

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
JAMBU BIJI (*Psidium guajava L*) DAN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L*)
TERHADAP *Shigella dysenteriae* ATCC 9361**



Diajukan oleh:

**Arum Dian Kusuma
19133866A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L*) DAN JAMBU METE
(*Anacardium occidentale L*) TERHADAP *Shigella dysenteriae* ATCC 9361**



Oleh :
Arum Dian Kusuma
19133866A

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017

HALAMAN PENGESAHAN

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L*) DAN DAUN JAMBU
METE (*Anacardium occidentale L*) TERHADAP *Shigella dysenteriae* ATCC
9361**

Oleh:
Arum Dian Kusuma
19133866A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 7 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

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

Drs. Edy Prasetya, M.Si

Penguji :

1. Dra. Nony Puspawati, M.Si
2. Sri Rejeki Handayani M.Farm., Apt
3. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc
4. Iswandi S.Si, M.Farm., Apt.

1.....

3.....

2.....

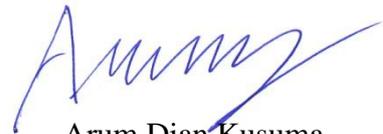
4.....

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan 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, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2017



Arum Dian Kusuma

PERSEMBAHAN

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

(QS. AL-Insyirah : 5)

“Menuntut ilmu itu wajib bagi muslim laki-laki dan perempuan”

(Sabda Nabi Muhammad SAW.)

*“ Barang siapa yang ingin selamat di dunia harus dengan ilmu
Barang siapa yang ingin selamat di akhirat harus dengan ilmu dan
Barang siapa yang ingin selamat ke duanya harus dengan ilmu “*

(Sabda Nabi Muhammad SAW.)

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

Allah Subhanahu wa Ta'ala

Bapak ibuku tercinta

Kakak- kakak ku tersayang

Seseorang yang ku sayang

Sahabat-sahabatku dan Rekan seperjuanganku

Agama, almamater, bangsa dan Negara

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirahim, puji syukur kehadirat Allah SWT, atas segala nikmat, karunia dan hidayahNya selama ini. Semoga doa, shalawat tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, keluarganya dan sahabat serta siapa saja yang mendapat petunjuk hingga hari kiamat, Amin.

Alhamdulillahirobbil'alamin, dengan segala rahmat-Nya akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L*) DAN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L*) TERHADAP *Shigella dysenteriae* ATCC 9361”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan farmasi (S. Farm) di fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penulis menyadari sepenuhnya dengan segala keterbatasan dan tanpa dukungan, bantuan, bimbingan dari berbagai pihak yang bersangkutan, skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik. Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara moril maupun materiil. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta dan selaku penguji yang telah memberikan dukungan, koreksi sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
3. Iswandi, M.Farm., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, nasehat, waktu, dukungam, masukan dan petunjuk dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Drs. Edy Prasetya M.Si selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, nasehat, waktu, dukungan, masukan dan petunjuk dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Dosen penguji selaku penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam menyempurnakan skripsi ini.

6. Kedua orang tua dan kakak – kakak tercinta yang telah memberikan kasih sayang dan doa tiada hentinya, serta dukungan baik moral, spiritual dan material sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Seseorang yang jauh disana yang telah memberikan motivasi bantuan dan semangat sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Seluruh sahabat, teman-teman seperjuangan S1 farmasi angkatan 2013, dosen dan staf pegawai di Universitas Setia Budi.
9. Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan segala yang telah kalian berikan kepada penulis. Akhir kata penulis berharap mudah-mudahan skripsi dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan pembaca.

Surakarta, Juni 2017



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Jambu Biji	5
1. Sistematika tanaman jambu biji	5
2. Morfologi tanaman jambu biji	5
3. Khasiat tanaman jambu biji.....	6
4. Kandungan kimia tanaman jambu biji	6
4.1. Flavonoid	7
4.2. Tanin	7
4.3. Saponin.....	7
4.4. Steroid	7
4.5. Alkaloid.....	7
B. Tanaman Jambu Mete	8
1. Sistematika Tanaman	8

2. Morfologi tanaman jambu mete	9
3. Khasiat tanaman jambu mete	9
4. Kandungan kimia tanaman jambu mete	10
C. Simplisia	10
1. Pengertian simplisia	10
2. Pengumpulan Simplisia.....	11
3. Pemilihan simplisia	11
4. Pengeringan simplisia	11
D. Ekstraksi.....	11
1. Pengertian ekstrak	11
2. Pengertian ekstraksi	12
3. Maserasi	12
E. Pelarut	13
F. Disentri.....	13
1. Pengertian disentri.....	13
2. Penyebab disentri	14
3. Manifestasi klinik.....	14
4. Pengobatan disentri	15
G. <i>Shigella dysenteriae</i>	15
1. Klasifikasi <i>Shigella dysenteriae</i>	15
2. Morfologi dan Identifikasi <i>Shigella dysenteriae</i>	15
3. Patogenesis dan patologi	16
4. Gambaran klinik.....	17
H. Antibakteri	17
1. Definisi antibakteri.....	17
2. Mekanisme antibakteri	18
2.1 Menghambat sintesis dinding sel bakteri.	18
2.2 Menghambat metabolisme sel bakteri.....	18
2.3 Mengganggu keutuhan membran sel bakteri.	18
2.4 Menghambat sintesis protein sel bakteri.....	19
2.5 Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri	19

I. Uji Aktivitas Antibakteri	19
1. Metode dilusi.....	19
2. Metode Difusi	20
J. Media	21
1. Pengertian media	21
2. Macam macam media	21
2.1 Media padat.....	21
2.2 Media cair	21
2.3 Media semi padat atau semi cair	21
3. Klasifikasi Media	22
3.1 Media sintetik.....	22
3.2 Media kompleks.	22
3.3 Media anaerob.....	22
3.4 Media biakan khusus.	22
3.5 Media selektif dan diferensial	22
3.6 Media pengayaan	23
K. Sterilisasi.....	23
L. Kotrimoksazol.....	24
M. Landasan Teori	24
N. Hipotesis	26

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel.....	28
1. Populasi.....	28
2. Sampel.....	28
B. Variabel Penelitian.....	28
1. Identifikasi variabel utama.....	28
2. Klasifikasi variabel utama.....	29
3. Definisi operasional variabel utama.....	29
C. Bahan dan Alat.....	31
1. Bahan.....	31
2. Alat.....	31

D. Jalanya penelitian.....	32
1. Pengumpulan simplisia	32
2. Determinasi tanaman	32
3. Pembuatan serbuk	32
4. Penetapan susut pengeringan daun jambu biji dan daun jambu mete	33
5. Pembuatan ekstrak etanol	33
6. Uji bebas etanol.....	33
7. Pengujian kandungan kimia	34
8. Pembuatan kombinasi ekstrak.....	34
9. Sterilisasi.....	35
10. Pembuatan suspensi bakteri uji	35
11. Identifikasi bakteri uji	35
11.1. Identifikasi bakteri secara makroskopis.....	35
11.2. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan	36
11.3. Identifikasi bakteri uji secara biokimia.....	36
12. Pengujian aktivitas antibakteri	37
E. Analisis Hasil.....	39

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil identifikasi tanaman daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) dan tanaman jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L)	43
1.1. Identifikasi tanaman jambu biji.	43
1.2. Identifikasi tanaman jambu mete.....	43
2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete.....	43
3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk	44
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete.....	45
5. Hasil pengujian bebas alkohol etanol 96% daun jambu biji dan daun jambu mete.....	45

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete	46
7. Hasil pembuatan suspensi bakteri.....	47
8. Hasil identifikasi bakteri uji	47
8.1. Hasil identifikasi makroskopis secara goresan	47
8.2. Hasil identifikasi secara mikroskopis dengan pewarnaan gram.....	48
8.3. Identifikasi bakteri uji secara biokimia	49
9. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara dilusi.	51
10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete beserta kombinasinya terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara difusi	53

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan	59
B. Saran	59

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji dan daun jambu mete.....	44
Tabel 2.	Hasil penetapan susut pengeringan daun jambu biji dan daun jambu mete	44
Tabel 3.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete.....	45
Tabel 4.	Hasil identifikasi bebas alkhohol.....	45
Tabel 5.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete.....	46
Tabel 6.	Hasil identifikasi biokimia pada <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 ...	50
Tabel 7.	Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361	52
Tabel 8.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun jambu biji dan ekstrak etanol 96% daun jambu mete terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361.....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Tanaman jambu biji	5
Gambar 2.	Tanaman jambu mete.....	8
Gambar 3.	Skema jalanya penelitian	40
Gambar 4.	Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361	41
Gambar 5.	Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361	42
Gambar 6.	Hasil identifikasi bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara inokulasi.....	48
Gambar 7.	Gambar hasil identifikasi mikroskopis <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361	49
Gambar 8.	Gambar Hasil identifikasi bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara biokimia.	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil determinasi	65
Lampiran 2.	Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji dan daun jambu mete.....	67
Lampiran 1.	Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete.	68
Lampiran 4.	Perhitungan kadar rendemen ekstrak.....	69
Lampiran 5.	Pembuatan larutan stok sediaan uji	70
Lampiran 6.	Foto daun jambu biji dan daun jambu mete	71
Lampiran 7.	Foto ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete.	72
Lampiran 8.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji ..	73
Lampiran 9.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu mete.	74
Lampiran 10.	Foto hasil uji makroskopis, uji mikroskopis dan uji biokimia bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361.....	75
Lampiran 11.	Foto hasil uji dilusi ekstrak etanol daun jambu biji terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361.....	76
Lampiran 12.	Foto hasil uji dilusi ekstrak etanol daun jambu mete terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361.....	77
Lampiran 13.	Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan jambu mete serta kombinasi kedua ekstrak terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara difusi.....	78
Lampiran 14.	Foto alat alat yang digunakan dalam penelitian	79
Lampiran 15.	Hasil analilisis data dengan stastistik menggunakan one way anova.....	80
Lampiran 16.	Formulasi dan pembuatan media.....	83

INTISARI

Kusuma A.D., 2017 UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L.*) DAN DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L.*) TERHADAP *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 , SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Daun jambu biji dan daun jambu mete secara tradisional dapat mengobati disentri. Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menggunakan 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%. Konsentrasi ekstrak kombinasi yang digunakan untuk uji difusi adalah 12,5%. Perbandingan kombinasi ekstrak etanol yang digunakan adalah 1:1,1:3,dan 3:1.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete adalah 12,5%. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 adalah kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:3.

Kata kunci : Antibakteri, *Shigella dysenteriae*, Kombinasi, Daun jambu biji (*Psidium guajava L.*), daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)

ABSTRACT

Kusuma,A.D., 2017, TEST OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY COMBINATION ETHANOL EXTRACT OF GUAVA LEAF (*Psidium guajava L.*) AND CASHEW LEAF (*Anacardium occidentale L.*) AGAINST *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, RESEARCH PAPER, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI SURAKARTA.

Guava leaves and cashew leaves can use as traditional medicine for dysentery. In the previous research, ethanol extract of guava leaf and cashew leaf have antibacterial activity against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. This study aims to know the antibacterial activity of ethanol extract combination of guava leaves and cashew leaves against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Antibacterial activity test of ethanol extract guava leaves and cashew leaves on *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 using dilution and diffusion method. The extract concentration used for the dilution method was 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.12%; 1.56%; 0.78%; 0.39%; 0.19%; 0.09%. The concentration of the combination extract used for the diffusion test was 12.5%. Comparison of ethanol extract combination used was 1: 1.1: 3, and 3: 1.

Minimum Bactericid Concentration (MBC) ethanol extract of guava leaves and ethanol extract of cashew leaf was 12.5%. The combination of ethanol extract guava leaves and cashew leaves most active to inhibiting the growth of *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 is a combination of extracts with a ratio of 1:3.

Keywords: *Antibacterial, Shigella dysenteriae, Combination, Guava Leaves (Psidium guajava L.), Cashew leaves (Anacardium occidentale L.)*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Disentri merupakan penyakit infeksi saluran pencernaan yang ditandai dengan diare cair akut, tinja pada penderita penyakit disentri diketahui mengandung darah dengan atau tanpa disertai lendir, pada umumnya disertai nyeri perut, demam, anoreksia, dan tenesmus. Darah tersebut biasanya berasal dari saluran cerna yang terluka dan sering berasal dari dinding usus besar. Komplikasi yang dapat terjadi diantaranya adalah perforasi usus, megakolon toksik, prolapsus rekti kejang, anemia septik, sindrom hemolitik uremia hingga menyebabkan kematian (Yatim 2001) . Resiko kematian paling tinggi terjadi pada bayi, anak yang tidak diberi ASI, anak yang sembuh dari campak, anak-anak dan dewasa yang kekurangan gizi, lanjut usia (> 50 tahun), pasien yang mengalami dehidrasi parah dan dalam keadaan tidak sadar (WHO 2005).

Berdasarkan penyebabnya, disentri dulu dikenal hanya dua macam disentri yakni disentri basiler yang disebabkan *Shigella spp.* dan disentri amoeba yang disebabkan oleh *Entamoeba histolytica*. Sekarang ini telah diketahui banyak penyebab lain berupa parasit dan bakteri, yaitu *Shigella spp*, *Salmonella spp*, *Campylobacter spp*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pleisomonas shigelloides*, ETEC (*Enterotoxigenic E coli*), *Aeromonus spp*, *Entamoeba histolytica* atau *Giardia lamblia* (Simanjutak 1991).

Berdasarkan laporan epidemiologi menunjukkan bahwa 600.000 dari 140 juta pasien terinfeksi *Shigella* meninggal setiap tahun diseluruh dunia. Data di Indonesia menunjukkan 29% kematian pada umur 1 sampai 4 tahun disebabkan disentri karena infeksi *Shigella* (Nafianti & Sinuhaji 2005).

Infeksi *Shigella* selalu terbatas di saluran cerna dan sangat mudah menular. Sanitasi dan kebersihan seseorang yang buruk, tidak tersedianya air, terjadinya malnutrisi, serta terjadinya peningkatan kepadatan penduduk merupakan beberapa faktor yang menyebabkan tersebarnya penyakit disentri. *Shigella* dapat menular melalui makanan, jari-jari tangan, feses, dan lalat yang berasal dari orang yang

terinfeksi ke orang normal. Penyakit ini banyak terjadi pada anak umur 1-10 tahun dan menjadi suatu masalah kesehatan yang sangat penting untuk diperhatikan, karena penderita dapat mengalami diare yang hebat hingga 20-30 kali sehari yang dapat mengakibatkan penderita kehilangan cairan tubuhnya terjadi dehidrasi jika tidak segera diatasi dehidrasi tersebut akan menyebabkan terjadinya kematian (Jawetz *et al.* 2012).

Pengobatan disentri dilakukan dengan pengobatan simtomatik dan pengobatan kausatif. Pengobatan kausatif ialah pengobatan dengan mematikan kuman penyebabnya dengan menggunakan antibakteri. Antibiotik terpilih untuk infeksi *Shigella* adalah ciprofloksasin, ampisilin, tetrasiklin dan kotrimoksazol, namun kasus resistensi dari *Shigella* terhadap antibiotik tersebut telah menyebar luas, sebagai akibat dari pemakaian antibiotik yang tidak rasional (Jawetz *et al.* 2010). Berdasarkan banyaknya kasus resistensi *Shigella* terhadap antibiotik, sehingga dalam penelitian ini akan menggunakan obat yang berasal dari tanaman tradisional yang berkhasiat sebagai antibakteri dan selanjutnya akan diuji aktivitas antibakterinya.

Tanaman tradisional yang dapat digunakan untuk pengobatan adalah jambu biji (*Psidium guajava L.*). Tanaman jambu biji (*Psidium guajava L.*) digunakan secara luas sebagai pengobatan tradisional untuk pengobatan dari diare, disentri, gastroenteritis, sakit perut, dan gangguan pencernaan (Birdi *et al.* 2010). Jambu biji kaya akan tanin, fenol flavonoid, minyak atsiri, lektin, vitamin dan asam lemak. Kandungan dari tanaman jambu biji yang dimanfaatkan sebagai obat diantaranya flavonoid dan tanin karena memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Ismail *et al.* 2012).

Tanaman obat lainnya yaitu tanaman jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). Bagian dari tanaman jambu mete yang sering digunakan sebagai obat adalah buah, daun maupun kulit batang. Daun jambu mete mengandung zat kimia seperti saponin, tanin-galat, flavonol, asam anakardiol, asam elagat, senyawa fenol, kardol, dan metil kardol, dan minyak atsiri (Dalimartha 2000). Secara tradisional, daun jambu mete digunakan untuk mengobati penyakit seperti : kencing manis, disentri dan radang mulut (Raina 2011).

Adanya penelitian terdahulu telah diketahui bahwa ekstrak etanol daun jambu mete terbukti efektif sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* (Arekemase *et. al.* 2011). Penelitian lain mengenai aktivitas daun jambu biji menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji daging buah putih dan daun jambu biji daging buah merah memiliki kemampuan daya hambat bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexnerri*, dan *Salmonella typhi* (Adyana, I Ketut dkk 2004). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa kedua tanaman tersebut dapat digunakan sebagai obat disentri yang diakibatkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*. Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian penggunaan kombinasi ekstrak etanol 96% daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yang merupakan salah satu bakteri penyebab disentri.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi. Metode maserasi merupakan metode penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam cairan penyari. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etanol 96% yang merupakan bahan pelarut dengan campuran etanol dan air yang menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi dan difusi. Keuntungan metode dilusi yaitu lebih teliti, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat ditentukan, serta memungkinkan adanya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Jawetz *et. al.* 2008). Selain metode dilusi, menggunakan metode difusi, metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al.* 1986).

B. Rumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini dibagi menjadi tiga yaitu sebagai berikut :

Pertama, Berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ?.

Kedua, manakah dari ekstrak etanol daun jambu biji, ekstrak etanol daun jambu mete, dan kombinasi ekstrak keduanya yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* ATCC 9361?.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

Pertama, untuk mengetahui berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kedua, untuk mengetahui perbandingan manakah dari ekstrak etanol daun jambu biji, ekstrak etanol daun jambu mete, dan kombinasi ekstrak keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat kepada masyarakat luas dalam bidang farmasi khususnya mengenai aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete dan sekaligus dimanfaatkan untuk membuka wawasan dan ilmu pengetahuan yang berkaitan dalam mengatasi masalah kesehatan di Indonesia.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jambu Biji

1. Sistematika tanaman jambu biji

Sistematika tanaman jambu biji berdasarkan taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: Psidium
Spesies	: <i>Psidium guajava</i> Linn (Parimin, 2005).



Gambar 1. Tanaman jambu biji (Herbie T 2012).

2. Morfologi tanaman jambu biji

Jambu biji (*Psidium guajava* L.) merupakan tanaman perdu atau pohon kecil dan bercabang banyak, tinggi 5 – 10 meter. Batang berkayu berbentuk bulat. Kulit batang licin dan mengelupas. Batang bercabang dan berwarna coklat kehijauan. Daun berupa daun tunggal berbentuk bulat telur dengan membulat. Tepi daun rata. Daun tumbuh berhadapan. Panjang daun 6-14cm dan lebarnya 3-6 cm. daun berwarna hijau kekuningan atau hijau. Bunga tunggal, bertangkai dan berada diketiak daun.

Kelopak bunga berbentuk corong dengan panjang 7-10 mm. mahkota berbentuk bulat telur dengan panjang 1,5cm. benang sari berbentuk pipih dan berwarna putih. Putik berbentuk bulat kecil, berwarna putih atau putih kekuningan. Buah buni berbentuk bulat telur, berwarna putih kekuningan. Bijinya keras, kecil, berwarna kuning kecoklatan. Akarnya merupakan akar tunggang yang berwarna kuning kecoklatan. (Herbie T 2012).

3. Khasiat tanaman jambu biji

Tanaman jambu biji putih atau *Psidium guajava L.* termasuk familia Myrtaceae. Jambu biji memiliki beberapa kelebihan, antara lain buahnya dapat dimakan sebagai buah segar, selain itu buah jambu biji 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 jambu biji seperti daun, kulit akar maupun akarnya dapat berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit seperti disentri, keputihan, sariawan, kurap, diare, radang lambung, gusi bengkak, dan peradangan mulut, serta kulit terbakar sinar matahari (Cahyono 2010). Daun jambu biji mempunyai manfaat bagi kesehatan yaitu sebagai antiinflamasi, antidiare, analgesik, antibakteri, antidiabetes, antihipertensi, mengurangi demam dan penambah trombosit. Tanaman jambu biji secara tradisional juga digunakan untuk pengobatan luka, luka borok, diare, kolera, hipertensi, obesitas dan pengendalian diabetes mellitus dan berkhasiat sebagai antitusif (El Sohafy, S.M., Metwalli, A.M., Harraz, F.M. and Omar, A.A. 2009).

4. Kandungan kimia tanaman jambu biji

Kandungan kimia pada daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) Kandungan kimia yang terdapat pada daun jambu biji selain tanin juga terdapat, asam ursolat, asam psidiolat, asam kratogolat, asam oleanoleat, asam guajaverin dan vitamin (Haryanto,S 2012). Hasil fitokimia dalam ekstrak daun jambu biji putih adalah senyawa flavonoid, tanin, triterpenoid, saponin, steroid, dan alkaloid (Arya, et al. 2012). (Bipul Biswas, Kimberly Rogers, Fredrick McLaughlin, Dwayne Daniels, and Anand Yadav 2013).

4.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan golongan polifenol sehingga memiliki sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid juga memiliki sejumlah gugus hidroksil sehingga pada umumnya larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, air, dan sebagainya. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Dewanti dan Wahyudi 2011).

4.2. Tanin. Tanin merupakan senyawa polifenol yang diduga mempunyai mekanisme kerja dengan cara merusak permeabilitas barrier dalam mikroorganisme, sehingga bersifat antibakteri (Harborne 1987). Efek antibakteri tanin mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri, akibat terganggunya permeabilitas sel, sel tidak bisa melakukan aktivitas sehingga pertumbuhannya terhambat (Dewanti dan Wahyudi 2011).

4.3. Saponin. Saponin adalah golongan senyawa glikosida yang umumnya larut dalam pelarut polar, misalnya etanol (Voigh 1995). Saponin juga merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin memiliki sifat spersisida, antimikroba, antiperadangan dan memiliki aktivitas sitotoksik (Tjay dan Rahardja 2002). Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah melibatkan pembentukan kompleks dengan sterol pada membran plasma sehingga menghancurkan semi permeabilitas sel, kemudian mengarah pada kematian sel (Kumalasari dan Sulistyani 2011).

4.4. Steroid. Steroid adalah senyawa yang terkandung dalam tumbuhan dan berperan sebagai pelindung. Senyawa yang berperan melindungi tersebut dibagi menjadi empat golongan steroid yaitu kukurbitasin, petuniasetron, nikandreon, dan witanolida dari beberapa spesies *solanaceae*. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada lisosom (Madduluri 2013).

4.5. Alkaloid. Alkaloid adalah basa organik yang mengandung amina sekunder, tersier, atau siklik. Alkaloid adalah golongan yang sangat heterogen

berkisar dari senyawa - senyawa sederhana sampai ke struktur pentasiklik. Banyak alkaloid adalah terpenoid di alam dan beberapa adalah steroid. Senyawa lainnya adalah senyawa senyawa aromatik (Fattoruso & Scafati 2008). Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan bakteri dinding bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri (Robinson 1998).

B. Tanaman Jambu Mete

1. Sistematika Tanaman

Sistematika tanaman jambu mete berdasarkan taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Anacardiaceae
Genus	: <i>Anacardium</i> L.
Spesies	: <i>Anacardium occidentale</i> L. (Herbie T, 2012).



Gambar 2. Tanaman jambu mete. (Herbie T 2012)

2. Morfologi tanaman jambu mete

Jambu mete (*Anacardium occidentale*) termasuk tumbuhan yang berkeping biji dua atau juga disebut tumbuhan berbiji belah. Nama yang tepat untuk mengklasifikasikan tumbuhan ini adalah tumbuhan yang berdaun lembaga dua atau disebut juga dikotil. Jambu mete mempunyai batang pohon yang tidak rata dan berwarna coklat 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. Bagian itu bukan buah sebenarnya, tetapi merupakan tangkai buah yang membesar. Buah jambu monyet yang sebenarnya biasa disebut mete (mente), yaitu buah batu yang berbentuk ginjal dengan kulit keras dan bijinya yang berkeping dua tersebut oleh kulit yang mengandung getah (Herbie T 2012).

3. Khasiat tanaman jambu mete

Tanaman jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) adalah pohon dalam famili Anacardiaceae. Bagian dari tanaman jambu mete yang sering digunakan sebagai obat adalah buah, daun maupun kulit batang. Daun jambu mete mengandung zat kimia seperti saponin, tanin-galat, flavonol, asam anakardiol, asam elagat, senyawa fenol, kardol, dan metil kardol, dan minyak atsiri (Dalimartha 2000). Ekstrak dari akar, batang dan buah-buahan yang banyak digunakan untuk mengatasi peradangan. Bagian buah pada umumnya digunakan sebagai makanan dan obat penyakit kulit. Selain itu kulit batang sering digunakan sebagai obat disentri, diabetes, radang pada mulut, sakit gigi, pencahar, sariawan. Biji tanaman ini selain untuk makanan juga untuk pelembut kulit. Minyak biji untuk ruam kulit, sedangkan tangkai daun untuk bahan pengelat. Akar digunakan sebagai pencahar. (Sokeng et al, 2001;. Chen dan Chung 2000; Ojewole, 2004;. Olajide et al, 2004, 2013).

Pemanfaatan tanaman jambu mete di Afrika dan Amerika yaitu dengan menggunakan infus daun dalam pengobatan gangguan gastrointestinal (gastritis akut, diare), sariawan dan masalah peradangan (Kudi et al, 1999;. Akinpelu, 2001;. Goncalves et al, 2005; Taylor, 2005). Di Indonesia pemanfaatan, daun

jambu mete secara tradisional digunakan untuk mengobati penyakit seperti : kencing manis, disentri dan radang mulut (Raina 2011). Berdasarkan informasi dari Dalimartha (2000), bahwa daun jambu mete mengandung fenol yang dapat dimanfaatkan sebagai anti fungi.

4. Kandungan kimia tanaman jambu mete

Tanaman jambu mete (*Anacardium occidentale*) memiliki kandungan yang berbeda disetiap bagiannya, baik itu daun, batang, kulit batang, buah atau bagian yang lain. Daun mengandung tanin-galat, flavonol, asam anakardiol, asam elagat, senyawa fenol, kardol, dan metil kardol. 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. Pericarp mengandung zat samak, asam anakardat, dan asam elagat. Biji mengandung 40-45% minyak dan 21% protein. Minyaknya mengandung asam oleat, asam linoleat, dan vitamin E. Getah mengandung furufural. Asam anakardat berkhasiat bakterisidal, fungisidal, mematikan cacing dan protozoa. (Dalimartha, 2000).

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang dikeringkan dan digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan. Simplisia dibagi menjadi tiga macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat-zat nabati lainnya yang dipisahkan dari tanaman dengan cara tertentu dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan tertentu atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelican atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah atau sudah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1985).

2. Pengumpulan Simplisia

Simplisia berdasarkan bahan bakunya bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia yang diambil dari tanaman budi daya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul dan garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Pengambilan simplisia dari tanaman liar akan menimbulkan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur dan tempat tumbuh (Depkes RI 2007).

3. Pemilihan simplisia

Pemilihan simplisia merupakan suatu proses yang berguna untuk memisahkan simplisia dari bahan asing yang tidak berbahaya dalam jumlah yang sangat kecil dan biasanya terdapat dalam simplisia yang umumnya bersifat merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, dan tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes 1985).

4. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan simplisia adalah mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan mencegah penurunan waktu atau kerusakan simplisia. Hal-hal yang perlu diperhatikan saat pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan (Depkes 1985).

Pengeringan alamiah dengan cara diangin-anginkan dan tidak dipanaskan dibawah sinar matahari langsung. Cara ini terutama untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga dan daun. Pengeringan simplisia yang dilakukan menggunakan alat pengering harus memperhatikan jenis bahan, suhu pengeringan, dan waktu pengeringan, sehingga simplisia tidak mudah rusak dan kandungan kimia yang berkhasiat tidak berubah karena proses pengeringan tersebut (Gunawan & Mulyani 2004).

D. Ekstraksi

1. Pengertian ekstrak

Ekstrak dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, dan di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak

berdasarkan konsistensinya dibedakan menjadi tiga antara lain, adalah ekstrak cair, ekstrak kering, dan ekstrak kental. Sediaan cair hasil dari penyarian simplisia disebut dengan ekstrak cair. Sediaan kental yang dibuat dari simplisia kemudian diuapkan pelarutnya disebut dengan ekstrak kental. Sedangkan sediaan yang berbentuk bubuk yang dibuat dari hasil tarikan simplisia yang diuapkan dengan pelarut sampai kering disebut dengan ekstrak kering. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Voigt 1995).

2. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat pokok akan terlarut, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan zat aktif dengan maksimal dan seminimal mungkin bagi senyawa yang tidak diinginkan (Ansel 1989).

3. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung bahan aktif yang mudah larut dalam pelarut dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Penyarian dengan pelarut air bisa ditambahkan bahan pengawet (kloroform, etanol, gula, gliserin) pada awal penyarian supaya mencegah timbulnya kapang, khamir, dan kuman. Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian ditambah 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari diserkai, ampas diperas, sehingga diperoleh seluruh sari serbuk sebanyak 100 bagian (Depkes 1986).

Maserasi memiliki keuntungan yaitu mampu mengurangi rusaknya senyawa yang terkandung dalam sampel akibat dari pemanasan dan tidak memerlukan alat khusus, metode ini sangat sederhana namun mampu memisahkan senyawa kimia yang diinginkan hanya menggunakan pelarut tertentu (Harborne 1987). Kekurangan dari metode maserasi ini adalah

pengerjaan lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti melakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes 2000).

E. Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan untuk melarutkan suatu zat lain dalam preparat larutan (Ansel 1989). 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). Pelarut atau cairan penyari terdiri menjadi 3 macam yaitu pelarut polar, pelarut semi polar, dan pelarut non polar, salah satu contoh pelarut atau cairan penyari adalah air, etanol, air-etanol (List 2000).

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% yang merupakan bahan pelarut dengan campuran etanol dan air yang menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal. Etanol digunakan sebagai cairan penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. 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 1995). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinin, flavonoid, steroid, damar dan klorofil (Depkes 1986).

F. Disentri

1. Pengertian disentri

Disentri berasal dari bahasa Yunani yaitu *dsy* (gangguan) dan *enteron* (usus) yang berarti radang usus yang menimbulkan mulas, tinja berlendir campur darah (Depkes 2001). Darah dan leukosit dalam tinja merupakan suatu bukti

bahwa kuman penyebab disentri tersebut menembus dinding kolon dan bersarang dibawahnya (Simanjutak 1991).

2. Penyebab disentri

Penyebab disentri dulu dikenal hanya dua macam disentri yakni disentri basiler yang disebabkan *Shigella spp.* dan disentri amoeba yang disebabkan oleh *Entamoeba histolytica*. Sekarang ini telah diketahui banyak penyebab lain berupa parasit dan bakteri yaitu *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pleisomonas shigelloides*, ETEC (*Enterotoxigenic E coli*), *Aeromonus spp.*, *Entamoeba histolytica* atau *Giardia lamblia* (Simanjutak 1991).

3. Manifestasi klinik

Manifestasi klinik dari disentri basiler adalah diare mendadak yang disertai darah lendir dalam tinja. Disentri shigellosis pada permulaan sakit, bisa terjadi diare encer tanpa darah dalam waktu 6-24 jam pertama dan setelah 12-72 jam sesudah permulaan sakit didapatkan darah dan lendir dalam tinja, demam tinggi (39,5°C -40°C), muntah-muntah, anoreksia, sakit kram perut dan sakit pada anus saat buang air besar, kadang- kadang disertai dengan gejala menyerupai ensefalitis dan sepsis (kejang, sakit kepala, alergi, halusinasi). Diare pada disentri amoeba disertai darah dan lendir dalam tinja. Frekuensi buang air besar pada umumnya lebih sedikit dibandingkan dengan disentri basiler (kurang dari 10x/ hari), sakit perut hebat (kolik), gejala konstitusional biasanya tidak ada (panas hanya ditemukan pada 1/3 kasus) (Jawetz *et al.* 1986).

4. Pengobatan disentri

Antibiotik terpilih untuk infeksi shigella adalah ciprofloksasin, ampisilin, tetrasiklin, dan kotrimoksazol (Jawetz *et al.* 2010) . Menurut pedoman WHO lini pertama untuk mengatasi infeksi *Shigella dysenteriae* adalah dengan pemberian antibiotik ciprofloksasin. Golongan kuinolon telah dilaporkan dapat menyebabkan artropati pada hewan belum dewasa, karena itu tidak disarankan penggunaannya pada anak dan remaja. Penggunaan kuinolon pada anak dapat dilakukan pada beberapa kondisi dengan mempertimbangkan munculnya efek samping kerusakan tulang sendi yang minimal dapat sebanding dengan efek farmakologi yang potensial untuk mengatasi penyakit yang dapat menyebabkan kematian jika tidak

ditangani dengan segera (WHO 2005). Ciprofloksasin merupakan antibiotik berspektrum luas sehingga efektif untuk melawan bakteri gram positif maupun negatif. Ciprofloksasin bekerja dengan menghambat aktivitas enzim DNA girase (topoisomerase II) sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Oliphant & Gren 2002).

Pengobatan lini kedua yang dapat digunakan adalah seftriakson yang saat ini merupakan antibiotik yang efektif untuk mengobati multi resisten dari *Shigella sp.* pada semua usia. Azitromisin juga dipertimbangkan untuk pilihan alternatif pasien dewasa. Penggunaan obat-obat alternatif ini memiliki beberapa kekurangan yaitu harganya mahal, mudah menyebabkan resistensi, data efikasi masih terbatas (WHO 2005).

G. *Shigella dysenteriae*

1. Klasifikasi *Shigella dysenteriae*

Menurut Leboffe & Pierce (2011), bakteri *Shigella dysenteriae* memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Shigella
Spesies	: <i>Shigella dysenteriae</i>

2. Morfologi dan Identifikasi *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang ramping, tidak berkapsul, tidak berflagel, tidak membentuk spora, tidak bermotil, bersifat fakultatif anaerobik, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Bentuk kokobasil dapat terjadi pada biakan muda (Jawetz *et al.* 2010).

Shigella dysenteriae merupakan bakteri fakultatif anaerobik tetapi paling baik tumbuh pada kondisi aerob. Biakan bakteri memiliki koloni cembung, bundar dan transparan dan tepi berbatas tegas, mencapai diameter kira-kira 2 mm dalam

24 jam. *Shigella sp* mempunyai susunan antigen yang kompleks, terdapat banyak tumpang tindih dalam sifat serologik dari berbagai spesiesnya, dan sebagian besar memiliki antigen O yang juga dimiliki oleh bakteri enterik lainnya. Antigen somatik O bakteri ini adalah lipopolisakarida. Perbedaan serologiknya tergantung dari polisakarida. Klasifikasi *Shigella sp*. didasarkan pada sifat sifat biokimia dan antigenik (Jawetz *et al.* 2012).

3. Patogenesis dan patologi

Shigella memiliki habitat alami pada usus besar manusia, sehingga infeksi shigella terbatas pada saluran cerna, invasi dalam darah sangat jarang terjadi. *Shigella dysenteriae* dapat menyebabkan terjadinya penyakit menular yaitu disentri. Mikroabses pada dinding kolon dan ileum terminalis menyebabkan nekrosis membran mukosa, ulserasi superficial, pendarahan, dan terbentuknya pseudomembran pada area yang mengalami ulserasi. Mikro abses ini terdiri dari fibrin, leukosit, debris sel, membran mukosa nekrotik, dan bakteri. Saat proses ini mereda, jaringan granulasi mengisi ulkus dan terbentuk jaringan parut (Jawetz *et al.* 2012).

Semua bakteri *Shigella sp*. Melepaskan lipopolisakarida pada waktu sel lisis dan berperan sebagai endotoksin. Endotoksin ini merupakan salah satu penyebab terjadinya iritasi dinding usus. Selain itu *Shigella dysenteriae* menghasilkan eksotoksin yang tidak tahan panas. Enterotoksin ini merupakan protein yang antigenik (merangsang produksi antitoksin) sebagai enterotoksin yang menyebabkan diare. Eksotoksin menghambat penyerapan gula dan asam amino di usus halus pada manusia. Eksotoksin dan endotoksin ini bekerja berurutan, pada awalnya toksin menyebabkan diare hebat dan tidak disertai darah pada tinja, kemudian invasi pada usus besar menyebabkan disentri, yaitu diare hebat yang disertai darah dan lendir dalam feses (Jawetz *et. al.* 2010).

Bakteri *Shigella dysenteriae* menyebabkan kerusakan pada epitel usus besar, mengarah pada pembentukan micro ulcer, inflamasi eksudat, menyebabkan inflamasi sel (leukosit polimorf nuklear, PMN) dan darah muncul dalam tinja. Bakteri ini masuk ke dalam tubuh manusia melalui air dan makanan yang telah tercemar bakteri disentri yang dikonsumsi. Sekali dikeluarkan, bakteri ini sangat

sensitif terhadap kondisi lingkungan dan akan mati dengan cepat, terutama ketika kondisi kering atau terkena sinar matahari (Jawetz *et. al.* 2010).

4. Gambaran klinik

Setelah masa inkubasi yang pendek 9-14 hari, gejala umum infeksi *Shigella dysenteriae* yang timbul diantaranya adalah diare cair akut, tinja penderita penyakit diketahui mengandung darah dengan atau tanpa lendir, pada umumnya disertai demam, nyeri perut, anoreksia dan tenesmus. Darah biasanya berasal dari dinding saluran cerna yang terluka dan sering berasal dari dinding usus besar. Penyembuhan spontan biasanya terjadi dalam beberapa hari, tetapi anak-anak kebanyakan meninggal karena dehidrasi dan asidosis. Komplikasi yang dapat terjadi diantaranya adalah perforasi usus, megakolon toksik, prolapsus rekti, kejang, anemia septik, sindrom hemolitik uremia hingga menyebabkan kematian.

Resiko kematian yang paling tinggi terjadi pada bayi, lanjut usia (> 50 tahun), anak yang tidak diberi ASI, anak yang sembuh dari campak, anak dan orang dewasa yang mengalami kekurangan gizi, pasien yang mengalami hipotermia dan hipertermia, atau orang yang memiliki riwayat kejang ketika pertama kali dilihat (WHO 2005).

Kebanyakan orang pada fase penyembuhan mengeluarkan bakteri *Shigella dysenteriae* dalam waktu yang singkat, tetapi beberapa diantaranya tetap menjadi pembawa bakteri disentri menahun dan dapat mengalami serangan penyakit berulang. Penyembuhan infeksi pada kebanyakan orang membentuk antibodi terhadap *Shigella dysenteriae* dalam darahnya, tetapi antibodi ini tidak melindungi terhadap reinfeksi (Jawetz *et al.* 2012).

H. Antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan dan menekan bakteri. Zat yang digunakan untuk menghentikan bakteri penyebab infeksi pada manusia harus mempunyai sifat toksisitas selektif. Sifat toksisitas selektif ada yang memiliki aktivitas bakteristatik dan bakterisid. Bakteristatik

yaitu bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, sedangkan bakterisid yaitu bersifat membunuh bakteri (Ganiswara 1995).

2. Mekanisme antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri merupakan peristiwa penghambatan suatu bakteri oleh senyawa antibakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya dibagi menjadi 5 kelompok yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat metabolisme sel bakteri, mengganggu keutuhan membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, dan menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri.

2.1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Mekanisme kerusakan dinding sel dapat disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuk terdisosiasi. Gugus hidrofobik pada senyawa antibakteri dapat mengikat daerah hidrofobik membran serta melarut baik pada fase lipid membran bakteri. Umumnya senyawa antibakteri dapat menghambat sintesis peptidoglikan karena mempunyai kemampuan dari senyawa tersebut dalam menghambat enzim enzim yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan seperti karboksipeptidase, endopeptidase dan transpeptidase. Jika aktivitas enzim enzim tersebut dihambat oleh senyawa antibakteri maka enzim autolitik sebagai reseptor hilang dan enzim tidak mampu mengendalikan aktivitasnya sehingga dinding sel akan mengalami degradasi (Maryuni 2008).

2.2. Menghambat metabolisme sel bakteri. Senyawa antibakteri dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme dengan cara mengganggu aktivitas enzim – enzim metabolik. Beberapa senyawa antibakteri yang dapat mengaktivasi enzim adalah asam benzoate, asam lemak, sulfit, dan nitrit (Maryuni 2008).

2.3. Mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Sel bakteri dikelilingi oleh struktur kaku yang disebut dinding sel, yang melindungi sitoplasma baik osmotik maupun mekanik. Setiap zat yang dapat merusak dinding sel atau mencegah sintesinya akan menyebabkan terbentuknya sel sel yang peka

terhadap osmotik. Adanya tekanan osmotik dalam sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Maryuni 2008).

2.4. Menghambat sintesis protein sel bakteri. Hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasikan protein dan asam asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat berbagai zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi irreversible komponen komponen selular yang vital ini (Maryuni 2008).

2.5. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Salah satu mekanisme kerja yang dimiliki oleh antibakteri ini adalah menghalangi sintesis DNA dengan cara memblokir DNA girase, contohnya adalah antibiotik kuinolon dan fluorokuinolon. Rifampin bekerja membentuk ikatan dengan enzim polymerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Jawetz *et al.* 2010). Contoh antibiotik lain yang bekerja menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri adalah nitrofurantoin, kuinolon, rifampisin, dan nitroimidazol (CVMP 1999).

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Jawetz *et al.* 2010).

1. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antibakteri. Metode dilusi ini dibagi menjadi dua dilusi padat dan dilusi cair. Prinsip metode dilusi ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Dilusi cair masing masing konsentrasi ditambah suspensi bakteri dalam media, sedangkan dilusi padat tiap konsentrasi zat dicampur media agar, kemudian ditanami bakteri, diinkubasi dan

diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan (KHM) atau membunuh (KBM) bakteri uji.

Metode dilusi cair (pengenceran tabung) dibuat dengan cara membuat seri konsentrasi yang terdiri dari beberapa tabung reaksi, masing masing tabung ditambahkan bahan uji yang akan diperiksa kecuali tabung yang berisi kontrol positif, kemudian biakan bakteri yang telah diencerkan 1: 1000 kedalam tiap tiap tabung reaksi kecuali untuk tabung yang berisi kontrol negatif. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah pengenceran tertinggi dari obat yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan secara makroskopik (Bonang & Koeswardono 1982).

Dilusi memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan penggunaanya dibatasi dan keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al* 1986).

2. Metode Difusi

Metode difusi ini adalah suatu metode pegujian aktivitas antibakteri. Metode difusi ini dibedakan menjadi bermacam macam yaitu metode *disk diffusion*, metode *E-test*, metode *Ditch-plate technique*, dan metode *Cup-plate technique* (Harmintha 2004). Metode disk diffusion dilakukan dengan cara menggunakan kertas cakram disk yang dijenuhkan dengan larutan uji pada konsentrasi tertentu yang selanjutnya diletakan pada pembedihan padat yang sudah ditanami dengan biakan bakteri dan dilakukan pemeriksaan setelah pengeraman. Luas daerah hambatan jernih obat sekitar cakram dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan obat terhadap bakteri yang diperiksa. Beberapa faktor yang berpengaruh pada metode difusi ini yaitu suhu inkubasi, ketebalan medium agar, ketebalan inokulum, waktu inkubasi, dan pengaruh pH (Jawetz *et al*. 2001).

Suhu inkubasi, beberapa jenis bakteri tumbuh dengan baik pada suhu 37°C. Ketebalan medium agar berperan penting dalam memperoleh sensitivitas yang optimal dan berpengaruh pada diameter hambat yang terbentuk (Bonang & Koeswardono 1982). Selain suhu inkubasi dan ketebalan media, ketebalan inokulum juga berpengaruh terhadap luas daerah hambat. Inokulum yang

berjumlah lebih sedikit akan menyebabkan obat dapat berdifusi lebih luas, sedangkan inokulum yang lebih besar akan menghasilkan daerah hambat yang sempit atau kecil (Rostinawati 2009). Waktu inkubasi disesuaikan dengan pertanaman bakteri, karena luas daerah hambatan ditentukan beberapa jam setelah diinokulasikan pada media agar, sehingga daerah hambat dapat diamati setelah dilakukannya penanaman bakteri (Rostinawati 2009). Keuntungan metode difusi ini adalah ekonomis, mudah dibuat, dan reproduksibel. Kekurangan dari metode ini adalah metode ini tidak bisa digunakan untuk semua jenis mikroba misalnya mikroba dengan pertumbuhan lambat ataupun anaerob obligat (Depkes 1999).

J. Media

1. Pengertian media

Media adalah substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan mikroba. Media harus dalam keadaan steril sebelum digunakan untuk suatu penelitian, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Media yang digunakan dalam mikrobiologi harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Steril, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan dan bersifat toksik. Media berfungsi antara lain untuk menumbuhkan mikroba, untuk mengisolasi mikroba, untuk identifikasi maupun diferensiasi (Suriawiria 2005).

2. Macam macam media

Bentuk media ada tiga jenis yaitu media padat, media cair, dan media semi padat atau semi cair.

2.1. Media padat. Bahan media padat ditambahkan antara 12-15 g tepung agar-agar per 1000 ml media. Media ini pada umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikroalgae.

2.2. Media cair. Media cair tidak ditambahkan zat pematat, biasanya media cair dipergunakan untuk pembiakan mikroalgae tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi.

2.3. Media semi padat atau semi cair. Penambahan zat pematat dalam media ini hanya 50% atau kurang dari seharusnya. Media ini umumnya

dipergunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerob atau fakultatif (Suriawiria 2005).

3. Klasifikasi Media

3.1 Media sintetik. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan harus mengandung semua faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Media, bahan media, dan bakteri yang kemudian disatukan, lalu bakteri diamati. Pertumbuhan bakteri yang sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji (Radji 2011).

3.2 Media kompleks. Media yang sering digunakan secara rutin di laboratorium. Media ini mengandung nutrisi tinggi yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging atau tumbuhan, ataupun protein sederhana dari sumber lain. Vitamin, mineral, dan bahan organiklain yang diperoleh dari ekstrak daging atau ragi merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentk cair disebut *nutrient broth*, sedangkan yang ditambahkan agar disebut *nutrient agar* (Radji 2011).

3.3 Media anaerob. Penanaman bakteri anaerob harus menggunakan media spesial disebut *reducing media* yang mengandung natrium trioglikolat. 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).

3.4 Media biakan khusus. Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan CO₂ dengan konsentrasi lebih tinggi taupun lebih rendah dari pada konsentrasi CO₂ di udara, maka konsentrasi CO₂ pada media ini dinaikkan (Radji 2011).

3.5 Media selektif dan diferensial. Media ini digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif dirancang untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan dan mendukung pertumbuhan bakteri yang diinginkan.

Sebagai contoh, *bismuth sulfite agar* (BSA) digunakan untuk mengisolasi bakteri *salmonella typhi* dari tinja. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama. Karakteristik selektif dan diferensial kadang-kadang dikombinasikan di dalam satu jenis media (Radji 2011).

3.6 Media pengayaan. Media yang digunakan untuk pengayaan biakan bakteri biasanya dalam bentuk media cair dan hampir sama dengan media selektif, tetapi dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan sehingga dapat dideteksi. Tahapan pengayaan adalah upaya untuk menumbuhkan bakteri dalam beberapa kali peminadahan ke media yang baru. Ketika biakan pengayaan terakhir disebar di atas media padat yang mengandung komposisi yang sama dengan media cair, hanya koloni yang mampu menggunakan fenol yang bertahan tumbuh (Radji 2011).

K. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dilakukan (Waluyo 2004).

Tindakan sterilisasi yang dapat dilakukan meliputi : pertama, sterilisasi secara fisis yaitu dengan pemanasan, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar UV, dan dengan radiasi. Kedua, sterilisasi secara kimia yaitu memakai bahan kimia alkohol dengan menggunakan desinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin. Ketiga, sterilisasi secara mekanik yaitu dengan penggunaan saringan atau filter dengan pori-pori halus sehingga dapat menahan bakteri. Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan Autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan Autoklaf dan yang tidak ada ukurannya disterilkan dengan oven pada suhu $170^{\circ}\text{-}180^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam, alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan

pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Suriawiria 1986).

L. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol merupakan kombinasi trimetropim dan sulfametoksazol. Kotrimoksazol digunakan dalam bentuk kombinasi trimetropim dan sulfametoksazole untuk menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan, sehingga kombinasi kedua obat tersebut memberikan efek yang sinergis. Penemuan sediaan kombinasi ini merupakan kemajuan penting dalam usaha meningkatkan efektivitas klinik antimikroba. Kombinasi ini lebih dikenal dengan nama Kotrimoksazol (Ganiswara 1995) .

Aktivitas antibakteri kotrimoksazol berdasarkan kerjanya pada dua tahap yang berurutan tersebut dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam molekul asam folat dan trimetropim menghambat terjadinya reaksi reduksi hidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin (adenine, guanine, dan timidin) dan beberapa asam amino seperti metiolin dan glisin (Ganiswara 1995).

Interaksi antara sulfametoksazol dan trimetropim diperkirakan dari mekanismenya masing-masing. Rasio yang paling efektif pada dua obat ini untuk sebagian besar mikroorganisme adalah 20 bagian sulfametoksazol : 1 bagian trimetoprim. Kombinasi ini diformulasikan untuk mencapai konsentrasi sulfametoksazol in vivo, yaitu 20 kali lebih besar dari pada trimetoprim (Goodman & Gilman 2010). Keuntungan penting lain dari kombinasi ini adalah timbulnya resistensi lebih lambat dari pada komponen komponennya sendiri. Hal ini sudah jelas, dikarenakan bakteri yang menjadi resistensi untuk satu komponen masih dapat dimusnahkan oleh komponen yang lain (Tjay & Rahardja 2002).

M. Landasan Teori

Shigella dysenteriae merupakan bakteri penyebab utama penyakit disentri basiler. Disentri merupakan penyakit infeksi saluran pencernaan yang ditandai

dengan diare cair akut, tinja pada penderita penyakit diketahui mengandung darah dengan atau disertai lendir, pada umumnya disertai nyeri perut, demam, anoreksia, dan tenesmus. Darah tersebut biasanya berasal pada saluran cerna yang terluka dan sering berasal dari dinding usus besar. Komplikasi yang dapat terjadi diantaranya adalah perforasi usus, megakolon toksik, prolapsus rekti kejang, anemia septik, sindrom hemolitik uremia hingga menyebabkan kematian (Yatim 2001 ; WHO 2005).

Tanaman jambu biji putih atau *Psidium guajava L* memiliki beberapa kelebihan, antara lain buahnya dapat dimakan sebagai buah segar, dapat diolah menjadi berbagai bentuk makanan dan minuman. Selain itu, buah jambu biji 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 jambu biji seperti daun, kulit akar maupun akarnya dapat berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit disentri, keputihan, sariawan, kurap, diare, radang lambung, gusi bengkak, dan peradangan mulut, serta kulit terbakar sinar matahari (Cahyono, 2010).

Daun jambu biji mempunyai manfaat bagi kesehatan yaitu sebagai antiinflamasi, antidiare, analgesik, antibakteri, antidiabetes, antihipertensi, mengurangi demam dan penambah trombosit (Kirtikar dan Bashu., 1998). Berdasarkan penelitian Adyana (2004) menunjukkan bahwa ekstrak etanol jambu biji daging buah putih memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) 30 mg/ml terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* .

Tanaman jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) adalah pohon dalam famili Anacardiaceae. Ekstrak dari akar, batang dan buah-buahan banyak digunakan dalam obat rakyat untuk kondisi menular, inflamasi dan stres oksidatif (Sokeng *et al*, 2001; Chen dan Chung 2000; Ojewole, 2004; Olajide *et al.*,2004, 2013). Di Indonesia pemanfaatan, daun jambu mete secara tradisional digunakan untuk mengobati penyakit seperti : kencing manis, disentri dan radang mulut (Raina, 2011). Daun jambu mete mengandung fenol yang dapat dimanfaatkan sebagai antifungi (Dalimartha 2000).

Arekemase dalam penelitian yang telah dilakukanya mendapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*. Ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) bersifat bakterisid terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas auroginosa*, *Shigella dysenteriae*, dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) memiliki Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 0,10 g/ml terhadap *Shigella dysenteriae* .

Kotrimoksazol dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif. Kotrimoksazol merupakan antibiotik kombinasi sulfametaksazol dan trimetropin. Keuntungan antibiotik kotrimoksazol adalah timbulnya resistensi lebih lambat daripada komponen-komponenya sendiri. Hal ini sudah jelas, dikarenakan bakteri yang menjadi resistensi untuk satu komponen masih dapat dimusnahkan oleh komponen yang lain (Tjay & Rahardja 2002).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% yang merupakan bahan pelarut dengan campuran etanol dan air yang menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi dan difusi. Keuntungan metode dilusi yaitu lebih teliti, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat ditentukan, serta memungkinkan adanya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Jawetz *et. al* 2008). Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al.* 1986).

N. Hipotesis

Berdasarkan pada permasalahan yang ada dapat disusun hipotesis dalam penelitian yaitu:

Pertama, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dengan menggunakan metode dilusi dapat ditentukan.

Kedua, perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava Linn*) yang diambil dari Kabupaten Nganjuk dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale Linn*) yang diambil dari daerah Kabupaten Wonogiri.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava Linn*) yang diambil dari Desa Jatirejo Kab. Nganjuk dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale Linn*) yang diambil dari Kec. Slogohimo Kab. Wonogiri. Tanaman jambu biji diambil yang segar berwarna hijau dan bersih. Daun jambu mete yang diambil secara acak dengan memilih daun yang segar dan tidak layu.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak etanol 96% dari daun jambu biji (*Psidium guajava Linn*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale Linn*).

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:3; 1:1 dan 3:1 dari daun jambu biji (*Psidium guajava Linn*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale Linn*) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Variabel utama ketiga adalah aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol 96% dari daun jambu biji (*Psidium guajava Linn*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale Linn*) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan kedalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang biasanya diubah ubah yang dimaksudkan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya, hasil yang didapatkan tidak menyebar dan dapat dilakukan peneliti lain secara tepat. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian.

a. Variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi dari ekstrak etanol 96% daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale Linn*) dengan perbandingan 1 : 3 ; 1 : 1 ; 3 : 1.

b. Variabel kendali. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, kondisi laboratorium (antara lain: kondisi inkasi, alat dan bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen, dan metode ekstraksi.

c. Variabel tergantung. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah *aktivitas* kombinasi ekstrak etanol 96% daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale Linn.*) yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media uji.

3. Definisi operasional variabel utama

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

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

Ketiga, serbuk daun jambu biji adalah daun jambu biji yang dikerjakan dalam alat pengering (oven) pada suhu 40°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40.

Keempat, serbuk daun jambu mete adalah daun jambu mete yang dikerjakan dalam alat pengering (oven) pada suhu 40°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 jambu mete 1: 3 adalah kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete yang dibuat sesuai dengan konsentrasi KBM ekstrak tunggal. selanjutnya Untuk pembuatan kombinasinya diambil dari larutan stok baru yang konsentrasinya sesuai dengan KBM, kemudian dibuat perbandingan 1: 3 dalam 1 ml.

Kedelapan, kombinasi ekstrak daun jambu biji dengan jambu mete 1: 1 adalah kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete yang dibuat sesuai dengan konsentrasi KBM ekstrak tunggal. selanjutnya Untuk pembuatan kombinasinya diambil dari larutan stok baru yang konsentrasinya sesuai dengan KBM, kemudian dibuat perbandingan 1: 1 dalam 1 ml.

Kesembilan, kombinasi ekstrak daun jambu biji dengan jambu mete 3: 1 adalah kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete yang dibuat sesuai dengan konsentrasi KBM ekstrak tunggal. selanjutnya Untuk pembuatan kombinasinya diambil dari larutan stok baru yang konsentrasinya sesuai dengan KBM, kemudian dibuat perbandingan 1: 3 dalam 1 ml.

Kesepuluh, bakteri uji dari penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yang diambil dari Laboratorium Universitas Setia budi Surakarta.

Kesebelas, metode dilusi adalah pengujian dengan membuat konsentrasi ekstrak tunggal yang diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam yang diamati dengan melihat taraf kekeruhan dalam media.

Keduabelas, Metode difusi adalah mengukur luas daerah hambatan atau daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Diujikan pada ekstrak tunggal etanol 96% daun jambu biji, ekstrak tunggal etanol 96% daun jambu mete, serta

kombinasi ekstrak etanol 96% daun jambu biji dan daun jambu mete dengan perbandingan konsentrasi (1:3), (1 : 1), (3 : 1).

Ketigabelas, uji aktivitas antibakteri ekstrak teraktif dengan metode difusi, berupa ekstrak tunggal maupun ekstrak kombinasi daun jambu biji dan daun jambu mete yang paling aktif terhadap *Shigella dysenteriae*.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*), daun jambu mete (*Anacardium occidentale*). Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Medium yang digunakan adalah SSA (*Salmonella Shigella Agar*), KIA (*Kligler's Iron Agar*), SIM (*Sulfid Indol Motility*), LIA (*Lysin Iron Agar*), SCA (*Simmons Citrate Agar*), MHA (*Mueller Hinton Agar*), dan BHI (*Brain Heart Infusion*). Obat yang digunakan sebagai pembanding yaitu suspensi antibiotik Kotrimoksazol.

Bahan lain yang digunakan adalah DMSO 1%, etanol 96%, air suling steril, asetat anhidrat, asam sulfat pekat, , ammonia 10%, FeCl₃, timbale asetat 10%, reagen Mayer, aseton, Larutan kristal violet (Gram A), Lugo iodine (Gram B), etanol 95% - asetat = 1:1 (Gram C), safranin (Gram D), minyak imersi.

2. Alat

Alat alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penggiling (*grinder*), blender, timbangan analitik, oven, ayakan nomor 40, botol coklat, inkas, ose, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, *rotary evaporator*, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, mikropipet, siring, beaker glass, incubator, pinset, kain flannel, kapas, kertas koran, corong kaca, otoclaf, batang pengaduk, lampu spritus, alat moisture balance, kapas lidi steril, kaki tiga, object glass, deg glass, mikroskop.

D. Jalanya penelitian

1. Pengumpulan simplisia

Tahap pertama yang dilakukan sebelum penelitian yaitu pengumpulan simplisia daun jambu biji dan daun jambu mete. Daun jambu biji yang diambil yaitu dari Kabupaten Nganjuk merupakan daun jambu biji yang masih segar dan utuh, berwarna hijau, bebas dari serangga, bakteri dan jamur. Daun yang dipetik dikumpulkan langsung dicuci bersih dan dilanjutkan ke tahap selanjutnya. Daun jambu mete yang digunakan sebagai sampel diambil dari Kabupaten Wonogiri, daun yang diambil merupakan daun yang masih segar berwarna hijau, daun utuh, bebas dari serangga, bakteri dan jamur. Daun yang diperoleh dikumpulkan dan dicuci bersih dan dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

2. Determinasi tanaman

Tahap selanjutnya adalah melakukan identifikasi daun jambu biji dan daun jambu mete. Identifikasi tanaman dilakukan dengan cara determinasi untuk mengetahui kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap kepustakaan. Identifikasi dan determinasi ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

3. Pembuatan serbuk

3.1. Pembuatan serbuk daun jambu biji. Pembuatan serbuk daun jambu biji dengan cara daun jambu biji dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, daun jambu biji yang telah dicuci ditiriskan dan dikeringkan dengan oven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Serbuk menggunakan ayakan nomer 40 sehingga diperoleh serbuk daun jambu biji yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian. Penyerbukan ini bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyaring dapat diperluas sehingga penyaringan dapat langsung secara efektif.

3.2. Pembuatan serbuk daun jambu mete. Pembuatan serbuk daun jambu mete menggunakan cara daun jambu mete dicuci terlebih dahulu sampai bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu. Daun jambu

mete yang telah dicuci kemudian ditiriskan dan dikeringkan dengan oven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Serbuk menggunakan ayakan nomer 40 sehingga diperoleh serbuk daun jambu mete yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian. Penyerbukan ini bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyaring dapat diperluas sehingga penyaringan dapat langsung secara efektif.

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

Penetapan kadar air daun jambu biji dan daun jambu mete dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 95°C dan waktu pengeringan secara manual yaitu selama 15 menit, kemudian dimasukkan dalam neraca timbang dengan skala 0,00. Sehingga sampel serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete sebanyak 2 gram dimasukkan. Menunggu sampai alat *Moisture Balance* berbunyi menandakan hasil analisis telah selesai. 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 dimasukan dalam botol coklat diisi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75, kemudian direndam selama 5 hari. 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 dimasukan dalam botol coklat diisi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh disaring dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C .

6. Uji bebas etanol

Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya diuji bebas etanol uji bebas etanol ini bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri. Uji bebas etanol ini dilakukan dengan uji esterifikasi. Ekstrak

ditambah dengan asam setat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak tercium bau ester yang khas dari etanol .

7. Pengujian kandungan kimia

Identifikasi kandungan senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun jambu biji dan daun jambu mete. Identifikasi senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

7.1. Identifikasi flavonoid. Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g dicampurkan dengan aquadestilata. Setelah itu, didihkan selama 5 menit kemudian saring. Filtrate ditambahkan 0,5 mg bubuk Mg dan ditambahkan 1 ml HCl pekat dan amil alkhohol. Dicampurkan dan dikocok kuat kuat kemudian biarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkhohol (Alamsyah 2014).

7.2. Identifikasi saponin. Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan aquadestilata, 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).

7.3. Identifikasi alkaloid. Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g dilarutkan dengan aquadestilata. Setelah itu tambahkan 1 ml HCl 2 N. dibuat dalam 2 tabung. Tabung 1 ditambahkan reagen Mayer yang kemudian akan membentuk endapan menggumpal warna putih kekuningan. Tabung 2 ditambahkan reagen Dragendroff terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga (Alamsyah 2014).

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

8. Pembuatan kombinasi ekstrak

Ekstrak etanol 96% daun jambu biji dan ekstrak etanol 96% daun jambu mete dikombinasi dengan perbandingan (1:3); (1:1) dan (3:1). Pembuatan

kombinasi ekstrak dibuat dengan membuat larutan stok baru sebanyak 1ml dari ekstrak etanol daun jambu biji dengan konsentrasi sesuai dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan dari ekstrak etanol daun jambu mete dengan konsentrasi sesuai dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) nya. Kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1: 1 dibuat dengan ekstrak etanol dari daun jambu biji dipipet sebanyak 0,5mL dan untuk ekstrak etanol dari daun jambu mete dipipet sebanyak 0,5mL dan di homogenkan . Kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:3 dibuat dengan ekstrak etanol daun jambu biji dipipet sebanyak 0,25mL dan ekstrak etanol daun jambu mete dipipet 0,75mL dan dihomogenkan. Kombinasi ekstrak 3:1 dibuat dengan ekstrak etanol daun jambu biji dipipet 0,75 mL dan ekstrak etanol daun jambu mete dipipet 0,25mL dan dihomogenkan.

9. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan Autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur, beaker glass, cawan petri, dan pipet volume disterilkan dengan oven pada suhu 170°-180°C selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung.

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dalam biakan murni diambil satu ose dan dimasukkan kedalam tabung yang telah berisi 10 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi yang didapat diencerkan dengan perbandingan 1: 1000 dengan menggunakan larutan garam fisiologis yang seharusnya pengenceran menggunakan *Mc Farland* 0,5 pembuatan suspense bakteri ini bertujuan untuk standarisasi atau pengendalian jumlah sel bakteri (Bonang & Koeswardono 1982).

11. Identifikasi bakteri uji

11.1. Identifikasi bakteri secara makroskopis. Identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, biakan *Shigella dysenteriae* diinokulasikan pada media selektif *MacConkey Agar* (MCA) dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. MCA merupakan media yang cocok bagi pertumbuhan *Shigella dysenteriae* . Bakteri bakteri yang ada pada saluran cerna yang dapat memfermentasi laktosa

akan berwarna merah, sedangkan bakteri saluran cerna yang tidak dapat memfermentasi laktosa tidak menimbulkan warna pada media. *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri yang tidak memfermentasi laktosa sehingga dalam media MCA Penampakan koloni *Shigella dysenteriae* yang terjadi yaitu kecil, halus, tidak berwarna, tepi dan permukaannya rata (Jawetz *et al.* 1986).

11.2. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan. Identifikasi mikroskopis bakteri *Shigella dysenteriae* dilakukan dengan cara pengecatan gram. Pertama dibuat apusan diatas object glass, kemudian difiksasi. Selanjutnya ditetesi pewarna gram A yang berisi Kristal violet selama 1 menit. Lalu dicuci dan melanjutkan dengan meneteskan pewarna gram B yang berisi larutan lugol selama 1 menit. Setelah itu cuci kembali dan lanjutkan ditetesi dengan pewarna gram C sebagai peluntur selama 30 detik kemudian dicuci. Terakhir ditetesi dengan pewarna gram D yang berisi safranin selama 1 menit kemudian dicuci dan dikering anginkan, setelah kering amati dengan menggunakan mikroskop. Jika didapat hasil berwarna merah maka hasil pewarnaan positif yang merupakan bakteri *Shigella dysenteriae* .

11.3. Identifikasi bakteri uji secara biokimia. Identifikasi berdasar uji biokimia dengan menggunakan media SIM, KIA, LIA, dan *Citrat*.

11.3.1. Media SIM (*Sulfida Indol Motility*). Suspensi bakteri diinokulasikan pada media SIM dengan cara ditusukan, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Tujuan dilakukannya uji adalah untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida bernilai positif jika berwarna hitam, uji indol bernilai positif jika setelah ditambahkan dengan reagen Erlich A dan B menghasilkan warna merah, uji motilitas bernilai positif jika terdapat pertumbuhan bakteri yang menyebar pada seluruh media. *Shigella dysenteriae* akan memberikan hasil negatif pada uji sulfida, menunjukkan hasil positif dengan adanya keberadaan indol dan menunjukkan hasil negatif pada uji motilitas, karena menunjukkan tidak adanya penyebaran pada seluruh medium, hasil tersebut bisa dituliskan dengan tanda (- + -) .

11.3.2. Media KIA (*Kliger's Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara ditusuk kemudian digores, setelah diinokulasikan

selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Identifikasi ini berfungsi untuk uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa) dan sulfida. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, terdapatnya gas, serta terbentuknya warna hitam pada media. Uji ini dinyatakan positif jika pada lereng berwarna merah (ditulis K), bagian dasar berwarna kuning (ditulis A), terbentuknya gas ditandai dengan pecahnya media (ditulis G+) , sulfida positif jika terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil pengujian pada media KIA Pada bakteri *Shigella dysenteriae* didapatkan hasil pada lereng berwarna merah dan pada bagian dasar berwarna kuning dan tidak didapatkan warna hitam pada media. Hasil uji tersebut dapat dituliskan (K/A S-).

11.3.3. Media LIA (*Lysin Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasikan dengan cara ditusukan dan kemudian digores selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Identifikasi berfungsi untuk menguji lisin dan sulfida. Selanjutnya diamati bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Bila uji positif maka pada lereng berwarna coklat (Ditulis R) , berwarna ungu (ditulis K), berwarna kuning (ditulis A), serta terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil pengujian pada media LIA pada bakteri *Shigella dysenteriae* didapatkan hasil pada lereng berwarna ungu dan pada bagian dasar berwarna kuning dan tidak didapatkan warna hitam pada media. Hasil uji tersebut dapat dituliskan (K/A S-).

11.3.4. Media *Citrat*. Biakan bakteri diinokulasikan dengan cara digores, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Uji positif bila media berwarna biru (Jawetz *et al.* 1986). Pada pengujian dengan menggunakan media Simmons citrat hasil pengujian bakteri *Shigella dysenteriae* diperoleh hasil media berwarna hijau, hasil uji tersebut dapat dituliskan dengan (-).

12. Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian antibakteri dalam penelitian ini menggunakan dua metode yaitu dilusi dan difusi. Dilusi digunakan untuk menentukan KHM dan KBM masing masing ekstrak baik ekstrak etanol daun jambu biji ataupun ekstrak

etanol daun jambu mete, selanjutnya dengan diketahuinya KBM masing-masing ekstrak akan digunakan untuk membuat ekstrak kombinasi dengan membuat larutan stok 1 ml sehingga dapat digunakan dalam pengujian selanjutnya yaitu difusi.

Dilusi ini dibuat dengan menggunakan 12 tabung steril. Konsentrasi larutan stok ekstrak tunggal yang dibuat adalah 50%, kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 1%. Larutan stok yang telah jadi secara aseptis dibuat deret konsentrasi dibawahnya yaitu 50%, 25%, 12.5% , 6.25%, 3.12% ,1.56% , 0.78% , 0.39% , 0.19%, 0,09%, kontrol (+), kontrol (-). Kontrol positif yang digunakan yaitu bakteri uji dan kontrol negatif yang digunakan yaitu ekstrak tunggal.

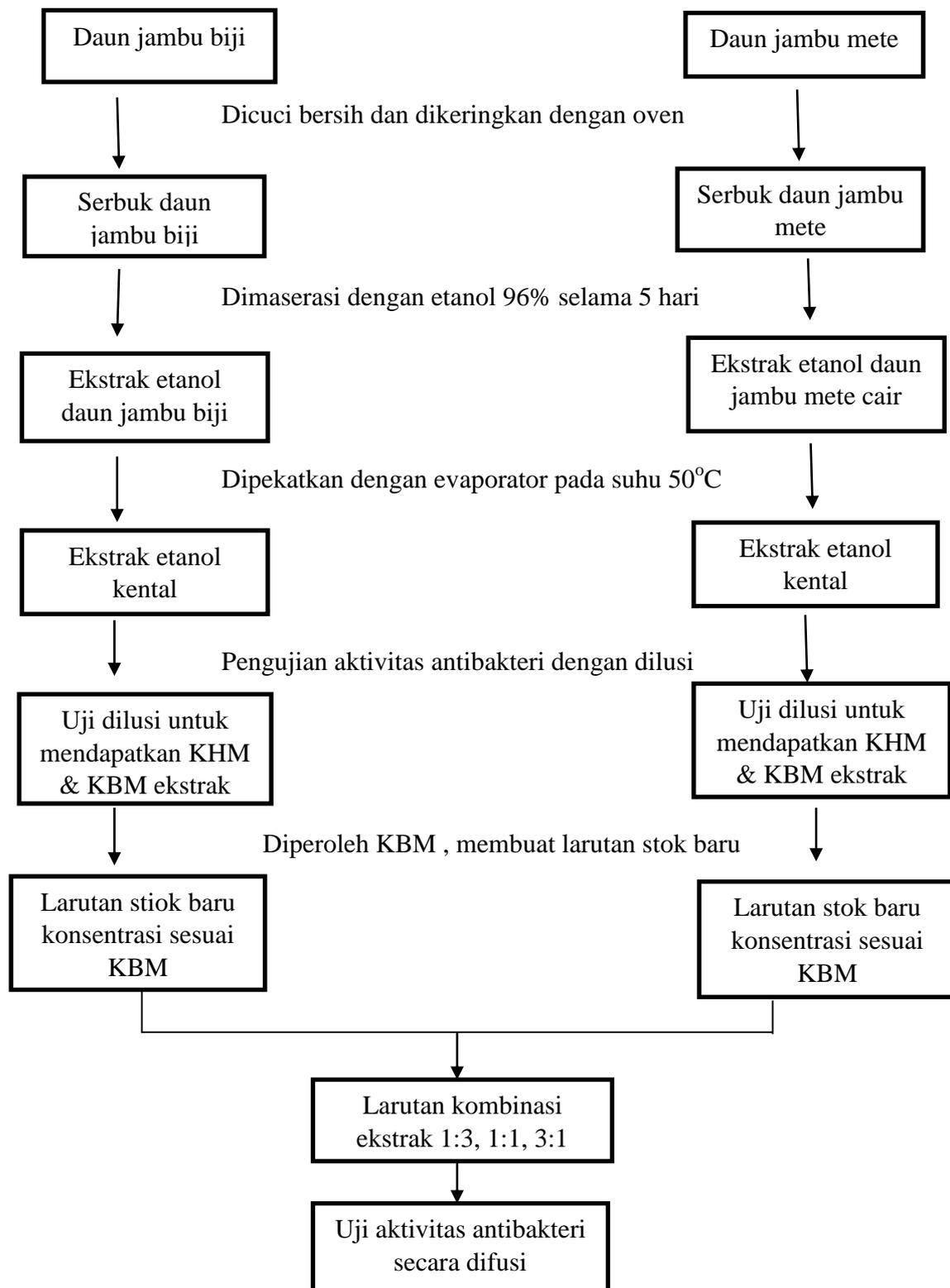
Media BHI sebanyak 0.5ml dimasukkan kedalam tabung ketiga hingga tabung kesebelas. Larutan stok Ekstrak tunggal dimasukkan 1 ml pada tabung pertama dan tabung kedua. Kemudian lakukan pengenceran bertingkat dari tabung kedua sampai tabung ke sebelas dengan cara dari tabung kedua dipipet 0,5ml dan dimasukkan kedalam tabung ketiga homogenkan, begitu seterusnya sampai pada tabung ke 11 kemudian dibuang. Selanjutnya, suspensi bakteri sebanyak 1 ml dimasukkan pada tabung duabelas dan sebanyak 0.5ml dimasukkan kedalam tabung kedua hingga tabung kesebelas. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati kekeruhannya, tabung yang jernih merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, untuk memastikan sudah tidak ada bakteri yang tumbuh pada konsentrasi tabung yang jernih dilakukan subkultur pada cawan dengan media MCA. Dilakukan inkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati hasil yang terdapat pada cawan ada atau tidaknya pertumbuhan bakterinya, selanjutnya amati pada konsentrasi berapa ekstrak tersebut sudah tidak ada pertumbuhan bakterinya. Konsentrasi yang diperoleh tersebut sebagai KBM. Konsentrasi (KBM) tersebut digunakan sebagai acuan untuk pembuatan larutan stok ekstrak kombinasi.

Pengujian antibakteri selanjutnya yaitu dengan menggunakan metode difusi. Metode difusi yang digunakan yaitu sumuran. Metode sumuran ini menggunakan 1 cawan petri yang terdapat 7 sumuran. Sumuran pertama berisi

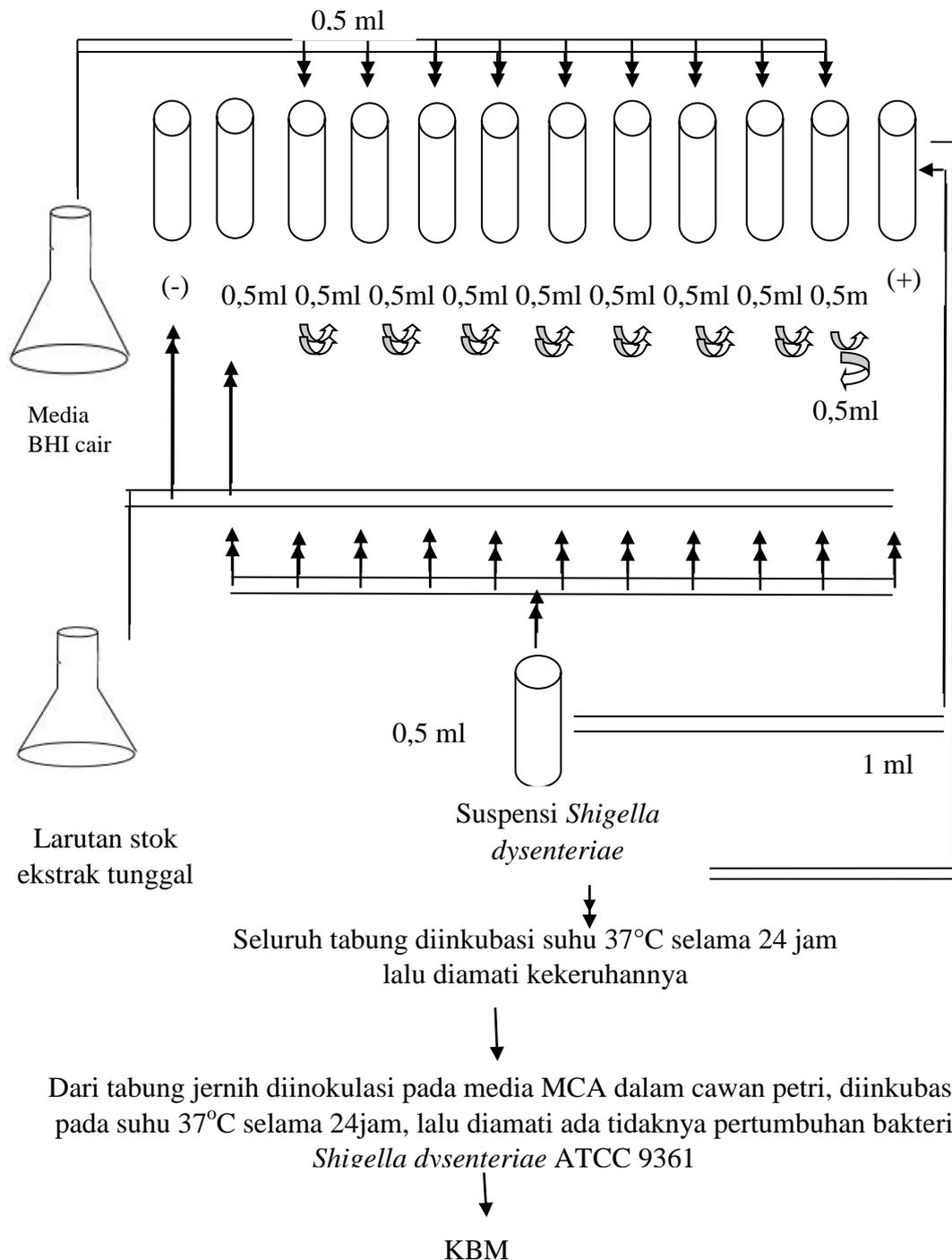
DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Sumuran kedua berisi disk kotrimoksazol sebagai kontrol positif. Sumuran ketiga berisi ekstrak daun jambu biji. Sumuran keempat berisi ekstrak daun jambu mete dan sumuran kelima berisi kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete. Setelah semua sumuran dalam cawan terisi, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, diamati hasilnya setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar sumuran yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar sumuran menunjukkan ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi dari daun jambu biji dan daun jambu mete memiliki daya hambat terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

E. Analisis Hasil

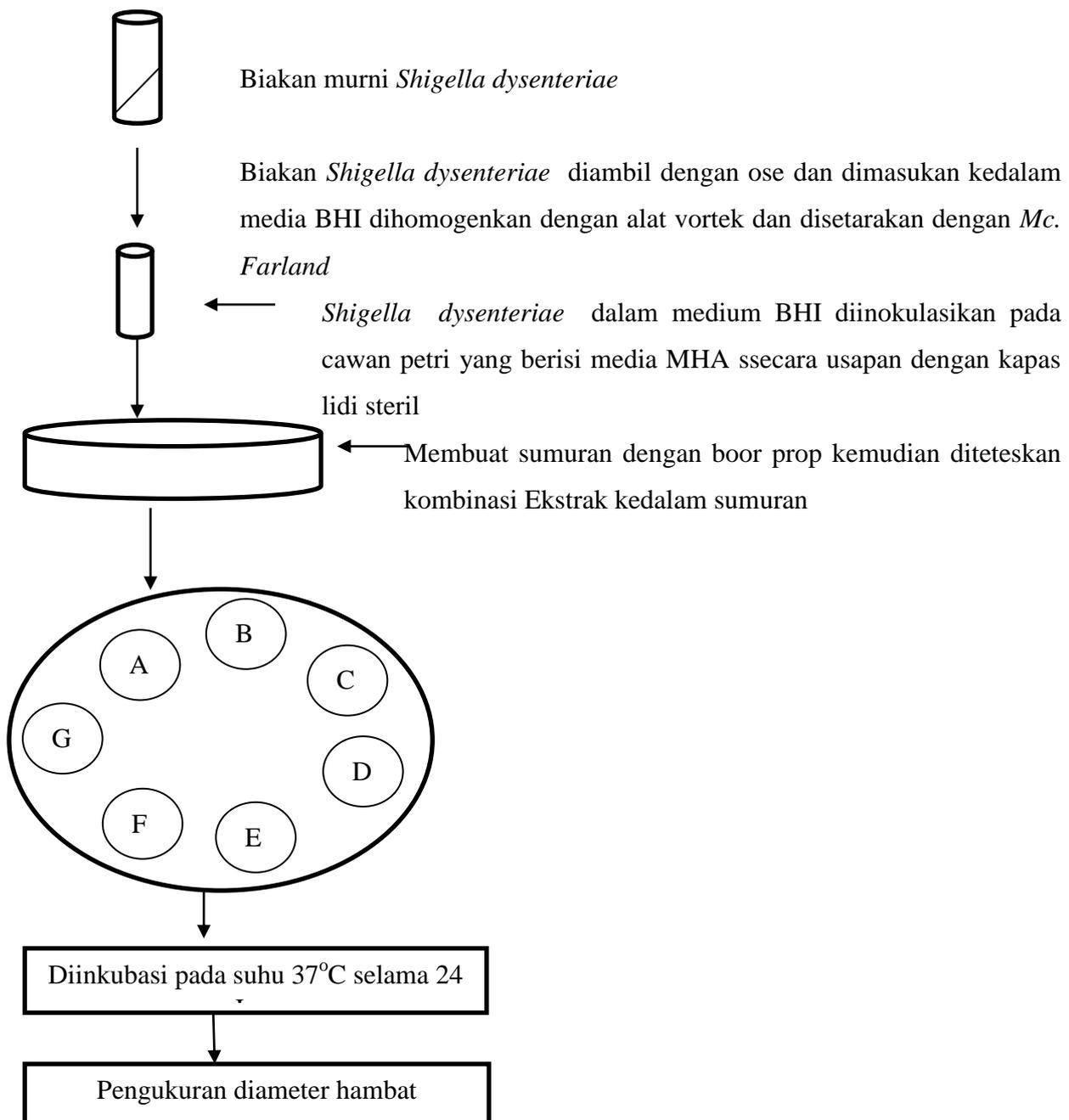
Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zonajernih disekeliling sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari masing masing lingkungan. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan kolmogorof-smirnov, jika terdistribusi normal selanjutnya dianalisis dengan One way ANOVA.



Gambar 3. Skema jalannya penelitian



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361



Keterangan =

- A : Diisi DMSO 1% (kontrol negatif)
- B : Dis Kotrimoksazol (kontrol positif)
- C : Diisikan dengan ekstrak etanol daun jambu biji
- D : Diisikan dengan ekstrak etanol dan daun jambu mete
- E : Diisikan dengan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dengan daun jambu mete 1:1
- F : Diisikan dengan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dengan daun jambu mete 1:3
- G : Diisikan dengan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dengan daun jambu mete 3:1

Gambar 5.Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil identifikasi tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan tanaman jambu mete (*Anacardium occidentale L.*)

1.1. Identifikasi tanaman jambu biji. Identifikasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta untuk menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistemika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta dan dinyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jambu biji. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

1.2. Identifikasi tanaman jambu mete. Identifikasi dilakukan dengan tujuan untuk menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain dan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan. Identifikasi tanaman jambu mete dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistemika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil identifikasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman jambu mete. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

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

Penelitian ini menggunakan daun jambu biji dan daun jambu mete. Daun jambu biji diambil dari Desa Jatirejo, Kabupaten Nganjuk, sedangkan daun jambu mete diambil dari Kec. Slogohimo Kab. Wonogiri. Dalam pengambilan daun dipilih daun yang utuh, bersih, masih segar dan berwarna hijau.

Daun jambu biji dan daun jambu mete yang telah dikumpulkan dibersihkan, dicuci dan dikeringkan. Pengeringan daun jambu biji dan daun jambu mete dalam penelitian ini menggunakan oven dengan suhu 40⁰C. Pengeringan bahan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air serta mencegah tumbuhnya jamur dan mikroorganisme lain. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji dan daun jambu mete

NamaSimplisia	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/v)
A	4000	2400	60 %
B	4500	1700	37,78 %

Keterangan :

Simplisia A : Daun jambu biji

Simplisia B : Daun jambu mete

Daun jambu biji basah sebanyak 4000 gram diperoleh bobot kering serbuk daun jambu biji 2400 gram dan rendemen yang diperoleh 60%. Daun jambu mete yang masih basah sebanyak 4500 gram diperoleh bobot kering serbuk daun jambu mete 1700 gram dan rendemen yang diperoleh 37,78%.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk

Hasil penentuan susut pengeringan daun jambu biji dan daun jambu mete dapat dilihat pada tabel 2

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan daun jambu biji dan daun jambu mete

Replikasi	Berat awal (gram)		Berat akhir (gram)		Susut pengeringan (% b/b)	
	A	B	A	B	A	B
1	2,000	2,000	1,83	1,72	9,4	9,4
2	2,000	2,000	1,82	1,71	9	9,5
3	2,000	2,000	1,83	1,72	9,4	9,4
Rata- rata					9,27	9,43

Keterangan :

A : Serbuk daun jambu biji

B : Serbuk daun jambu mete

Berdasarkan tabel 2, rata-rata hasil perhitungan susut pengeringan serbuk daun jambu biji yang dilakukan dengan tiga kali replikasi yaitu sebesar 9,27% dan serbuk daun jambu mete yang dilakukan tiga kali replikasi yaitu sebesar 9,43%. Serbuk daun jambu biji dan serbuk daun jambu mete memenuhi syarat karena prosentase susut pengeringan daun jambu biji dan daun jambu mete kurang dari 10%. Susut pengeringan kurang dari 10% untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur maupun bakteri dan dengan susut pengeringan kurang dari 10% sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno *et al.* 2008).

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete

Pembuatan ekstrak etanol dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi,. Ekstrasi maserasi dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% untuk menghasilkan ekstrak yang kental. Sebelum didapatkan ekstrak kental, dari ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator agar ekstrak yang diperoleh menjadi ekstrak kental. Hasil pembuatan ekstrak kental maserasi daun jambu biji dan daun jambu mete dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete.

Nama ekstrak	Bobot Serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
Ekstrak A	500	142	28,4%
Ekstrak B	500	196,62	39,32 %

Keterangan :

Ekstrak A : Ekstrak etanol daun jambu biji

Ekstrak B : Ekstrak etanol daun jambu mete

Hasil penetapan ekstrak etanol daun jambu biji dengan metode maserasi memiliki rendemen 28,4 % b/b. Ekstrak etanol daun jambu mete dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% memiliki rendemen 39,32 % b/b. Organoleptis ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete ekstrak berwarna hitam, tekstur kental dan memiliki bau khas aromatic. Ekstrak yang telah diperoleh selanjutnya diidentifikasi kandungan kimia pada daun jambu biji dan daun jambu mete. Hasil ekstrak dapat dilihat pada lampiran 4.

5. Hasil pengujian bebas alkohol etanol 96% daun jambu biji dan daun jambu mete

Hasil esterifikasi etanol dalam ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun mete dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil identifikasi bebas alkhohol

Esterifikasi	Hasil		Interpretasi 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

Ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun jambu mete sudah bebas dari pelarut etanol dibuktikan dengan tidak adanya bau ester yang khas etanol. Uji ini bertujuan agar etanol yang digunakan sebagai pelarut tidak mengganggu aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jambu biji dan ekstrak daun jambu mete.

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete

Identifikasi kandungan ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam daun jambu biji dan daun jambu mete. Identifikasi pada senyawa tanin, saponin, flavonoid dan alkaloid dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan daun jambu mete.

Kandungan kimia	Hasil ekstrak		Pustaka	Interpretasi data	
	A	B		A	B
Tanin	Warna hijau kehitaman	Warna hijau kehitaman	Terbentuk biru kehitaman atau kehitaman	+	+
Saponin	Terbentuk busa	Terbentuk busa	Terdapat busa yang tetap + HCl busa tidak hilang	+	+
Flavonoid	Warna kuning pada lapisan amil alkohol	Warna kuning pada lapisan amil alkohol	Warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol	+	+
Alkaloid	Dragendorff : endapan merah Mayer : endapan putih kekuningan	Dragendorff : endapan merah Mayer : endapan putih kekuningan	Terbentuknya endapan merah sampai jingga dengan reagen Dragendorff dan terbentuknya endapan putih kekuningan dengan reagen Mayer	+	+

Keterangan :

+ : terdapat golongan senyawa

Ekstrak A : Ekstrak daun jambu biji

Ekstrak B : Ekstrak daun jambu mete

Berdasarkan tabel 5 dapat diketahui kandungan kimia daun jambu biji dan daun jambu mete keduanya memiliki kandungan kimia tanin, saponin, flavonoid dan alkaloid. Senyawa tanin, saponin, alkaloid, dan flavonoid telah diketahui dapat digunakan sebagai antibakteri dengan mekanisme antibakteri yang berbeda pada setiap senyawa. Berdasarkan kandungan kimia yang dimiliki dapat diketahui dan dipastikan bahwa daun jambu biji dan daun jambu mete dapat digunakan sebagai antibakteri

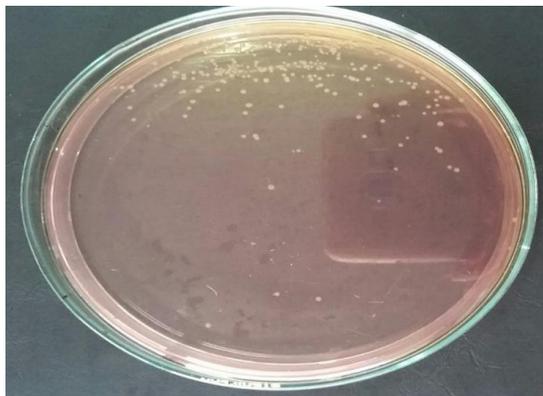
7. Hasil pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dalam biakan murni diambil masing-masing satu ose dan kemudian dimasukkan tabung yang telah diisi 10 mL media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi yang didapat diamati kekeruhannya dan distandarkan dengan Mc. Farland 0,5. Tujuan standarisasi dengan Mc Farland yaitu untuk pengendalian jumlah bakteri yang akan digunakan untuk penelitian sehingga bakteri yang digunakan selama penelitian berjumlah sama dan tujuan lain standarisasi ini adalah untuk mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

8. Hasil identifikasi bakteri uji

8.1. Hasil identifikasi makroskopis secara goresan. Identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara makroskopis dengan goresan menggunakan media selektif *Salmonella Shigella Agar (SSA)*. Identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dilakukan dengan menginokulasikan biakan *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media *Salmonella Shigella Agar (SSA)* dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Pengamatan koloni bakteri pada media yang telah diinkubasi yaitu tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysenteriae*, sehingga tidak dapat diidentifikasi menggunakan media *Salmonella Shigella Agar (SSA)*. Pengecekan pH media dilakukan untuk mengetahui penyebab tidak adanya pertumbuhan pada media tersebut. Setelah dilakukan pengecekan pH, diketahui bahwa pH dari media *Salmonella Shigella Agar (SSA)* tidak netral dan cenderung asam. *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dapat tumbuh pada pH 6,8-7,2, dengan pH yang tidak sesuai sehingga *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak dapat tumbuh pada media SSA. Identifikasi bakteri secara

goresan dilakukan dengan menggunakan media selektif diferensial yaitu *MacConkey Agar* (MCA). Media *MacConkey Agar* mampu untuk membedakan jenis bakteri berdasarkan warna yang dihasilkan oleh koloni bakteri. Identifikasi dengan menggunakan media *MacConkey Agar* (MCA) dilakukan dengan menginokulasikan bakteri dari biakan murni pada media MCA dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Penampakan koloni yang terjadi yaitu kecil, halus, tidak berwarna, konvek, tepi, dan permukaan rata. Identifikasi dilanjutkan dengan menggunakan uji biokimia untuk memastikan kebenaran bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Shigella dysenteriae* Hasil identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara inokulasi dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6 Hasil identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara inokulasi.

8.2. Hasil identifikasi secara mikroskopis dengan pewarnaan gram.

Pewarnaan gram Gram dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tersebut termasuk golongan Gram negatif. Pewarnaan gram menggunakan 4 macam pewarna yaitu Kristal violet (gram A) , lugol iodine / mordant (gram B) , alkohol (gram C) dan safranin (gram D).

Kristal violet merupakan cat warna yang pertama ditetaskan pada obyek glass dan Kristal violet merupakan cat utama yang akan memberi warna pada pada bakteri, setelah ditetesi Kristal violet maka bakteri uji semua akan berwarna ungu baik gram positif maupun gram negatif. Setelah ditetesi Kristal violet dilanjutkan dengan ditetesi gram B / Mordant. Gram B berwarna coklat dan Gram B digunakan sebagai penguat warna. Gram B akan memfiksasi Kristal violet yang diserap bakteri sehingga setelah pemberian Gram B warna yang terikat pada

bakteri akan semakin kuat. Pewarnaan selanjutnya menggunakan Gram C yang merupakan alkohol yang berperan sebagai peluntur cat warna sebelumnya. Akibat diteteskannya gram C menyebabkan terjadinya dua kemungkinan yaitu bakteri akan tetap berwarna ungu atau bakteri menjadi tidak berwarna. *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 merupakan salah satu bakteri yang berubah menjadi tidak berwarna setelah ditetesi larutan Gram C. Hal itu terjadi karena bakteri *Shigella dysenteriae* tidak tahan terhadap alkohol, sehingga ikatan antara cat dan bakteri luntur dan menjadikan bakteri tidak berwarna. Pewarnaan selanjutnya dengan pewarna Gram D yang berisi Safranin. Gram D merupakan cat penutup pada pewarnaan gram. Bakteri gram positif akan tetap berwarna ungu karena telah mengikat kuat warna dari cat Gram A sehingga tidak mampu mengikat cat Gram D. Bakteri gram negatif akan berwarna merah, karena pada cat sebelumnya telah dilunturkan oleh cat Gram C sehingga menjadi terikat dengan cat Gram D dan warna menjadi merah.

Bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 setelah dilakukan pewarnaan gram diketahui merupakan bakteri gram negative ditunjukkan dengan pengamatan dibawah mikroskop diketahui berwarna merah dan berbentuk batang / basil. Hasil identifikasi pewarnaan Gram bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dapat dilihat pada gambar 7 dan pada lampiran 10.



Gambar 7. Gambar hasil identifikasi mikroskopis *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

8.3. Identifikasi bakteri uji secara biokimia. Hasil identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara biokimia dapat dilihat pada tabel 6 dan gambar 8.

Tabel 6. Hasil identifikasi biokimia pada *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

Pengujian	Hasil	Pustaka (WHO 2003)
KIA	K / A S(-)	K / A S(-)
SIM	- + -	- + -
LIA	K / A S(-)	K / A S(-)
Citrat	-	-

Keterangan :

SIM : *Sulfida Indol Agar*

KIA : *Kliger Iron Agar*

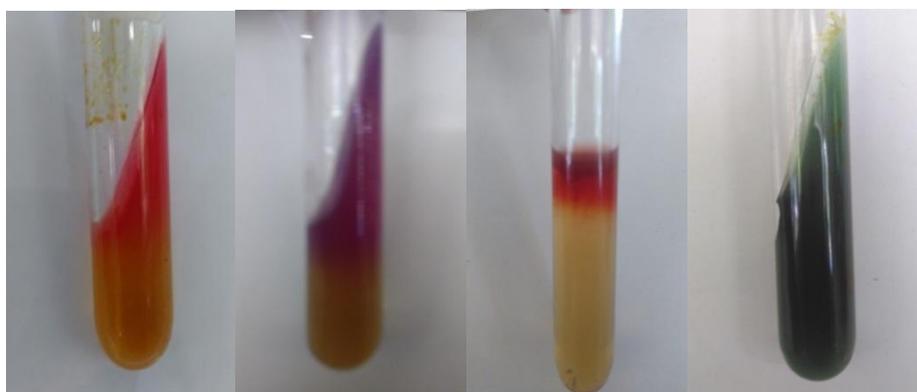
LIA : *Lysine Iron Agar*

K : merah (pada media KIA)

K : terbentuk warna ungu (pada media LIA)

A : terbentuk warna kuning

S(-) : tidak terbentuk warna hitam



Gambar 8. Gambar Hasil identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara biokimia.

Pengujian *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media KIA memberikan hasil bagian lereng berwarna merah (K) karena adanya proses oksidasi dekarboksilasi protein membentuk amina yang bersifat alkali dengan adanya *fenol red*. Bagian dasar berwarna kuning (A), karena *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 memfermentasi karbohidrat yaitu menguraikan glukosa dan tidak menguraikan laktosa. Sulfida negatif dengan tidak adanya warna hitam pada media yang dikarenakan tidak memproduksi hidrogen sulfida.

Pengujian *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media LIA diperoleh hasil bagian lereng berwarna ungu karena bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 mendekarboksilasi lisin sehingga menyebabkan reaksi basa, dasar berwarna kuning karena bakteri mendeaminasi lisin dan tidak membentuk warna hitam S(-) karena tidak memproduksi hidrogen sulfida.

Pengujian *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media SIM menunjukkan (- + -) yaitu *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak dapat mereduksi thiosulfate sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide sehingga media tidak berwarna hitam, indol positif karena *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menghasilkan enzim tryptophanase yang mengubah tryptophan menjadi indol. Indol bereaksi dengan reagen Erlich membentuk warna merah dan motilitas negatif yang berarti tidak ada pergerakan bakteri karena pertumbuhan bakteri hanya dibekas tusukan.

Pengujian *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media Citrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian pada media citrat menunjukkan bahwa dalam medium Citrat terdapat indikator BTB (*Bromo Thymol Blue*) yang merupakan indikator pH, jika bakteri memiliki kemampuan menggunakan citrat sebagai sumber karbonnya maka asam pada media citrat akan dihilangkan sehingga warna media akan berubah dari hijau menjadi biru. Pengujian pada media *Citrat* diperoleh hasil negatif berwarna hijau, yang berarti *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal (WHO 2003).

Berdasarkan identifikasi bakteri secara biokimia dapat dipastikan bahwa bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae*. Hasil identifikasi bakteri secara biokimia dapat dilihat pada lampiran 10.

9. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi.

Hasil ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode dilusi yaitu dengan menggunakan seri konsentrasi pengenceran bertingkat. Seri konsentrasi yang dibuat untuk pengujian ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09% dengan kontrol positif berupa suspensi bakteri dan kontrol negatif berupa ekstrak.

Pengujian aktivitas secara dilusi bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak terhadap bakteri uji.

Konsentrasi Hambat minimum dilihat dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak bisa dilihat kejernihannya karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan ekstrak yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri ekstrak yang dapat dilihat dari pengujian ekstrak terhadap bakteri uji pada tabung yang kemudian diinokulasikan pada media *MacConkey Agar* (*MCA*) untuk mengetahui ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media *MCA*. Hasil uji aktivitas antibakteri dilusi ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

No.	Konsentrasi (% b/v)	Ekstrak etanol daun jambu biji			Ekstrak etanol daun jambu mete		
		Replikasi			Replikasi		
		I	II	III	I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-
2	50	-	-	-	-	-	-
3	25	-	-	-	-	-	-
4	12,5	-	-	-	-	-	-
5	6,25	+	+	+	+	+	+
6	3,12	+	+	+	+	+	+
7	1,56	+	+	+	+	+	+
8	0,78	+	+	+	+	+	+
9	0,39	+	+	+	+	+	+
10	0,19	+	+	+	+	+	+
11	0,09	+	+	+	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

+ : Ada pertumbuhan

- : Tidak ada pertumbuhan

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dilakukan tiga kali pengulangan. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19% dan 0,09%. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi ini

bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak tunggal yang kemudian akan digunakan untuk ekstrak kombinasi. Hasil penelitian menunjukkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete sulit diamati karena kedua ekstrak berwarna dan sulit dibedakan antara yang keruh atau tidak, sehingga hanya bisa melihat KBM. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun jambu biji yaitu 12,5%. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun jambu mete yaitu 12,5%. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 11. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 12.

10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete beserta kombinasinya terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete dilakukan menggunakan metode difusi bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya daerah jernih disekitar sumuran, dimana adanya zona jernih disekitar sumuran merupakan ukuran kekuatan hambatan ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yang diinokulasikan pada media media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Uji difusi ini dilakukan untuk mengetahui kombinasi ekstrak yang mempunyai daya hambat paling baik terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dilakukan dengan perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete 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 uji ini dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun jambu biji dan ekstrak etanol 96% daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

Ekstrak	Diameter daerah hambat (mm)			Rata – rata diameter hambat (mm)
	Replikasi			
	I	II	III	
Kontrol positif (Kotrimoksazol)	40	39	39	39,33
Kontrol negatif (DMSO 1%)	0	0	0	0,0
Ekstrak etanol daun jambu biji 12,5%	15	16	15,5	15,5
Ekstrak etanol daun jambu mete 12,5%	17	17	18	17,33
Kombinasi ekstrak perbandingan 1:1	17,5	16,5	17	17,0
Kombinasi ekstrak perbandingan 1:3	20	19,5	19,5	19,67
Kombinasi ekstrak perbandingan 3:1	18,5	18,5	18	18,33

Berdasarkan tabel 8 didapatkan hasil diameter daerah hambat Kotrimoksazole 39,33 mm. Diameter daerah hambat ekstrak etanol daun jambu biji, ekstrak etanol daun jambu mete, kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dengan perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 berturut-turut adalah 15.5 mm, 17,33 mm, 17,0 mm, 19,67 mm, dan 18,33 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji, ekstrak etanol daun jambu mete, dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Ekstrak etanol daun jambu mete memiliki diameter daerah hambat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jambu biji sehingga ekstrak etanol daun jambu mete lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Kandungan kimia daun jambu mete yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu tannin, saponin, flavonoid, alkaloid, fenol dan asam anakardat.

Kombinasi 1:1 terdiri dari satu bagian ekstrak etanol daun jambu biji dan satu bagian ekstrak etanol daun jambu mete. Perbandingan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete 1:1 memiliki sifat antagonis karena kombinasi kedua ekstrak menyebabkan berkurangnya efektifitas ekstrak etanol daun jambu

mete dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Hal ini ditunjukkan dengan diameter daerah hambat kombinasi 1:1 lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak tunggal daun jambu mete. kombinasi 1:1 memiliki diameter daerah hambat kecil karena pada masing masing ekstrak memiliki konsentrasi yang kecil sehingga menunjukkan aktivitas antibakteri yang kecil.

Kombinasi 1:3 terdiri dari satu bagian ekstrak etanol daun jambu biji dan tiga bagian ekstrak etanol daun jambu mete. Perbandingan kombinasi 1:3 memiliki sifat sinergis karena kombinasi kedua ekstrak tersebut saling meningkatkan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Perbandingan kombinasi 1:3 merupakan kombinasi yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ditunjukkan dengan adanya diameter daerah hambat yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak etanol tunggal dan kombinasi 1:1 dan 3:1.

Kemampuan hambatan pada perbandingan kombinasi 1:3 dihasilkan oleh ekstrak etanol daun jambu mete yang dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak yang dikombinasikan dan dipengaruhi oleh adanya senyawa antibakteri seperti tanin, saponin, alkaloid, flavonoid, fenol dan asam anakardat. Senyawa antibakteri yang paling aktif pada daun jambu mete yaitu tanin, asam anakardat dan fenol (Agedah, et al. 2010). Tanin memiliki mekanisme antibakteri dengan mengkerutkan dinding sel bakteri atau membrane sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri itu sendiri. Tanin dapat berikatan dengan dinding sel bakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Ajiza 2004). Senyawa fenol pada daun jambu mete memberikan efek antibakteri yang dapat mengganggu dinding sel dan membran, mengendapkan protein, dan menonaktifkan enzim (Novitasari, 2012). Senyawa fenol bersifat bakterisid dan sangat rentan terhadap bakteri Gram positif serta Gram negatif. Senyawa fenol mempunyai mekanisme kerja mengendapkan protein, merusak dinding sel dan menonaktifkan enzim (Katzung, 2004). Asam anakardat memiliki efek antibakteri dengan bekerja sebagai surfaktan yang merusak dinding sel karena Asam anakardat dapat menghambat sintesis lipid pada dinding sel bakteri dengan cara menghambat enzim gliserol 3 fosfat dihidrogenase. (Kubo, 2003).

Kombinasi 3:1 terdiri dari tiga bagian ekstrak etanol daun jambu biji dan satu bagian ekstrak etanol daun jambu mete. perbandingan kombinasi 3:1 memiliki sifat sinergi karena kombinasi kedua ekstrak tersebut dapat saling memperkuat aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Jumlah ekstrak etanol daun jambu biji yang lebih banyak dapat meningkatkan aktivitas dari ekstrak etanol daun jambu mete dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 karena pada ekstrak tunggal diameter daerah hambat ekstrak etanol daun jambu mete sebesar 17,33 mm, setelah dikombinasikan dengan tiga bagian ekstrak etanol daun jambu biji terjadi peningkatan luas diameter daerah hambat yang dihasilkan yaitu 18,33 mm. Kenaikan diameter daerah hambat ini dikarenakan adanya metabolit sekunder seperti tanin yang ditemukan pada daun jambu biji dan daun jambu mete.

Perbandingan kombinasi 3:1 menunjukkan efek sinergis meskipun tidak sekuat perbandingan 1:3. Perbandingan 3:1 dan 1:3 memiliki persamaan kandungan kimia yang dimiliki seperti tanin, saponin, alkaloid dan flavonoid yang mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, meskipun demikian efek antibakteri yang dihasilkan berbeda, hal ini dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak etanol daun jambu mete yang dikombinasikan. Ekstrak etanol daun jambu mete memiliki kandungan senyawa antibakteri yang lebih banyak dibandingkan pada daun jambu biji, senyawa antibakteri yang hanya dimiliki oleh daun jambu mete seperti asam anakardat, metil kardol dan kardol akan mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dihasilkan. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun jambu mete yang dikombinasikan maka senyawa antibakteri pada daun jambu mete yang lebih banyak seperti asam anakardat, metil kardol dan kardol lebih aktif dalam menunjukkan kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, sehingga menghasilkan diameter daerah hambat yang besar.

Ekstrak etanol daun jambu mete pada kombinasi 3:1 hanya mampu menunjukkan kemampuan hambatan yang lebih baik dari ekstrak etanol daun jambu mete tunggal, tetapi masih dibawah kombinasi perbandingan 1:3.

Diasumsikan bahwa efektifitas ekstrak etanol daun jambu mete meningkat jika dikombinasikan dengan ekstrak etanol daun jambu biji dibandingkan dengan ekstrak etanol tunggal. Perbandingan kombinasi 1:3 yang komposisi ekstrak etanol daun jambu mete lebih banyak sehingga senyawa asam anakardat, metil kardol kardol fenol dan tanin yang ada semakin aktif dengan menunjukkan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Diameter daerah hambat kotrimoksazol lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jambu biji, ekstrak etanol daun jambu mete dan kombinasi keduanya. Perbandingan antara ekstrak etanol daun jambu biji, daun jambu mete, dan kombinasi keduanya dengan antibiotik kotrimoksazol sebagai antibakteri menunjukkan hasil yang masih sangat jauh dari yang diharapkan karena kotrimoksazol termasuk senyawa tunggal yang sudah terbukti khasiatnya baik secara klinis maupun uji lainnya, sedangkan pada penelitian ini menggunakan ekstrak dari tanaman yang berkhasiat sebagai obat tradisional yang belum dilakukan uji klinis dan terdiri dari beberapa senyawa, dimana campuran senyawa yang terkandung dalam setiap ekstrak tidak keseluruhannya memiliki aktivitas antibakteri sehingga efektifitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang dihasilkan tidak sekuat kotrimoksazol.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji, ekstrak etanol daun jambu mete dan kombinasi ekstrak keduanya diperoleh data yang selanjutnya dianalisis dengan menggunakan statistik One Way ANOVA. Analisis data yang diperoleh menggunakan One Way ANOVA bertujuan untuk membandingkan hubungan antara ekstrak tunggal daun jambu biji, ekstrak tunggal daun jambu mete, kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 kontrol positif serta kontrol negatif untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan.

Data diameter zona hambat dari ekstrak tunggal daun jambu biji, ekstrak tunggal daun jambu mete, kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete, kontrol positif, dan kontrol negatif diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal

atau tidak. Hasil yang diperoleh dari analisis diameter zona hambat menunjukkan signifikansi $0,058 > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal. Terdistribusi normal dibuktikan dari signifikansi yang $>0,05$. Berdasarkan hasil test homogenitasnya data dinyatakan homogen dengan nilai signifikansi $0,142 > 0,05$.

Data diameter daerah hambat yang diperoleh terdistribusi normal dan data yang dianalisis bersifat homogen. Data yang terdistribusi normal dan homogen dapat dianalisis dengan menggunakan One way ANOVA. Untuk mencari subsets mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan dengan melihat hasil pada homogeneous subsets. Terlihat dari sediaan uji terbagi dalam 6 subset, setiap subsetnya mempunyai beda nyata, dalam satu subset terlihat bahwa tidak memiliki beda nyata dalam menghambat aktivitas antibakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Uji statistik menunjukkan bahwa semua hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan tidak sebanding dengan kontrol positif. Hal tersebut ditunjukkan dari ekstrak etanol dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete yang tidak berada pada satu subset yang sama dengan kotrimokzasol. Perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete 1:1 memiliki efektifitas yang sama dengan ekstrak etanol jambu mete karena berada dalam satu subsets. Perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete 3:1 memiliki efektifitas yang sama dengan ekstrak etanol jambu mete karena berada dalam satu subsets. Perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete 1:3 memiliki efektifitas yang berbeda dengan ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi perbandingan 1:1 dan 3:1, sehingga kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete dengan perbandingan 1:3 lebih efektif dibandingkan dengan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete 1:1 dan 3:1 karena memiliki perbedaan yang nyata dilihat dari perbedaan subsetsnya. Hasil analisis data ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol, daun jambu mete serta kombinasi keduanya dapat dilihat pada lampiran 15.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 adalah 12,5%.

Kedua, dari ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) dan kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas antibakteri teraktif terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 adalah kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete dengan perbandingan 1:3.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete dengan meningkatkan perbandingan kombinasi ekstrak.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun jambu mete dengan menggunakan bakteri uji yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- [CVMP] Comitte for Veterinary Medicinal Products. 1999. *Antibiotik Resistance in European Union Associated with Therapeutic Use of Veterinary Medicines*. London : EMEA. Hlm 1.
- [Depkes RI]. 1985. *Cara pembuatan simplisia*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 2,5,10-12
- [Depkes RI]. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 1*. Jakarta RI. Hlm 177-178.
- [Depkes] RI.2007. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehaan Republik Indonesia. Hlm X.
- [WHO] World Health Organization. 2005. *Guidline for Control of Shigellosis,Including Epidemics Due to Shigella dysenteriae Type 1*. Switzerland: WHO. hlm. 2-4, 12-13.
- Adyana, I. (2004). Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih Dan Jambu Biji Daging Buah Merah Sebagai Antidiare. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 29(1): 18-20.
- Agedah, C. E., Bawo, D. D. S., & Nyananyo, B. L., 2010, Identification of antimicrobial properties of cashew, *Anacardium occidentale* L. (Family Anacardiaceae), *J. Appl. Sci. Environ. Manage.*, 14 (3).
- Ajizah, Aulia. 2004. *Sensitivitas Salmonella typhimurium terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava* L. Laporan Penelitian. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin.
- Akinpelu, D. A., 2001. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale*, bark. *Fitoterapia* 72, 286–287
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi edisi IV*, Jakarta: Universitas Indonesia.
- Arekemase MO, Oyeyiola GP, Aliyu MB. 2011. Antibacterial Activity of *Anacardium occidentale* L. on Some Enterotoxin Producing Bacteria. *International Journal of Biology* 3:92-99.
- Arya, V., Thakur, N., and Kashyap, C.P., 2012, *Preliminary Phytochemical Analysis of the Extracts of Psidium Leaves*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1 (1) : 2278-4136
- Benedikta,Coo Mogi. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil asetat, dan Air Dari Daun Turi (*Sesbania grandiflora* Pers) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361[Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Bipul Biswas, Kimberly Rogers, Fredrick McLaughlin, Dwayne Daniels, and Anand Yadav. 2013. *Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (Psidium guajava L.) on Two Gram-Negatif and Gram- Positive Bacteria*. *International Journal of Microbiology* Volume 2013.

- Birdi, T. , P. Daswani, S. Brijesh, P. Tetali, A. Natu and N. Antia. (2010). Newer insights into the mechanism of action of *Psidium guajava* L. leaves in infectious diarrhoea. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10:1-11.
- Bonang, G. & Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta : PT. Gramedia.
- Chen, S. , Chung, K. , 2000. Mutagenicity and antimutagenicity studies of tannic acid and its related compounds. *Food Chem. Toxicol.* 38, 1–5.
- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Cetakan 1. Jakarta: Trubus Agriwidya
- Dewanti S, Wahyudi TM. 2011. Antibacterial activity of day leaf infuse (*Folia Syzygium polyanthum* Wight) to *Escherichia coli* in-vitro [Skripsi]. Faculty of medicine, Airlangga Universitas.
- El Sohafy, S.M., Metwalli, A.M., Harraz, F.M. and Omar, A.A. (2009) Quantification of Flavonoids of *Psidium guajava* L. Preparations By Planar Chromatography (HPTLC). *Pharmacognosy Magazine*, 5, 61-66
- Fattoruso E dan Scafati OT, editor. 2008. *Modern Alkaloids*. Weinheim : WILEYVCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Ganiswara, S. G. ,1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia , Jakarta, hlm 571-575.
- Goodman and Gilman. 2007. *Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta : EGC
- Goncalves, J. L. S. , Lopes, R. C. , Oliveira, D. B. , Costa, S. S. , Miranda, M. M. F. S. , Romanos, M. T. V. , Santos, N. S. O. , Wigg, M. D. , 2005. In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhoea. *J. Ethnopharmacol.* 99, 403–407.
- Gumawan D dan Mulyani S, 2004, *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*, Jilid I, Jakarta: Penebar Swadaya, Hlm 667-714.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Cetakan kedua, diterjemahkan oleh Padmawinata, K. & Soediro, I. , 49, Bandung, Penerbit ITB
- Harmintha, 2004 . *Analisis Hayati*. Universitas Indonesia Press, Jakarta
- Haryanto, Sugeng. 2012. *Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia*. PALMALL. Yogyakarta
- Herbie, T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kesehatan Tubuh*. Yogyakarta : Octopus Publishing House.
- Hidayatullah. 2013. *Pemberian Ekstrak Daun Jambu Monyet (Anacardium occidentale L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Jurnal ilmiah.
- Ismail, M. , Minhas PS, F. Khanum, Sahana VM and Sowmya. (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. *Review of Medical Mikrobiologi*. Ed ke 16, penerjemah ; Gerard Bonang. Jakarta : EGC. Hlm 239, 241-243.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. (H. Hartanto, C. Rachman, A. Dimanti, A. Diani). Jakarta : EGC. p. 199 – 200 : 233.

- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2010. *Medical Mikrobiologi* . Ed ke 25. New York : McGraw Hill Medical. Hlm 238, 351-354, 357.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. Jakarta : buku kedokteran EGC. Hlm 230-231.
- Kirtikar, K. R. and Basu, B. D. In: *Indian Medicinal Plants*, Vol I, 2nd ed, International Book Distributors, Dehradun, India, 1995; pp. 790-791.
- Kubo, I., K. Nihei, and K. Tsujimoto. 2003. *Antibacterial Action of Anacardic Acid against Metichilin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. *J Agrie Food Chem* 51: 7624-7628
- Kudi, A. C. , Umoh, J. U. , Eduvie, L. O. , Gefu, J. , 1999. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 67, 225–228.
- Kumalasari E, Sulistyani N. 2011. Aktivitas Antifungi ekstrak etanol batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 1(2): 51-62, 59-60.
- Leboffe MJ, Pierce BE. 2011. *A Photographic Atlas for The Microbiology Laboratory*. Ed ke 4. USA : Morton Publishing Company. Hlm 2-6,13,64,80-81, 94-96, 127-128, 156-157.
- List P. H. , P. C. Schmidt. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. Alih bahasa David Ellaby. Florida: CRC Press. Hal. 67. 71. 73. 107-111
- Madduluri, Suresh R, Babu K, Sitaram B. 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plant extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 1(8):88-91.
- Maryuni, A. E. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri Minyak Atsiri Daun Zodia (*Evodia* sp.). [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor Sekolah Pascasarjana
- Nafianti S, Sinuhaji AB. 2005. Resistensi trimetoprim – sulfametoksazol terhadap shigellosis. *Sari pediatri* 7: 39- 44.
- Novitasari, F. 2012. Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Shigella sonnei*, Surakarta, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ojewole, J. A. , 2004. Potentiation of the anti-inflammatory effect of *Anacardium occidentale* L. stem-bark extract by grape fruit juice. *J. Clin. Pharmacol.* 26, 183–188.
- Olajide, O. A. , Aderogba, M. A. , Adedapo, A. D. A. , Makinde, J. M. , 2004. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. *J. Ethnopharmacol.* 95, 139–142.
- Olajide, O. A. , Aderogba, M. A. , Fiebich, B. L. , 2013. Mechanisms of anti-inflammatory property of *Anacardium occidentale* stem bark: inhibition of NF- κ B and MAPK signaling in the microglia. *J. Ethnopharmacol.* 145, 42–49.
- Oliphant, C. M., Green, G. M., 2002, *Quinolones: A Comprehensive Review*. *Am. Fam. Physician.* 65: 455–464

- Parimin, S. P. 2005. *Jambu Biji : Budidaya dan Ragam Pemanfaatannya*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Radji M. 2011. *Mikrobiologi*. Buku kedokteran ECG, Jakarta.
- Raina. 2011. *Ensiklopedi Tanaman Obat untuk Kesehatan*. Yogyakarta: Absolut
- Ramyashree M, Krishna Ram H, Shivabasavaiah. 2012. Ethnomedicinal value of opuntia elatior fruits and its effect in mice. University of Mysore. Karnataka. India. *Journal of Pharmacy Research* 8 : 4554-4558.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Edisi VI. Padwaminta, penerjemah ; Bandung : ITB Bndung. Terjemahan: the Organic constituents of higher plants.
- Robinson T. 1998. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Edisi VI. Padwaminta, penerjemah ; Bandung : ITB Bndung. Terjemahan: the Organic constituents of higher plants.
- Rostinawati T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) terhadap *Eschericia coli*, *Salmonella thypi*, dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar [Penelitian Mandiri]. Jatinagor : Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran.
- Setiawan D. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Penerbit Dinamika Media. Halaman 23-25.
- Simanjutak CH. 1991. *Epidemiologi Disentri*. Cermin Dunia Kedokteran. Jakarta : PT. Midas Surya Grafindo. Hlm 18-20.
- Sokeng, D. S. , Kamtchouing, P. , Watcho, P. , Jatsa, H. B. , Moundipa, P. F. , Ngounou, F. N. , Lontsi, D. , Bopelet, M. , 2001. Hypoglycemic activity of Anacardium occidentale L. aqueous extract in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Diabetes Res.* 36, 1–9.
- Suriawiria U. , 1986. *Mikrobiologi Dasar*. Papua Sinar Sinanti. Jakarta.
- Suriawiria, U. , 2005, *Pengantar Mikrobiologi umum*, Penerbit Angkasa , Bandung, 60-61, 57-58.
- Taiz, Lincoln dan Eduardo Zeiger. 2002. *Plant Physiology Third Edition*. Massachusetts : Sinauer Associates, Inc. ,Publisher.
- Taylor, L. N. D. , 2005. *The Healing Power of Rainforest Herbs: A Guide to Understanding and Using Herbal Medicinals*. Square One Publishers, Garden City Park, p. 535.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-Obat Penting*. Edisi Kelima. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tjitrosoepomo, G. 2005. *Taksonomi Tumbuhan Obat – obatan*. Yogyakarta : UGM.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, penerjemah; Soendani Noerono Soewandi. Ed ke-5 Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hlm 561, 564.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi umum*. Edisi I. Malang : Diterjemahkan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Yatim F. 2001. *Macam macam penyakit menular dan pencegahannya*. Jakarta : Pustaka Populer Obor. Hlm 39 – 41.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Hasil determinasi



UPT- LABORATORIUM

No : 092/DET/UPT-LAB/21/X/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkanbahwa :

Nama : Arum Dian Kusuma
NIM : 19133866 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 :

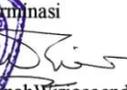
Habitus : Pohon, tinggi 3 - 10 m.

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

Daun : Tunggal, berhadapan, tepi rata. Daun muda berbulu abu-abu. Daun bertangkai pendek, bulat panjang atau memanjang, pangkal runcing, ujung tumpul, tepi rata, seperti kertas, tulang daun menyirip, panjang 7 - 9,5 cm, lebar 3,7 - 5 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 lk1 cm. Daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 1,5 - 2cm, 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.

Jakarta, 21 Oktober 2016
Tim Determinasi

Dra. Karimah Wirjosoendjojo, SU.



UPT- LABORATORIUM

No : 092/DET/UPT-LAB/21/X/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkanbahwa :

Nama : Arum Dian Kusuma
NIM : 19133866 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 melekok ke dalam, gundul, 14,5 – 17 kali 8,8 – 10 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 1cm;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.



Jakarta, 21 Oktober 2016
Tipe Determinasi

Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji dan daun jambu mete

1. Sampel daun jambu biji

No	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen %
1	4000	2400	60 %

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot kering}}{\text{Bobot basah}} \times 100\% \\ &= \frac{2400}{4000} \times 100\% = 60\% \end{aligned}$$

Jadi, prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji adalah 60%.

2. Sampel daun jambu mete

No	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen %
1	4500	1700	37,78 %

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot kering}}{\text{Bobot basah}} \times 100\% \\ &= \frac{1700}{4500} \times 100\% = 37,78\% \end{aligned}$$

Jadi, prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mete adalah 37,78%.

Lampiran 3. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan daun jambu mete.

1. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Susut pengeringan (%)
1	2,000	1,82	9,4
2	2,000	1,83	9,0
3	2,000	1,82	9,4
Rata - rata			9,27

$$\text{Rata - rata} = \frac{9,4+9,0+9,4}{3} = 9,27\%$$

Jadi, prosentase rata-rata susut pengeringan daun jambu biji adalah 9,27 %.

2. 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
Rata - rata			9,43

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

Jadi, prosentase rata-rata susut pengeringan daun jambu mete adalah 9,43 %.

Lampiran 4. Perhitungan kadar rendemen ekstrak

Nama ekstrak	Bobot Serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
Ekstrak A	500	142	28,4 %
Ekstrak B	500	196,62	39,32 %

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

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

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen daun jambu mete} &= \frac{196,62}{500} \times 100\% \\ &= 39,32\% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Pembuatan larutan stok sediaan uji

- a. Pembuatan larutan stok pada perbandingan kombinasi 1:1; 1:3 dan 3:1
1. Pembuatan larutan stok pada perbandingan kombinasi 1:1. Mengambil 0,5 ml larutan stok ekstrak daun jambu biji dan 0,5 ml larutan stok ekstrak daun jambu mete kemudian homogenkan.
 2. Pembuatan larutan stok pada perbandingan kombinasi 1:3. Mengambil 0,25 ml larutan stok ekstrak daun jambu biji dan 0,75 ml larutan stok ekstrak daun jambu mete kemudian homogenkan.
 3. Pembuatan larutan stok pada perbandingan kombinasi 3:1. Mengambil 0,75 ml larutan stok ekstrak daun jambu biji dan 0,25 ml larutan stok ekstrak daun jambu mete kemudian homogenkan.
- b. Pembuatan larutan stok konsentrasi 50%. Menimbang 5 gram ekstrak daun jambu biji kemudian di larutkan dengan DMSO 1% sampai 10 ml. Menimbang 5 gram ekstrak daun jambu mete kemudian di larutkan dengan DMSO 1% sampai 10 ml.
- c. Pembuatan larutan stok konsentrasi 12,5%
- $$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$
- $$V_1 \cdot 50\% = 5\text{ml} \cdot 12,5\%$$
- $$V_1 = 1,25 \text{ ml}$$
- Mengambil 1,25 ml dari larutan stok ekstrak konsentrasi 50% kemudian tambah DMSO 1% sampai 5 ml.

Lampiran 6. Foto daun jambu biji dan daun jambu mete



Daun jambu biji



Daun jambu



Serbuk daun jambu
biji



Serbuk daun jambu
mete

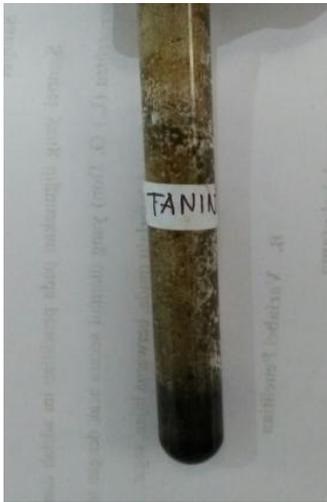
Lampiran 7. Foto ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun jambu mete.



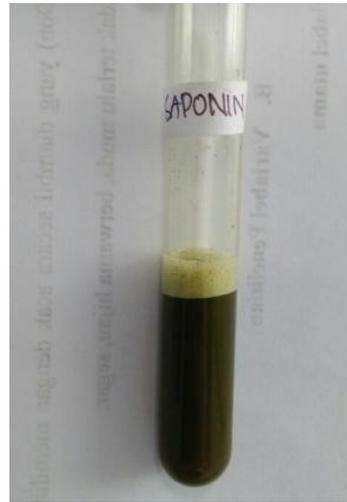
Ekstrak etanol daun jambu biji



Ekstrak etanol daun jambu mete

Lampiran 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji

tanin



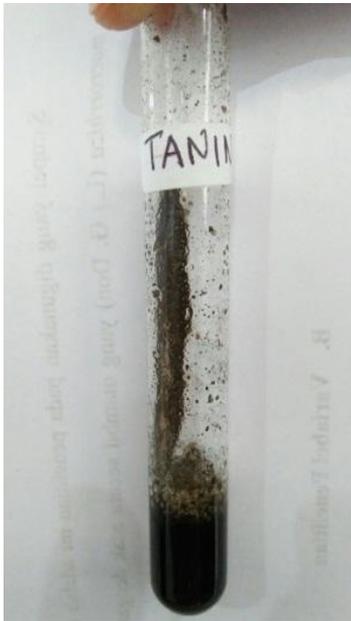
Saponin



alkaloid



flavonoid

Lampiran 9. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu mete

Tanin



saponin

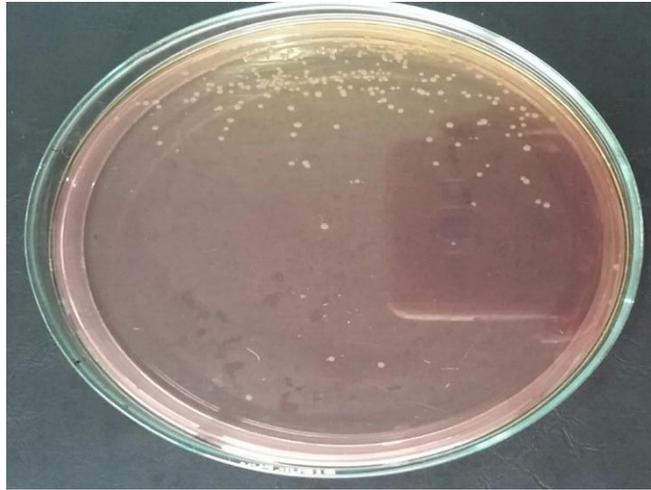


alkaloid

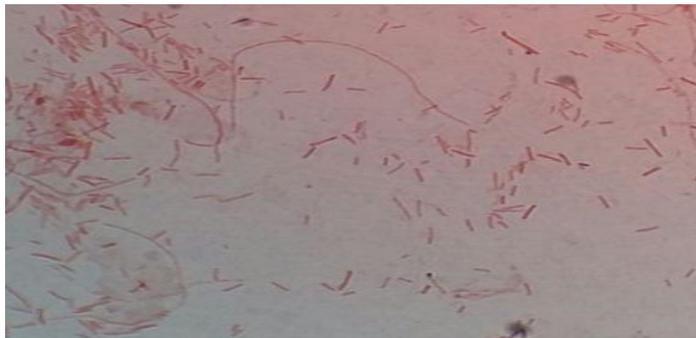


flavonoid

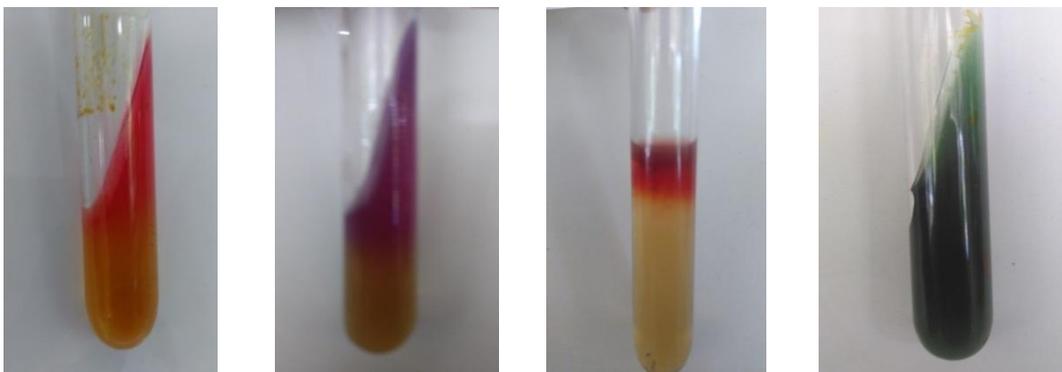
Lampiran 10. Foto hasil uji makroskopis, uji mikroskopis dan uji biokimia bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.



Hasil uji makroskopis *Shigella dysenteriae* ATCC 9361



Hasil uji mikroskopis *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

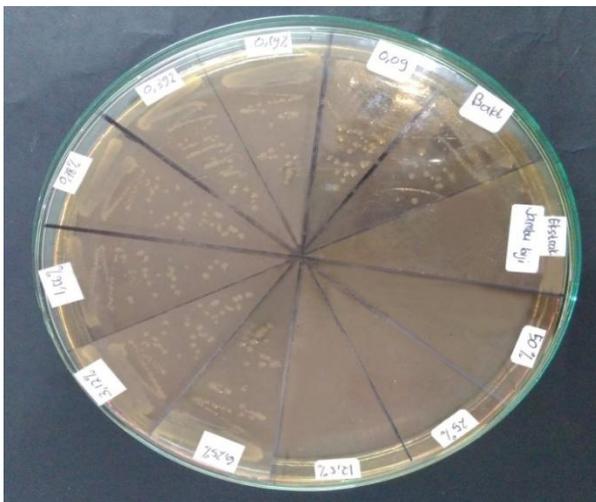


Hasil uji biokimia *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Lampiran 11. Foto hasil uji dilusi ekstrak etanol daun jambu biji terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.



Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi pada tabung reaksi dengan seri pengenceran.

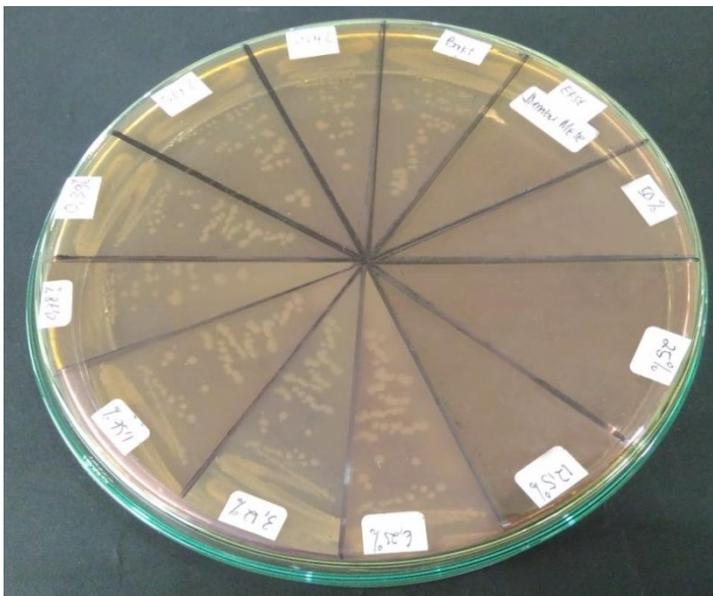


Hasil Inokulasi ekstrak etanol daun jambu biji terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media MCA.

Lampiran 12. Foto hasil uji dilusi ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

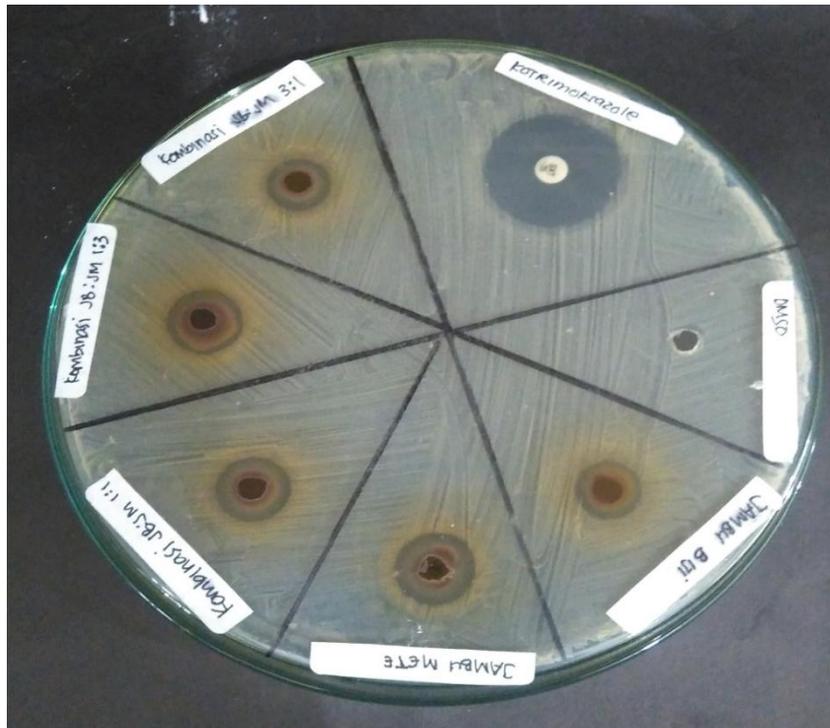


Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi pada tabung reaksi dengan seri pengenceran.



Hasil Inokulasi ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media MCA.

Lampiran 13. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan jambu mete serta kombinasi kedua ekstrak terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara difusi.



Lampiran 14. Foto alat alat yang digunakan dalam penelitian



Lampiran 15. Hasil analisis data dengan statistik menggunakan one way anova

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameterhambat	21	18.167	10.8884	.0	40.0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameterhambat
N		21
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	18.167
	Std. Deviation	10.8884
Most Extreme Differences	Absolute	.290
	Positive	.290
	Negative	-.243
Kolmogorov-Smirnov Z		1.330
Asymp. Sig. (2-tailed)		.058

Test of Homogeneity of Variances

Diameterhambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.952	6	14	.142

ANOVA

Diameterhambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2368.500	6	394.750	2072.438	.000
Within Groups	2.667	14	.190		
Total	2371.167	20			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) Variabel	(J) Variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kotrimoksazol	Dmso	39.3333*	.3563	.000	38.117	40.550
	jambu biji	23.8333*	.3563	.000	22.617	25.050
	jambu mete	22.0000*	.3563	.000	20.783	23.217
	kombinasi 1:1	22.3333*	.3563	.000	21.117	23.550
	kombinasi 1:3	19.6667*	.3563	.000	18.450	20.883
	kombinasi 3:1	21.0000*	.3563	.000	19.783	22.217
Dmso	Kotrimoksazol	-39.3333*	.3563	.000	-40.550	-38.117
	jambu biji	-15.5000*	.3563	.000	-16.717	-14.283
	jambu mete	-17.3333*	.3563	.000	-18.550	-16.117
	kombinasi 1:1	-17.0000*	.3563	.000	-18.217	-15.783
	kombinasi 1:3	-19.6667*	.3563	.000	-20.883	-18.450
	kombinasi 3:1	-18.3333*	.3563	.000	-19.550	-17.117
jambu biji	Kotrimoksazol	-23.8333*	.3563	.000	-25.050	-22.617
	Dmso	15.5000*	.3563	.000	14.283	16.717
	jambu mete	-1.8333*	.3563	.002	-3.050	-.617
	kombinasi 1:1	-1.5000*	.3563	.012	-2.717	-.283
	kombinasi 1:3	-4.1667*	.3563	.000	-5.383	-2.950
	kombinasi 3:1	-2.8333*	.3563	.000	-4.050	-1.617
jambu mete	Kotrimoksazol	-22.0000*	.3563	.000	-23.217	-20.783
	Dmso	17.3333*	.3563	.000	16.117	18.550
	jambu biji	1.8333*	.3563	.002	.617	3.050
	kombinasi 1:1	.3333	.3563	.960	-.883	1.550
	kombinasi 1:3	-2.3333*	.3563	.000	-3.550	-1.117
	kombinasi 3:1	-1.0000	.3563	.142	-2.217	.217
kombinasi 1:1	Kotrimoksazol	-22.3333*	.3563	.000	-23.550	-21.117
	Dmso	17.0000*	.3563	.000	15.783	18.217
	jambu biji	1.5000*	.3563	.012	.283	2.717

	jambu mete		- .3333	.3563	.960	-1.550	.883
	kombinasi 1:3		-2.6667*	.3563	.000	-3.883	-1.450
	kombinasi 3:1		-1.3333*	.3563	.028	-2.550	-.117
kombinasi 1:3	Kotrimoksazol		-19.6667*	.3563	.000	-20.883	-18.450
	Dmso		19.6667*	.3563	.000	18.450	20.883
	jambu biji		4.1667*	.3563	.000	2.950	5.383
	jambu mete		2.3333*	.3563	.000	1.117	3.550
	kombinasi 1:1		2.6667*	.3563	.000	1.450	3.883
	kombinasi 3:1		1.3333*	.3563	.028	.117	2.550
kombinasi 3:1	Kotrimoksazol		-21.0000*	.3563	.000	-22.217	-19.783
	dmso		18.3333*	.3563	.000	17.117	19.550
	jambu biji		2.8333*	.3563	.000	1.617	4.050
	jambu mete		1.0000	.3563	.142	-.217	2.217
	kombinasi 1:1		1.3333*	.3563	.028	.117	2.550
	kombinasi 1:3		-1.3333*	.3563	.028	-2.550	-.117

Homogeneous Subsets

Diameterhambat

Tukey HSD^a

Variabel	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Dmso	3	.000					
jambu biji	3		15.500				
kombinasi 1:1	3			17.000			
jambu mete	3			17.333	17.333		
kombinasi 3:1	3				18.333		
kombinasi 1:3	3					19.667	
Kotrimoksazol	3						39.333
Sig.		1.000	1.000	.960	.142	1.000	1.000

Lampiran 16 Formulasi dan pembuatan media

a. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5gram
Heart infusion	5,0 gram
Protease peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
aquadest ad	1000 ml

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4.

b. Formulasi dan pembuatan *MacConkey Agar* (MCA)

Peptone Yeast Extract	17 gram
Agar	13,5 gram
Protease pepton	3 gram
Netral Red	0,03 gram
Lactosa	10 gram
Crystal violet	0,001 gram
Bile salt	1,5 gram
Sodium Chloride	5 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4.

c. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat infusion	300 gram
Amilum	1,5 gram
Kasein hydrolysate	17,5 gram
pH	7,3 ± 0,1

Cara : Reagen-reagen diatas di timbang 38 gram dan di larutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit.