KOMBINASI 1:1	3	10.33	.577	.333	8.90	11.77
KOMBINASI 1:3	3	10.33	.577	.333	8.90	11.77
KOMBINASI 3:1	3	12.67	.577	.333	11.23	14.10
Total	21	9.62	4.863	1.061	7.41	11.83

Descriptives

DIAMETER

	Minimum	Maximum
KOTRIMOKSAZOL	16	17
DMSO 1%	0	0
JAMBU BIJI	7	8
JAMBU METE	9	10
KOMBINASI 1:1	10	11
KOMBINASI 1:3	10	11
KOMBINASI 3:1	12	13
Total	0	17

Test of Homogeneity of Variances

DIAMETER

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.667	6	14	.061

ANOVA

DIAMETER

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	468.952	6	78.159	273.556	.000
Within Groups	4.000	14	.286		
Total	472.952	20			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

DIAMETER
Tukey HSD

(I) VARIABEL	(J) VARIABEL				95% Confidence Interval	
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
KOTRIMOKSAZOL	DMSO 1%	16.667*	.436	.000	15.18	18.16
	JAMBU BIJI	9.000*	.436	.000	7.51	10.49
	JAMBU METE	7.000*	.436	.000	5.51	8.49
	KOMBINASI 1:1	6.333*	.436	.000	4.84	7.82
	KOMBINASI 1:3	6.333*	.436	.000	4.84	7.82
	KOMBINASI 3:1	4.000*	.436	.000	2.51	5.49
DMSO 1%	KOTRIMOKSAZOL	-16.667*	.436	.000	-18.16	-15.18
	JAMBU BIJI	-7.667*	.436	.000	-9.16	-6.18
	JAMBU METE	-9.667*	.436	.000	-11.16	-8.18
	KOMBINASI 1:1	-10.333*	.436	.000	-11.82	-8.84
	KOMBINASI 1:3	-10.333*	.436	.000	-11.82	-8.84
	KOMBINASI 3:1	-12.667*	.436	.000	-14.16	-11.18
JAMBU BIJI	KOTRIMOKSAZOL	-9.000*	.436	.000	-10.49	-7.51
	DMSO 1%	7.667*	.436	.000	6.18	9.16
	JAMBU METE	-2.000*	.436	.006	-3.49	-.51
	KOMBINASI 1:1	-2.667*	.436	.000	-4.16	-1.18
	KOMBINASI 1:3	-2.667*	.436	.000	-4.16	-1.18
	KOMBINASI 3:1	-5.000*	.436	.000	-6.49	-3.51
JAMBU METE	KOTRIMOKSAZOL	-7.000*	.436	.000	-8.49	-5.51
	DMSO 1%	9.667*	.436	.000	8.18	11.16
	JAMBU BIJI	2.000*	.436	.006	.51	3.49
	KOMBINASI 1:1	-.667	.436	.726	-2.16	.82
	KOMBINASI 1:3	-.667	.436	.726	-2.16	.82
	KOMBINASI 3:1	-3.000*	.436	.000	-4.49	-1.51
KOMBINASI 1:1	KOTRIMOKSAZOL	-6.333*	.436	.000	-7.82	-4.84

	DMSO 1%	10.333*	.436	.000	8.84	11.82
	JAMBU BIJI	2.667*	.436	.000	1.18	4.16
	JAMBU METE	.667	.436	.726	-.82	2.16
	KOMBINASI 1:3	.000	.436	1.000	-1.49	1.49
	KOMBINASI 3:1	-2.333*	.436	.002	-3.82	-.84
KOMBINASI 1:3	KOTRIMOKSAZOL	-6.333*	.436	.000	-7.82	-4.84
	DMSO 1%	10.333*	.436	.000	8.84	11.82
	JAMBU BIJI	2.667*	.436	.000	1.18	4.16
	JAMBU METE	.667	.436	.726	-.82	2.16
	KOMBINASI 1:1	.000	.436	1.000	-1.49	1.49
	KOMBINASI 3:1	-2.333*	.436	.002	-3.82	-.84
KOMBINASI 3:1	KOTRIMOKSAZOL	-4.000*	.436	.000	-5.49	-2.51
	DMSO 1%	12.667*	.436	.000	11.18	14.16
	JAMBU BIJI	5.000*	.436	.000	3.51	6.49
	JAMBU METE	3.000*	.436	.000	1.51	4.49
	KOMBINASI 1:1	2.333*	.436	.002	.84	3.82
	KOMBINASI 1:3	2.333*	.436	.002	.84	3.82

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

DIAMETER

Tukey HSD^a

VARIABEL	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
DMSO 1%	3	.00				
JAMBU BIJI	3		7.67			
JAMBU METE	3			9.67		
KOMBINASI 1:1	3			10.33		
KOMBINASI 1:3	3			10.33		
KOMBINASI 3:1	3				12.67	
KOTRIMOKSAZOL	3					16.67
Sig.		1.000	1.000	.726	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.p

