

Antibacterial Activity Test of Ethanolic and Decoction Extract of Crystal Guava Leaves (*Psidium guajava* L. Cultivar Kristal) Against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Dekokta Daun Jambu Kristal (*Psidium guajava* L. Cultivar Kristal) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*

Sheila Nur Izzati ^a, Rima Munawaroh ^{a*}

^a Department of pharmacy, Faculty of pharmacy, Muhammadiyah University of Surakarta, Surakarta, Indonesia.

*Corresponding Authors: rm127@ums.ac.id

Abstract

Background: Diarrhea is often caused by bacterial infections, including *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. The irrational use of antibiotics can lead to antimicrobial resistance, highlighting the need for alternative therapies derived from natural products. Crystal guava leaves (*Psidium guajava* L. cultivar Kristal) are known to contain bioactive compounds with potential antibacterial properties; however, the effectiveness of their ethanolic extract and decoction has not been widely reported. **Objective:** This study aimed to evaluate and compare the antibacterial activity of ethanolic extract and decoction of crystal guava leaves against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*, as well as to identify the major classes of compounds responsible for the observed activity. **Methods:** Extraction was carried out using maceration with 96% ethanol and decoction with water. Antibacterial activity was assessed using the well diffusion method at concentrations of 5%, 10%, 20%, and 40%. Identification of active compounds was performed through Thin Layer Chromatography (TLC) and TLC-bioautography analyses. **Results:** Both the ethanolic extract and the decoction exhibited antibacterial activity that increased with rising concentrations. The highest inhibition zones were observed at a concentration of 40%. The ethanolic extract demonstrated stronger antibacterial activity than the decoction, with the highest effectiveness against *S. aureus*. Bioautography analysis revealed that flavonoid compounds, strongly suspected to be quercetin derivatives, were the primary contributors to the antibacterial activity. **Conclusion:** Crystal guava leaf extract, particularly the ethanolic extract, shows significant antibacterial activity against *B. cereus* and *S. aureus*, with flavonoids identified as the key active compounds. These findings support the potential of crystal guava leaves as a natural source of antibacterial agents.

Keywords: Diarrhea; Crystal Guava Leaves, Antibacterial; *Bacillus cereus*; *Staphylococcus aureus*.

Abstrak

Latar Belakang: Diare sering disebabkan oleh infeksi bakteri, termasuk *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat memicu resistensi, sehingga diperlukan alternatif terapi dari bahan alam. Daun jambu kristal (*Psidium guajava* L. cultivar Kristal) diketahui mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri, namun efektivitas ekstrak etanol dan dekoktanya belum banyak dilaporkan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menguji dan membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal terhadap *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*, serta mengidentifikasi golongan senyawa yang paling berperan dalam aktivitas tersebut. **Metode:** Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dan dekoktasi menggunakan air. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40%. Identifikasi senyawa aktif dilakukan melalui analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan KLT-Bioautografi. **Hasil:** Baik

ekstrak etanol maupun dekokta menunjukkan aktivitas antibakteri yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 40%. Ekstrak etanol cenderung lebih aktif dibandingkan dekokta, dengan aktivitas tertinggi terhadap *S. aureus*. Analisis bioautografi mengungkap bahwa senyawa dari golongan flavonoid (diduga kuat turunan kuersetin) merupakan senyawa utama yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. **Kesimpulan:** Ekstrak daun jambu kristal, terutama dalam bentuk ekstrak etanol, memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus* dan *S. aureus*, dengan flavonoid sebagai senyawa kunci. Hasil ini mendukung potensi daun jambu kristal sebagai sumber senyawa antibakteri alami.

Kata Kunci: Diare; Daun Jambu Kristal; Antibakteri, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.com.v9i1.1254>

Article History:

Received: 11/10/2025,
Revised: 31/012/2025
Accepted: 04/01/2026,
Available Online: 24/01/2026.

QR access this Article



Pendahuluan

Diare didefinisikan sebagai pengeluaran feses yang encer dan cair sebanyak tiga kali atau lebih dalam sehari. Kondisi ini umumnya menandai adanya infeksi pada saluran pencernaan yang dipicu oleh berbagai jenis bakteri, virus, dan parasit. Secara global, diare menjadi penyebab kematian bayi terbesar kedua, dengan sekitar 1,7 miliar kasus infeksi diare pada anak-anak tercatat setiap tahunnya, dan diperkirakan menyebabkan 525.000 kematian pada balita [1]. *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* termasuk patogen utama yang berasal dari makanan, yang mampu menghasilkan berbagai toksin dan memicu diare dan menimbulkan penyakit melalui produksi toksin di dalam saluran pencernaan setelah konsumsi makanan yang terkontaminasi. Selain itu, *S. aureus* telah terbukti dapat berevolusi dengan cepat dan mengembangkan resistensi terhadap hampir semua antibiotik yang digunakan untuk membasminya. Resistensi terhadap penisilin, antibiotik pertama yang terbukti efektif melawan *S. aureus*, dilaporkan muncul hanya satu tahun setelah obat tersebut diperkenalkan dalam praktik klinis [2].

Antibiotik merupakan obat yang digunakan secara luas untuk mengatasi infeksi bakteri pada manusia berfungsi membunuh dan menghambat perkembangbiakan bakteri. Karena patogen tidak dapat diidentifikasi dalam lebih dari 90% kasus diare, sehingga terapi antibiotik empiris direkomendasikan. Namun, manfaat klinis dari terapi antibiotik empiris perlu dievaluasi terhadap risiko efek samping dan munculnya resistensi bakteri. Penggunaan antibiotik diperkirakan tidak tepat pada 20–50% kasus diare, yang berakibat pada peningkatan efek samping dan tingginya tingkat resistensi antibiotik (AMR) pada infeksi komunitas [3]. Tanaman dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan mengurangi resistensi antibiotik.

Salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami untuk diare adalah jambu biji (*Psidium guajava* L.). Daun jambu biji telah lama digunakan secara empiris dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi diare dan gangguan saluran pencernaan. Kultivar jambu kristal (*Psidium guajava* L. *cultivar* Kristal) merupakan varietas unggul yang banyak dibudidayakan di Indonesia, namun pemanfaatan daunnya sebagai agen antibakteri masih relatif terbatas dan belum banyak dilaporkan secara ilmiah. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak daun jambu kristal mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare. Secara fitokimia, daun ini diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder seperti saponin, tanin, flavonoid, dan alkaloid [4]. Ekstrak daun jambu biji mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, fenol, saponin, dan terpenoid. Senyawa-senyawa ini berperan sebagai antimikroba terhadap bakteri patogen, termasuk *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, dan *Bacillus cereus* [5].

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk menguji dan membandingkan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal terhadap *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*. Serta untuk mengetahui golongan senyawa pada ekstrak daun jambu kristal yang paling potensial bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Oleh karena itu untuk dapat mengetahuinya dilakukan uji daya hambat secara *in vitro* terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*.

Metode Penelitian

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini di antaranya cawan petri (OneMed), *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), inkubator (Mettler), *autoclave* (Hirayama HVE-50), *oven* (Mettler), *water bath* (Mettler), *vacuum filtration* (Rocker), timbangan analitis (Sartorius TE 214 S, Germany), mikropipet (Socorex).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun tanaman jambu kristal yang didapatkan dari desa di kecamatan Mertoyudan Magelang, kultur bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* (Fakultas Farmasi UMS), *Mueller Hinton Agar* (OXOID), plat silika gel GF 254 (Merck), NaCl 0,9% steril (Otsuka), pereaksi *Dragendorff* (Nitra Kimia), pereaksi Sitroborat (Nitra Kimia), pereaksi FeCl_3 1% (Permata Anugerah Chemistry), akuades (*pure lizer*), alkohol 96% (Medika) dan DMSO (Merck).

Penyiapan Simplisia

Daun jambu kristal dipilih berdasarkan kesegaran daun dan kebersihan daun lalu dipisahkan dari bagian-bagian yang tidak diperlukan seperti batang dan tangkai daun dan dilakukan penyortiran. Kemudian dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang sudah kering kemudian diblender hingga diperoleh serbuk yang halus dan homogen, kemudian ditimbang beratnya [6].

Pembuatan Ekstrak Etanol

Serbuk simplisia daun jambu kristal dimaserasi dengan perbandingan bobot sampel dibanding pelarut adalah 1:10 b/v. Sebanyak 100 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah lalu direndam dalam 1000 ml etanol 96% dan dimaserasi selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Dilakukan penyaringan menggunakan *vacuum filtration*. Filtrat dari sampel dipekatkan dengan *rotary evaporator* disuhu 78°C lalu diuapkan dengan *waterbath* suhu 37°C hingga diperoleh ekstrak kental [7].

Pembuatan Ekstrak Air (Dekokta)

Pembuatan sediaan ekstrak air dilakukan dengan metode dekoktasi. Serbuk jambu kristal sebanyak 10,0 gram dimasukkan ke dalam panci infus kemudian dipanaskan dengan 150 ml akuades pada suhu 90°C dalam waktu 30 menit di atas kompor listrik sambil sesekali diaduk. Ampas diserkai dengan kain kasa, sari ditambah akuades panas sampai 150 ml hingga didapatkan hasil uji dekokta. Setelah itu hasil dekokta diuapkan dengan *waterbath* pada suhu 37°C hingga diperoleh ekstrak kering [8].

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi dan alat-alat tahan pemanasan dilakukan menggunakan oven selama kurang lebih 1 jam pada temperatur 170°C. Untuk sterilisasi alat dan bahan yang rentan terhadap panas kering seperti bahan media *Mueleer Hinton Agar* (MHA) digunakan *Autoclave* dengan suhu 121°C selama kurang lebih 60 menit. [9].

Pembuatan Media

Media MHA (*Muller Hinton Agar*) ditimbang sebanyak 9,5 gram lalu ditambahkan akuades 250 ml dalam erlenmeyer. Dipanaskan media di atas *hot plate* pada suhu 200°C kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirer* hingga media berwarna kuning jernih. Sebanyak 20 ml media dituangkan dalam cawan petri dengan kedalaman 6 mm. Setelah itu, media didinginkan sampai konsistensi seperti agar atau memadat dalam suhu kamar.

Pembuatan Suspensi bakteri *Bacillus cereus*

Dibuat dengan diambil 1 ose bakteri dari hasil *streak* bakteri *Bacillus cereus* pada cawan, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% steril, dengan biakan murni di dalam tabung reaksi dan dihomogenkan, kemudian disamakan kekeruhannya dengan standar *Mc Farland*.

Pembuatan Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

Dibuat dengan diambil 1 ose bakteri dari hasil *streak* bakteri *Staphylococcus aureus* pada cawan, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% steril, dengan biakan murni di dalam tabung reaksi dan diaduk sampai homogen, kemudian disamakan kekeruhannya dengan standar *Mc Farland*.

Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas digunakan untuk menguji kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik. Digunakan metode difusi cakram dengan 4 cakram (cakram 10 µg) antibiotik berupa Ampisilin, Kloramfenikol, Tetrasiklin, dan Ciprofloksasin yang dipilih karena mewakili kelas antibiotik berbeda untuk memperoleh gambaran komprehensif mengenai profil sensitivitas bakteri uji dan umum digunakan dalam terapi infeksi bakteri. Ampisilin mewakili golongan β -laktam yang menghambat sintesis dinding sel, kloramfenikol dan tetrasiklin mewakili penghambat sintesis protein, sedangkan ciprofloksasin mewakili golongan fluorokuinolon yang menghambat sintesis DNA bakteri. Diletakkan kertas *disk* antibiotik tersebut pada masing-masing biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* yang ditambahkan ke media sebanyak 200 µL. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diukur zona hambat yang terbentuk disekitar cakram. Dilakukan uji sensitivitas sebanyak 2 kali replikasi.

Pengujian Antibakteri Metode Difusi Sumuran

Diambil sebanyak 200 µL suspensi bakteri yang konsentrasinya telah disamakan dengan standar *McFarland*, diteteskan di media MHA lalu diratakan menggunakan *spreader glass* dan ditunggu ± 10 menit. Setelah kering sumuran dibuat dengan menggunakan *cork borer*. Untuk bakteri *Staphylococcus aureus* digunakan kontrol positif (Ampisilin) sedangkan untuk bakteri *Bacillus cereus* digunakan kontrol positif (Ciprofloksasin). Pada ekstrak etanol digunakan kontrol negatif (DMSO 10%) sedangkan untuk ekstrak akuades digunakan kontrol negatif (akuades steril). Ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40% dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 30 µL dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati diameter zona hambat yang terbentuk, ditandai dengan adanya daerah jernih disekitar sumuran. Pengujian dilakukan dengan tiga replikasi biologis ($n=3$), yang berarti menggunakan inokulum yang dipersiapkan dari koloni bakteri yang ditumbuhkan secara terpisah.

Uji KLT

Ekstrak etanol dan dekokta konsentrasi 40% daun jambu kristal ditotolkan pada fase diam silika gel GF 254 yang sudah diaktifkan dengan cara dioven pada suhu 110°C selama 10 menit. Totolan dibiarkan sampai kering kemudian dielusi dengan fase gerak Toluena : Etil asetat : Metanol (4 : 1 : 5) v/v/v. Setelah dielusi plat KLT dikeringkan dan kemudian disemprot pereaksi Sitroborat, $FeCl_3$, dan *Dragendorff* lalu diamati menggunakan sinar tampak, UV 254 nm, dan 366 nm.

Uji Bioautografi

Diletakkan kromatogram hasil pemisahan senyawa secara KLT di atas medium yang sudah diinokulasikan bakteri sebanyak 200 µL yang memadat. Didiamkan selama 30 menit di suhu ruang, lempeng kromatogram diangkat dan dikeluarkan dari medium. Selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C.

Analisis Data

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas yang berfungsi untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak dan uji homogenitas berfungsi untuk mengetahui apakah data yang dianalisis memiliki varian yang homogen atau tidak. Digunakan uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Post Hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok uji [10]. Data KLT dianalisis menurut literatur terkait.

Hasil Dan Diskusi

Hasil Ekstraksi

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun jambu kristal

Sampel	Bobot kering (g)	Bobot Ekstrak (g)	% Rendemen
Ekstrak Etanol	100 g	10,78	10,78
Ekstrak Akuades	10 g	1.50	15,00

Berdasarkan tabel hasil ekstraksi, pada ekstrak etanol diperoleh hasil sebesar 10,78% sedangkan % rendemen pada ekstrak akuades diperoleh hasil sebesar 15,0%. Dapat dikatakan bahwa % rendemen ekstrak akuades lebih besar jika dibandingkan dengan % rendemen ekstrak etanol. Metode ekstraksi dapat mempengaruhi rendemen ekstrak. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan artinya nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak.

Uji Sensitivitas

Hasil uji sensitivitas menggunakan metode difusi cakram yang dilakukan pada 4 antibiotik pada masing-masing bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* yaitu Ampisilin, Kloramfenikol, Tetrasiklin, dan Ciprofloksasin. Rata-rata hasil diameter zona hambat terhadap bakteri *B. cereus* pada Ampisilin, Kloramfenikol, Tetrasiklin, dan Ciprofloksasin berturut-turut yaitu 8,75 mm, 26,75 mm, 24,75 mm, dan 29,25 mm. Sedangkan pada rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* pada Ampisilin, Kloramfenikol, Tetrasiklin, dan Ciprofloksasin berturut-turut yaitu 35,5 mm, 26,0 mm, 31,0 mm, dan 28,0 mm. Dari hasil yang didapatkan untuk perlakuan kontrol positif terhadap bakteri *B. cereus* digunakan Ciprofloksasin dan untuk bakteri *S. aureus* digunakan Ampisilin.

Uji Daya Hambat Bakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu kristal (*Psidium guajava* L. *Cultivar Kristal*) terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dalam 3 kali replikasi agar didapatkan data yang lebih akurat. Pada perlakuan terhadap bakteri *B. cereus* digunakan pembanding Ciprofloksasin sebagai kontrol positif dan pada *S. aureus* digunakan Ampisilin. Untuk ekstrak etanol digunakan DMSO 10% sebagai kontrol negatif sedangkan pada kontrol negatif ekstrak akuades digunakan akuades steril. Kekuatan zona hambat dikatakan lemah apabila memiliki diameter < 5 mm, diameter 5 – 10 mm dikatakan sedang, 10 – 20 mm dikatakan kuat, dan diameter > 20 mm termasuk sangat kuat [11].

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol

Ekstrak Etanol	Diameter Zona Hambat (mm)							
	<i>B. cereus</i>				<i>S. aureus</i>			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata ±SD	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata ±SD
40%	14,0	15,5	15,0	14,83±0,764	15,0	17,0	19,0	17,00±2,000
20%	12,0	12,5	13,0	12,50±0,50	13,0	15,0	18,0	15,33±2,516
10%	10,5	11,0	12,5	11,33±1,040	12,5	13,5	16,5	14,17±2,081
5%	8,5	10,5	10,5	9,83±1,155	11,0	12,5	13,5	12,33±1,258
Kontrol positif	31,75	30,5	31,15	31,13±0,625	39,0	41,25	35,0	38,42±3,166
Kontrol negatif	*6	*6	*6	*6±0	*6	*6	*6	*6±0

Keterangan: - Kontrol positif *B. cereus* (Ciprofloksasin) - Kontrol positif *S. aureus* (Ampisilin) - Kontrol negatif (DMSO 10%) *diameter sumuran

Hasil penelitian ekstrak menunjukkan aktivitas antibakteri yang cukup baik (*moderate*) dengan zona hambat yang jelas dan konsisten, walaupun masih jauh lebih rendah dibandingkan antibiotik standar (± 10 –19 mm). Namun, aktivitas ekstrak etanol secara konsisten lebih tinggi dibandingkan dekokta, terutama terhadap *S. aureus*, meskipun rendemen dekokta lebih besar. Hal ini menunjukkan bahwa rendemen ekstrak tidak secara langsung merefleksikan potensi antibakteri, melainkan dipengaruhi oleh selektivitas pelarut terhadap senyawa aktif. Etanol sebagai pelarut semi-polar mampu mengekstraksi senyawa flavonoid aglikon, khususnya turunan kuersetin, secara lebih efektif dibandingkan akuades. Senyawa ini bersifat kurang polar

dan diketahui memiliki aktivitas antibakteri tinggi melalui mekanisme perusakan membran sel, penghambatan sintesis protein, serta pembentukan kompleks dengan protein dinding sel bakteri. Sebaliknya, dekokta cenderung mengekstraksi senyawa sangat polar dan non-aktif secara antibakteri, serta berpotensi menyebabkan degradasi senyawa aktif akibat pemanasan, sehingga aktivitasnya relatif lebih rendah.

Meskipun kedua bakteri uji termasuk Gram-positif, aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* lebih besar dibandingkan *B. cereus*. Perbedaan ini kemungkinan berkaitan dengan karakteristik biologis *B. cereus* sebagai bakteri pembentuk spora dengan struktur dinding sel lebih kompleks dan sistem pertahanan tambahan, sehingga lebih resisten terhadap senyawa antibakteri alami. Sebaliknya, dinding sel *S. aureus* relatif lebih mudah ditembus oleh senyawa fenolik dan flavonoid.

Jika dibandingkan dengan antibiotik kontrol yang menghasilkan zona hambat $\pm 30\text{--}40$ mm, aktivitas ekstrak masih lebih rendah. Hal ini wajar mengingat antibiotik merupakan senyawa murni dengan mekanisme spesifik, sedangkan ekstrak merupakan campuran kompleks dengan konsentrasi senyawa aktif terbatas. Namun demikian, zona hambat yang tergolong kuat menunjukkan potensi ekstrak daun jambu kristal sebagai sumber antibakteri alami, khususnya sebagai kandidat agen pendukung atau alternatif dalam upaya mengurangi penggunaan antibiotik yang tidak rasional.

Secara keseluruhan data diameter zona hambat kemudian dianalisis dengan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu sebagai syarat pengujian *one-way Anova* dimana data harus terdistribusi normal dan homogen. Pada uji normalitas bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* secara keseluruhan diperoleh nilai dengan signifikansi normal. Sedangkan pada uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi 0,001 ($p < 0,05$) yang artinya data terdistribusi normal namun data tidak homogen. Dilakukan uji *Kruskal–Wallis* yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna diameter zona hambat antar konsentrasi ekstrak etanol terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* ($p < 0,05$). Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan menggunakan *Dunn test* dengan koreksi *Bonferroni* melalui uji *Mann–Whitney U* antar pasangan konsentrasi. Jumlah kelompok perlakuan adalah empat (5%, 10%, 20%, dan 40%), sehingga dilakukan enam perbandingan pasangan dengan nilai signifikansi disesuaikan menjadi $\alpha = 0,0083$ yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antar pasangan konsentrasi.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Aquadest (Dekokta)

Ekstrak Akuades	Diameter Zona Hambat (mm)							
	<i>B. cereus</i>				<i>S. aureus</i>			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata $\pm$ SD	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata $\pm$ SD
40%	12,5	14,5	15,0	14,00 $\pm$ 1,323	12,0	13,0	15,0	13,33 $\pm$ 1,528
20%	12,0	12,0	11,0	11,67 $\pm$ 0,577	11,5	11,5	14,0	12,33 $\pm$ 1,443
10%	11,5	11,5	10,5	11,17 $\pm$ 0,577	11,0	11,5	13,5	12,00 $\pm$ 1,232
5%	9,0	10,0	10,0	9,67 $\pm$ 0,577	10,5	10,5	12,5	11,17 $\pm$ 1,155
Kontrol positif	31,0	29,5	30,25	30,25 $\pm$ 0,75	36,75	44,75	25,75	35,75 $\pm$ 9,539
Kontrol negatif	*6	*6	*6	*6 $\pm$ 0	*6	*6	*6	*6 $\pm$ 0

Keterangan: - Kontrol positif *B. cereus* (Ciprofloksasin) - Kontrol positif *S. aureus* (Ampisilin) - Kontrol negatif (Akuades steril) *diameter sumuran

Kontrol positif menunjukkan variasi diameter zona hambat yang cukup besar, khususnya pada *Staphylococcus aureus* (25,75; 36,75; dan 44,75 mm pada Tabel 3), yang menghasilkan nilai simpangan baku (SD) tinggi. Secara ideal, kontrol positif seharusnya memberikan hasil yang konsisten karena berfungsi sebagai acuan keandalan metode uji. Hal tersebut disebabkan karena ketidakkonsistenan dalam proses inokulasi, seperti perbedaan kepadatan suspensi bakteri dan penyebaran inokulum yang tidak merata. Adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak etanol dan akuades daun jambu kristal dapat terjadi dikarenakan adanya pengaruh metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman tersebut.

Uji KLT

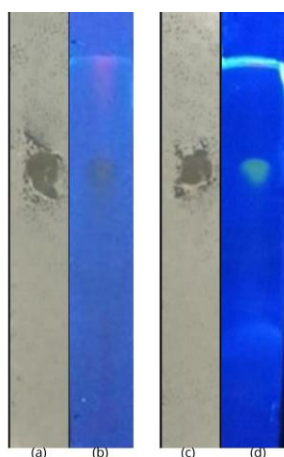
Pengujian dengan Kromatografi lapis tipis diujikan dengan fase normal dengan tujuan untuk melihat pola kromatogram komponen senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun jambu Kristal. Dari hasil uji KLT pada ekstrak etanol dan dekokta didapatkan nilai R_f yang sama yaitu sebesar 0,81 dan 0,83. Setelah bercak/noda totolan hasil KLT disemprotkan dengan pereaksi Dragendorff didapatkan hasil berupa bercak noda berwarna coklat jingga, yang menandakan bahwa ekstrak etanol dan aquadest daun jambu kristal positif mengandung

senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid. Hal ini disebabkan karena adanya pertukaran ligan dimana nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas pada alkaloid menciptakan ikatan kovalen koordinat dengan ion K dari kalium tetraiodobismutat sehingga menghasilkan kompleks kalium-alkaloid berwarna coklat [12].

Selanjutnya bercak/noda totalan hasil KLT disempromot dengan pereaksi FeCl_3 , dihitung nilai R_f pada ekstrak etanol dan dekokta berturut-turut yaitu 0,81 dan 0,74 serta didapatkan hasil berupa bercak berwarna hitam kehijauan setelah dipanaskan dalam oven selama 5 menit. Uji tanin pada ekstrak daun jambu kristal menunjukkan hasil positif. Adanya kemunculan gugus fenolik dibuktikan dengan warna kehitaman setelah ditambahkan dengan FeCl_3 . Sehingga uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif, kemungkinan tanin dalam sampel mengandung senyawa fenolik yang berikatan dengan FeCl_3 membentuk warna kehitaman hijau kompleks [13]. Dilakukan pula uji flavonoid dengan menyempromotkan pereaksi sitroborat pada bercak/noda totalan hasil KLT dan didapatkan hasil ekstrak daun jambu kristal positif mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid. Hal itu ditandai dengan adanya warna noda berfluoresensi biru terang pada saat dilihat di bawah sinar *ultraviolet* (UV) 366 nm [14]. Dihitung nilai R_f pada ekstrak etanol dan dekokta berturut-turut sebesar 0,85 dan 0,86.

Uji KLT-Bioautografi

Pada hasil uji KLT-Bioautografi dengan metode kontak langsung dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji KLT-Bioautografi metode kontak ekstrak daun jambu Kristal (a) Hasil Bioautografi metode kontak ekstrak etanol, (b) Kromatogram lapis tipis ekstrak etanol daun jambu Kristal disempromot Sitroborat, (c) Hasil Bioautografi metode kontak dekokta, (d) Kromatogram lapis tipis ekstrak dekokta daun jambu Kristal disempromot Sitroborat.

Pada Gambar 1 menunjukkan hasil pengujian KLT-bioautografi dengan adanya zona bening pada titik penotolan yang telah terelusi. Pada ekstrak etanol didapatkan nilai R_f sebesar 0,85 dan pada ekstrak akuades didapatkan nilai R_f sebesar 0,86. Hasil nilai R_f yang didapatkan dari kedua bercak termasuk baik, karena masuk dalam rentang R_f yang baik yaitu 0,2-0,8 [15]. Hasil uji KLT-bioautografi metode kontak menunjukkan adanya satu bercak pada ekstrak etanol maupun dekokta daun jambu kristal yang berasosiasi dengan zona hambat pertumbuhan bakteri, yang berkorespondensi dengan bercak fluoresen berwarna biru terang setelah penyempromotan pereaksi sitroborat dan diindikasikan sebagai golongan flavonoid. Meskipun hasil skrining fitokimia dan KLT menunjukkan keberadaan senyawa alkaloid dan tanin, kedua golongan senyawa tersebut tidak menunjukkan aktivitas antibakteri yang terdeteksi pada uji bioautografi dalam kondisi pengujian ini. Hal tersebut kemungkinan berkaitan dengan aktivitas antibakteri yang relatif lebih rendah dan keterbatasan kemampuan difusi senyawa tertentu khususnya tanin yang bersifat sangat polar dan bermolekul besar ke dalam medium agar pada metode kontak langsung. Berdasarkan nilai R_f dan warna fluoresensi biru terang di bawah UV 366 nm setelah disempromot sitroborat, senyawa aktif ini memiliki karakteristik yang mirip dengan turunan kuersetin seperti yang dilaporkan dalam penelitian [16]. Namun, identifikasi pasti memerlukan analisis lebih lanjut.

Kesimpulan

Ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal (*Psidium guajava* L. cultivar Kristal) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*, dengan peningkatan diameter zona hambat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara umum lebih tinggi dibandingkan *Bacillus cereus*. Berdasarkan tren data, ekstrak etanol cenderung memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dekokta pada konsentrasi yang sama, meskipun dekokta menghasilkan rendemen yang lebih tinggi. Secara keseluruhan, ekstrak daun jambu kristal berpotensi sebagai sumber senyawa antibakteri alami, terutama dari golongan flavonoid. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan isolasi senyawa murni dari bercak aktif, menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (MIC), serta menguji toksisitasnya untuk melihat potensi pengembangan lebih lanjut.

Conflict of Interest

Para penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan finansial, personal, maupun institusional yang dapat memengaruhi penelitian ini. Seluruh proses penelitian dilakukan secara independen tanpa intervensi pihak luar.

Referensi

- [1] Kirabo, D.; Driciru, B. Determinants Of Diarrheal Disease Among Children Below Five Years Attending The Pediatric Ward At Masaka Regional Referral Hospital, Masaka District. A Cross-Sectional Study. *J. World Heal. Res.* 2025, 2.
- [2] Esposito, S.; Blasi, F.; Curtis, N.; Kaplan, S.; Lazzarotto, T.; Meschiari, M.; Mussini, C.; Peghin, M.; Rodrigo, C.; Vena, A.; et al. New Antibiotics for Staphylococcus Aureus Infection: An Update from the World Association of Infectious Diseases and Immunological Disorders (WAIDID) and the Italian Society of Anti-Infective Therapy (SITA). *Antibiot. MDPI J.* 2023, 12, doi:10.3390/antibiotics12040742.
- [3] Dereje, B.; Yibabie, S.; Keno, Z.; Megersa, A. Antibiotic Utilization Pattern in Treatment of Acute Diarrheal Diseases: The Case of Hiwot Fana Specialized University Hospital, Harar, Ethiopia. *J. Pharm. Policy Pract.* 2023, 16, doi:10.1186/s40545-023-00568-7.
- [4] Yonathan, N.; Wilapangga, A.; Royani, S. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Kristal (*Psidium Guajava* Cv. Kristal L.). *J. of Pharmacy.* 2024. Vol. 1, 106.
- [5] Ratnakaran, P.; Barve, A.A.; Patnekar, K.A. Phytochemical and Antimicrobial Activities of Leaf Extract of Guava (*Psidium Guajava* L.). *Int. J. Appl. Res.* 2020, 6, 106–110.
- [6] Tunny, R.; Dusra, E.; Kaplale, A.K.; Djarami, J.; Malisngorar, M.S.J. Analisis Perbandingan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium Acnes* Dan *Staphylococcus Aureus* Dengan Menggunakan Metode Sumuran. *Calory J. Med. Lab. J.* 2023, 1, 39.
- [7] Nofita, N.; Tutik, T.; Garini, T. Pengaruh Pemilihan Teknik Ekstraksi Daun Jambu Biji Australia (*Psidium Guajava* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH. *J. Farm. Malahayati* 2021, 4, 12–22, doi:10.33024/jfm.v4i1.4382.
- [8] Hastuti, S. Daya Analgetik Dekokta Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri* L) Pada Mencit Dengan Induksi Asam Asetat Analgesic Potency of Dekocta of Meniran Herbs (*Phyllanthus Niruri* L) in Mice with Acetic Acid Induced. *Indones. J. Med. Sci.* 2024, 11.
- [9] Purwanto, A.; Saputro, I.R.C.D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium Guahava* L.) Terhadap *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Silinder. *JiIP - J. Ilm. Ilmu Pendidik.* 2022, 5, 1900–1905, doi:10.54371/jiip.v5i6.659.
- [10] Azizah, A.N.; Ichwanuddin; Marfu'ah, N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Epidermidis*. *Pharmasipha Pharm. J. Islam. Pharm.* 2020, 4.
- [11] Devi, S.; Mulyani, T. Antibacterial Activity of Ethanol Extract Pacar Kuku Leaf (*Lawsonia Inermis* Linn) in *Pseudomonas Aeruginosa*. *J. Curr. Pharm. Sci.* 2017, 1, 30–35.
- [12] Taupik, M.; Suryadi, A.M.A.; La Kilo, J.; Zuriati Uno, W.; Badjeber, S.B. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun *Spigelia Anthelmia* L. Dan Uji Aktifitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazy). *J. Syifa Sci. Clin. Res.* 2023, 4, 694–708, doi:10.37311/jsscr.v4i3.15927.

- [13] Pratiwi, S.A.; Februyani, N.; Basith, A. Analisis Gugus Fungsional Dalam Senyawa Obat Paracetamol Dan Aspirin. *Pharm. Med. J.* 2023, 6, 2023.
- [14] Dewi, I.S.; Saptawati, T.; Rachma, F.A. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Dan Biji Terong Belanda (*Solanum Betaceum Cav.*) Phytochemical Screening of Tamarillo Peel and Seeds Ethanol Extracts (*Solanum Betaceum Cav.*). *Pros. Semin. Nas. UNIMUS* 2021, 4, 1210–1218.
- [15] Ferdinan, A.; Rizki, F.S.; Kurnianto, E.; Kurniawan *Journal Borneo. J. Borneo Sci. Technol. Heal. J. Artik.* 2022, 2, 86–92.
- [16] Dewi, A.P.; Shufyani, F.; Putriani, K. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Matoa (*Pometia Pinnata J.R.Forst & G.Forst*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Staphylococcus Epidermidis*. *J. Hasi Penelit. Dan Pengkaj. Ilm. Eksakta* 2025, 4, 175–184.