

Antibacterial Activity of Ethanolic and Decoction Extract of Crystal Guava Leaves (*Psidium guajava* L. Cultivar Kristal) Against *Escherichia coli* and *Shigella sonnei*

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Dekokta Daun Jambu Kristal (*Psidium guajava* L. Cultivar Kristal) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei*

Agviolisa Kusuma Wardhani ^a, Rima Munawaroh ^{a*}

^a Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Muhammadiyah University of Surakarta, Surakarta, Indonesia

*Corresponding Authors: rm127@ums.ac.id

Abstract

Crystal guava leaves (*Psidium guajava* L. Cultivar Kristal) are plants that have potential as antibacterial agents against bacteria that cause diarrhea because they belong to the *Psidium guajava* L. species, which is widely reported to contain bioactive compounds such as flavonoids, tannins, and alkaloids. This study was conducted to determine the antibacterial activity of crystal guava leaves and the group of compounds that act as antibacterial agents. The study design was experimental, using ethanol extracts and decoctions of crystal guava leaves made at concentrations of 40% w/v, 20% w/v, 10% w/v, and 5% w/v and tested on bacteria that cause diarrhea, namely *Escherichia coli* and *Shigella sonnei*, using the well diffusion method. Then, TLC-Bioautography was performed to detect the compound components. Statistical data analysis using SPSS began with normality, homogeneity, *Kruskal-Wallis*, and *Mann-Whitney* tests. The results showed that the 40% w/v concentration had the largest inhibition zone in both extracts. The compounds contained in the ethanol extract and crystal guava leaf decoction were flavonoids, alkaloids, and tannins. Meanwhile, the specific compound that acts as an antibacterial agent in ethanol extracts and crystal guava leaf decoction is the flavonoid group, specifically quercetin. The *Kruskal-Wallis* test with a p-value of $0,001 < 0,005$ showed that there was a significant difference between concentrations. Further analysis using the *Mann-Whitney* test showed that the 40% concentration group was significantly different from the 5% concentration group.

Keywords: Antibacterial, Crystal guava leaves, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, Quercetin.

Abstrak

Daun jambu kristal (*Psidium guajava* L. Cultivar Kristal) merupakan tanaman yang memiliki potensi sebagai antibakteri pada bakteri penyebab diare karena termasuk dalam spesies *Psidium guajava* L. yang secara luas dilaporkan mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan alkaloid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada daun jambu kristal dan golongan senyawa yang menjadi agen antibakterinya. Desain penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal yang dibuat konsentrasi masing-masing 40% b/v, 20% b/v, 10% b/v, dan 5% b/v yang diujikan pada bakteri penyebab diare yaitu *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei* dengan metode difusi sumuran. Kemudian, dilakukan KLT-Bioautografi untuk deteksi komponen senyawa. Analisis data secara statistik dengan SPSS dimulai dari uji normalitas, homogenitas, *Kruskal-Wallis*, dan *Mann-Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi 40% b/v memiliki zona hambat terbesar pada kedua ekstrak. Komponen senyawa terkandung pada ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal adalah flavonoid, alkaloid, dan tanin. Sedangkan, senyawa spesifik yang menjadi agen antibakteri pada ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal adalah golongan flavonoid jenis kuersetin. Uji *Kruskal-Wallis* dengan nilai $p = 0,001 < 0,005$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi. Analisis lanjutan menggunakan uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa kelompok konsentrasi 40% sangat berbeda signifikan dengan konsentrasi 5%.

Kata Kunci: Antibakteri, Daun jambu kristal, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, Kuersetin.



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>

Article History:

Received: 11/10/2025,
Revised: 04/01/2026,
Accepted: 04/01/2026,
Available Online: 26/01/2026.

QR access this Article



Pendahuluan

Diare merupakan suatu penyakit yang dapat terjadi pada semua usia, tak hanya anak-anak, namun dewasa pun dapat terjangkit diare. Diare merupakan pengeluaran feses yang konsistensinya lembek hingga cair dengan frekuensi pengeluaran feses sebanyak tiga kali ataupun lebih dalam satu hari. Diare bisa menyebabkan demam, sakit perut, pengurangan nafsu makan, rasa letih serta penurunan berat badan [1]. Diare dapat mengakibatkan kematian yang sering terjadi pada kelompok anak-anak dan usia lanjut. Tiap tahun *incidence rate* diare di Indonesia mengalami peningkatan, sekitar 70% kematian balita diakibatkan oleh diare, pnemonia, malnutrisi, malaria, dan campak. Dari sejumlah itu, 1-2% diantaranya disebabkan oleh efek paparan diare yang berlanjut pada dehidrasi atau kekurangan cairan dan keterlambatan penanganan medis [2].

Faktor diare sangat beragam namun salah satunya yang sering menjadi faktor utama yaitu infeksi bakteri, tidak menjaga kebersihan tangan dan tubuh, dan kondisi pencernaan kronis. Bakteri yang sering menjadi penyebab diare diantaranya, yaitu infeksi *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia coli* dan bakteri lainnya yaitu *Shigella sonnei* [3]. Pemanfaatan bahan alam banyak dilakukan di zaman sekarang sebagai upaya pengobatan penyakit secara alami dengan efek samping minimum, terutama pada penyakit diare. Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi secara cepat seputar obat tradisional atau bahan alam tradisional untuk diteliti khasiatnya sebagai antibakteri alami, terutama pada penyakit-penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri [4].

Banyak bagian tumbuhan dan terbuang begitu saja yang tidak dimanfaatkan secara baik seperti daun yang memiliki potensi sebagai antibakteri alami yang dapat digunakan untuk obat alami berbagai penyakit, seperti diare. *Psidium guajava* L. *Cultivar Kristal* atau yang dikenal dengan jambu kristal merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki species yang sama dengan jambu biji (*Psidium guajava* L.) hanya berbeda kultivar. Daun jambu kristal juga diyakini memiliki aktivitas antibakteri seperti daun jambu biji yang sudah banyak dilakukan penelitiannya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui serta membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei*. Kemudian, mengidentifikasi golongan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut dengan KLT-Bioautografi.

Metode Penelitian

Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu *rotary evaporator* (Heidolph), *autoklaf* (Hirayama), *oven* (Memmert), *waterbath* (Memmert), *vacuum filtration* (Rocker), mikropipet (Socorex), dan inkubator (Memmert).

Bahan yang disiapkan adalah daun jambu kristal yang diambil dari wilayah Kabupaten Magelang, bakteri *Escherichia coli* (Laboratorium Farmasi UMS), bakteri *Shigella sonnei* (Laboratorium Farmasi UMS), aquades (Puralizer), DMSO (Merck), etanol 96% (Medika), Muller Hinton Agar (Oxoid), NaCl 0,9% steril (Otsuka), toluene (Merck), etil asetat (Merck), metanol (Merck), plat KLT GF254 (Merck), pereaksi sitroborat (Nitra Kimia), pereaksi dragendorff (Nitra Kimia), dan pereaksi FeCl_3 (Permata Anugrah Chemistry) .

Pembuatan Simplisia

Daun jambu kristal segar diambil dari Kabupaten Magelang kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada sampel selama proses panen dan sortir. Daun jambu kristal sebanyak 400 gram dikeringkan dengan cara dianginkan dan ditutup kain hitam. Digunakan blender untuk mengecilkan ukuran agar menjadi serbuk sehingga didapatkan hasil rendeman maksimal. Didapat total serbuk kering 160 gram.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jambu Kristal

Serbuk daun jambu kristal sebanyak 100 gram dimaserasi dengan 1 liter pelarut etanol 96% di dalam toples kaca selama kurang lebih 3 hari sambil sesekali diaduk. Setelah didapat maserat, disaring dengan *vacuum filtration*. Hasil saringan dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* pada suhu 78,4°C hingga ekstrak etanol daun jambu kristal didapatkan. Untuk mendapatkan ekstrak kental etanol daun jambu kristal, diletakkan ekstrak di atas *waterbath* dengan suhu 37°C [5].

Pembuatan Dekokta Daun Jambu Kristal

Serbuk daun jambu kristal sebanyak 10 gram dipanaskan dengan aquades sebanyak 150 mL selama 30 menit dihitung hingga suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Saring menggunakan kain kasa serta ditambahkan aquades panas sampai diperoleh total volume infusa 150 mL [6]. Selanjutnya, untuk mendapatkan ekstrak kental dekokta, diuapkan dengan *waterbath* dengan suhu 37°C.

Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol dan Dekokta Daun Jambu Kristal

Konsentrasi yang digunakan merupakan konsentrasi terbesar yang dapat dibuat atau dilarutkan dengan pelarut DMSO 10% untuk ekstrak etanol serta aquades untuk dekokta yaitu 40% b/v, 20% b/v, 10% b/v, dan 5% b/v. Ditimbang masing-masing ekstrak kental etanol dan dekokta sebanyak 4 gram kemudian dilarutkan dalam 10 mL pelarut sehingga didapatkan konsentrasi 40% b/v. Konsentrasi 20% b/v ditimbang 2 gram ekstrak kental dilarutkan dengan 10 mL pelarut, konsentrasi 10% b/v ditimbang 1 gram ekstrak kental lalu dilarutkan dengan 10 mL pelarut, dan konsentrasi 5% b/v ditimbang 1 gram ekstrak kental lalu dilarutkan dengan 10 mL pelarut.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat gelas yang akan digunakan dicuci bersih lalu dikeringkan dan dibungkus kertas. Selanjutnya disterilkan dengan *oven* pada suhu 150°C selama 1 jam. Untuk bahan cairan seperti media MHA dimasukkan ke alat gelas kemudian ditutup *aluminium foil* dan tip dibungkus plastik tahan panas, kemudian di *autoklaf* pada suhu 120°C selama 1 jam. Untuk bahan cairan yang mudah menguap seperti aquades dan DMSO disterilisasi dengan *sput syringe* [7].

Pembuatan Media

Muller Hinton Agar (MHA) ditimbang sebanyak 9,5 gram kemudian dilarutkan dengan aquadest 250 mL dalam erlenmeyer dan dipanaskan hingga homogen dan larut sempurna. Kemudian MHA yang sudah larut dituang 20 mL ke cawan petri dan didiamkan pada suhu ruang hingga padat [8,9].

Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli*

Diambil satu ose bakteri dari hasil *streak plate* kemudian disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9% steril pada tabung reaksi steril. Bakteri dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan jarum ose sampai diperoleh kekeruhan sesuai dengan McFarland sebesar 0,5 atau sesuai dengan kepadatan bakteri yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/mL [9].

Pembuatan Suspensi Bakteri *Shigella sonnei*

Biakkan bakteri *Shigella sonnei* diambil sebanyak satu ose kemudian disuspensi ke tabung steril lalu dilakukan pengenceran dengan larutan NaCl 0,9% steril sedikit demi sedikit sampai menjadi keruh sesuai dengan larutan Mc. Farland 0,5 (populasi bakteri $1-2 \times 10^8$ CFU/ mL) [10].

Uji Sensitivitas Bakteri

Diambil suspensi bakteri sebanyak 200 μ L dengan mikropipet kemudian dituang pada media MHA yang telah padat dan ratakan dengan *spreader glass*. Setelah itu, diambil *disk* antibiotik ciprofloksasin,

kloramfenikol, ampicilin, dan tetrasiklin. Uji sensitivitas dilakukan sebanyak dua replikasi atau duplo. Rerata daya hambat paling besar digunakan sebagai kontrol positif pada uji antibakteri.

Uji Antibakteri Difusi Sumuran

Metode sumuran dilakukan dengan diambil sebanyak 200 μ L suspensi bakteri diambil menggunakan mikropipet (3 kali replikasi) pada permukaan media MHA. Kemudian, diratakan menggunakan *spreader glass* dan tunggu hingga kering. Setelah mengering, dilubangi dengan *cork borer* untuk membuat sumur, dimasukkan ekstrak etanol, dekokta, kontrol positif, dan kontrol negatif sebanyak 30 μ L pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol dan dekokta. Selanjutnya, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat dan dihitung diameternya. Kontrol positif yang digunakan pada ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal yaitu ciprofloksasin. Kontrol negatif yang digunakan pada ekstrak etanol yaitu DMSO 10%, sedangkan untuk dekokta adalah aquades yang dipanaskan dengan metode yang sama seperti pembuatan dekokta (tanpa simplisia).

Kromatografi Lapis Tipis

Fase diam silika gel GF₂₅₄ ukuran 1,5 cm x 7 cm diaktifkan dengan cara dipanaskan di oven pada suhu 110°C selama 15 menit. Fase gerak yang digunakan adalah Toluena : Etil Asetat : Metanol (4 : 5 : 1) v/v/v dengan jarak pengembangan 5 cm. Fase gerak dijenuhkan dengan kertas saring hingga batas atas. Kemudian, ditotolkan 1 totolan pada fase diam selanjutnya bercak dideteksi dengan reagen semprot yaitu Sitroborat, *Dragendorff*, dan FeCl₃. Analisis dengan melihat bercak pada sinar tampak, UV 254 nm, dan 366 nm [11].

Uji Bioautografi

Digunakan uji bioautografi untuk mendeteksi senyawa yang menjadi agen antibakteri pada sampel ekstrak dengan cara diinokulasikan 200 μ L suspensi bakteri pada media MHA padat diratakan dan ditunggu hingga kering. Diletakkan lempeng KLT yang telah dielusi selama 20 menit. Selanjutnya, diambil lempeng KLT dari media. Diinkubasi media MHA pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Apabila bercak pada KLT memiliki aktivitas antibakteri maka akan terbentuk zona hambatan jernih sesuai dengan lempeng KLT [11].

Analisis Data

Data diameter zona hambat dianalisa dengan *software* SPSS dimulai dengan distribusi data dan dilakukan beberapa uji berupa uji normalitas, homogenitas, *Kruskal-Wallis*, dan *post hoc* *Man-Whitney*. Karena hasil uji homogenitas Levene menunjukkan nilai $p < 0.05$ (varian tidak homogen), maka uji lanjutan menggunakan metode non-parametrik *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Data KLT dianalisis secara deskriptif berdasarkan literatur terkait dan data bioautografi serta Rf dengan zona hambat dipadankan dengan hasil analisis bercak pada KLT tersebut.

Hasil dan Pembahasan

Pelarut yang dipilih yaitu etanol 96% karena bersifat polar yang dapat menyari berbagai sifat kepolaran yang cukup luas dimulai dari senyawa polar hingga nonpolar sehingga mampu melarutkan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan lainnya [12]. Simplisia sebanyak 100 gram dimaserasi dengan 1 liter etanol 96%, selanjutnya *rotary evaporator* digunakan untuk mendapatkan ekstrak kental yaitu sebesar 10,78 gram. Sedangkan dekokta daun jambu kristal ditimbang sebanyak 10 gram simplisia kering dan didapatkan dekokta kental 1,5 gram. Sehingga persen (%) rendemen hasil maserasi untuk ekstrak etanol daun jambu kristal yaitu 10,78% dan dekokta 15%.

Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan untuk menentukan kontrol positif yang akan digunakan pada uji antibakteri bakteri uji yaitu *E.coli* dan *Shigella sonnei*. Beberapa antibiotik yang digunakan yaitu ciprofloksasin, tetrasiklin, ampicilin, dan kloramfenikol. Antibiotik ciprofloksasin digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki daya hambat terbesar pada kedua bakteri uji yaitu *E.coli* dan *S.sonnei* adalah $35,25 \pm 2,47$ mm dan $28,75 \pm 0,35$ mm ditunjukkan pada tabel 1.

Table 1. Uji Sensitivitas

Antibiotik	Diameter Zona Hambat (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Shigella sonnei</i>		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Rerata ± SD	Replikasi 1	Replikasi 2	Rerata ± SD
Ciprofloksasin	33,5 mm	37 mm	35,3 ± 2,5 mm	29 mm	28,5 mm	28,8 ± 0,4 mm
Tetrasiklin	25 mm	25 mm	25 ± 0 mm	24 mm	26 mm	25 ± 1,4 mm
Ampisilin	12,5 mm	16 mm	14,3 ± 2,5 mm	*6 ± 0 mm	*6 ± 0 mm	*6 ± 0 mm
Kloramfenikol	27,5 mm	26 mm	26,8 ± 1,1 mm	26 mm	28,5 mm	27,3 ± 1,8 mm

Keterangan: *= Diameter sumuran

Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal (*Psidium guajava* L. *cultivar* Kristal) diujikan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei*. Seri konsentrasi larutan ekstrak baik etanol maupun air (dekokta) dibuat untuk melihat perbedaan aktivitas antibakteri untuk kedua sampel yaitu 40%, 20%, 10%, 5%. Sebagai pembandingan pada hasil penelitian, digunakan kontrol positif sesuai dengan hasil uji sensitivitas yaitu ciprofloksasin. Sedangkan kontrol negatif untuk ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal yaitu DMSO 10% dan aquades. Kontrol negatif dipilih sesuai dengan pelarut yang digunakan untuk melarutkan dan pengenceran ekstrak sesuai seri konsentrasi yang telah ditetapkan. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat berupa terbentuknya zona bening di sekitar sumuran setelah 24 jam di inkubasi pada suhu 37°C. Hasil diamati secara visual kemudian diukur berdasarkan diameter yang terbentuk menggunakan penggaris.

Ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal membentuk zona bening dengan ukuran diameter yang berbeda-beda. Terdapat klasifikasi antibakteri yang didasarkan pada respon zona hambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona bening sebagai bentuk efektivitas antibakteri yaitu respon lemah (diameter 5 mm), respon sedang (diameter 5-10 mm), respon kuat (diameter 10-20 mm), dan respon sangat kuat (diameter lebih dari 20 mm) [13]. Tabel 2 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu kristal pada bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei*. Berdasarkan hasil, seluruh konsentrasi dari ekstrak etanol memiliki respon kuat yaitu dalam rentang 10-20 mm. Zona hambat terbesar sampel ekstrak etanol daun jambu kristal dengan konsentrasi 40% pada kedua bakteri uji. Sedangkan aktivitas antibakteri paling kecil ditunjukkan oleh konsentrasi 5% pada bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei*.

Sementara hasil uji aktivitas antibakteri dekokta dapat dilihat pada Tabel 3 bahwa ekstrak air atau dekokta juga memiliki aktivitas antibakteri. Zona bening paling besar ditunjukkan pada konsentrasi terbesar yaitu 40% sedangkan aktivitas paling kecil pada konsentrasi 5%. Seluruh seri konsentrasi dekokta memiliki respon kuat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei*. Berdasarkan hasil, dapat diinterpretasikan sama halnya dengan ekstrak etanol bahwa dekokta daun jambu kristal juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri uji.

Namun, terdapat perbedaan diameter zona hambat tiap konsentrasi baik ekstrak etanol maupun dekokta daun jambu kristal terhadap dua bakteri uji yang digunakan. Konsentrasi menjadi salah satu faktor perbedaan zona hambat karena semakin besar nilai konsentrasi, maka semakin besar pula komponen zat aktif yang ada pada ekstrak yang menyebabkan adanya perbedaan zona hambat terbentuk. Adapun faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri bahan adalah stabilitas zat aktif, besar kecilnya inoculum, dan aktivitas metabolik dari bakteri itu sendiri [14].

Table 2. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Kristal

Ekstrak Etanol	Diameter Zona Hambat (mm)							
	<i>Escherichia coli</i>				<i>Shigella sonnei</i>			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata ± SD	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata ± SD
40%	16 mm	14,5 mm	15 mm	15,2 ± 0,8 mm	14 mm	14,5 mm	15 mm	14,5 ± 0,5 mm
20%	12,5 mm	13,5 mm	14 mm	13,3 ± 0,8 mm	12,5 mm	14 mm	13,5 mm	13,3 ± 0,8 mm
10%	10,5 mm	13,5 mm	12,5 mm	12,2 ± 1,5 mm	10 mm	11,5 mm	11,5 mm	11 ± 0,9 mm
5%	8 mm	11 mm	11 mm	10 ± 1,7 mm	8,5 mm	10,5 mm	11 mm	10 ± 1,3 mm
K (+)	25 mm	42,5 mm	41 mm	36,2 ± 9,7 mm	23 mm	27,25 mm	25,5 mm	25,3 ± 2,1 mm
K (-)	*6 mm	*6 mm	*6 mm	*6 ± 0 mm	*6 mm	*6 mm	*6 mm	*6 ± 0 mm

Keterangan : K (+) = Kontrol positif Ciprofloksasin ; K (-) = Kontrol negatif DMSO 10%; *= Diameter sumuran

Table 3. Uji Aktivitas Antibakteri Dekokta Daun Jambu Kristal

Dekokta	Zona Hambat (mm)							
	<i>Escherichia coli</i>				<i>Shigella sonnei</i>			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata ± SD	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata ± SD
40%	12,5 mm	15,5 mm	15 mm	14,3 ± 1,6	12,5 mm	13 mm	14 mm	13,2 ± 0,8 mm
20%	12 mm	14 mm	13 mm	13 ± 1	11,5 mm	12 mm	12 mm	11,8 ± 0,3 mm
10%	11 mm	14 mm	12,5 mm	12,5 ± 1,5 mm	10 mm	12,5 mm	12,5 mm	11,7 ± 1,4 mm
5%	10 mm	11 mm	12 mm	11 ± 1 mm	9,5 mm	11,5 mm	11 mm	10,7 ± 1 mm
K (+)	28 mm	42 mm	40 mm	36,7 ± 7,6 mm	28,3 mm	27,5 mm	26,5 mm	27,3 ± 1 mm
K (-)	*6 mm	*6 mm	*6 mm	*6 ± 0 mm	*6 mm	*6 mm	*6 mm	*6 ± 0 mm

Keterangan : K (+) = Kontrol positif Ciprofloksasin; K (-) = Kontrol negatif Aquades; * = Diameter sumuran

Variasi ukuran diameter zona hambat pada uji aktivitas antibakteri, termasuk pada kontrol positif, dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor teknis yang berperan dalam proses difusi senyawa antibakteri serta pertumbuhan bakteri pada media uji. Ketidaksesuaian terhadap parameter standar, seperti ketebalan agar, waktu inkubasi, dan kepadatan inokulum, berpotensi menyebabkan perbedaan dalam hasil pengukuran diameter zona hamba [15,16].

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei* yang sejalan dengan penelitian sebelumnya pada duan jambu biji yang memiliki spesies yang sama. Penelitian terdahulu menunjukkan aktivitas antibakteri pada daun jambu biji terhadap *Escherichia coli* dengan terbentuknya zona hambat seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak yang digunakan. Pola yang sama juga terdapat pada pengujian terhadap bakteri *Shigella* spp., termasuk *Shigella dysenteriae*, yang secara filogenetik dekat dengan *Shigella sonnei*. Hal ini mengindikasikan bahwa daun jambu biji memiliki spektrum aktivitas antibakteri yang relevan terhadap bakteri penyebab diare [17–19].

Perbedaan aktivitas antibakteri antara ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Ekstrak etanol menunjukkan daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak air, sejalan dengan penelitian pada daun jambu biji yang menyatakan bahwa etanol lebih efektif mengekstrak senyawa antibakteri. Sebagai pelarut polar-menengah, etanol mampu melarutkan flavonoid aglikon, tanin, alkaloid, dan terpenoid yang berperan penting dalam aktivitas antibakteri. Sebaliknya, air yang sangat polar lebih banyak mengekstrak senyawa hidrofilik seperti gula dan fenolik sederhana sehingga menghasilkan zona hambat yang lebih kecil. Selain itu, bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei* memiliki membran luar kaya lipopolisakarida yang lebih resisten terhadap senyawa sangat polar, tetapi lebih sensitif terhadap senyawa semi-polar hasil ekstraksi etanol [20,21].

Dilakukan uji statistik untuk data zona hambat dimulai dari distribusi data, uji normalitas *Shapiro-wilk*, uji homogenitas, uji *Kruskal-wallis*, dan uji *Mann-whitney* menggunakan *software* SPSS. Dalam uji statistik, uji normalitas penting dilakukan untuk penentuan diterapkannya uji parametrik atau tidak dan menentukan bahwa data terdistribusi normal. Uji *Shapiro-Wilk* dipilih karena ukuran sampel kecil dengan kriteria pengujian yaitu $\text{sig} > 0,05$ menunjukkan data terdistribusi normal [22].

Table 4. Hasil Uji Pos Hoc *Mann-Whitney* (Zona Hambat dengan Konsentrasi)

Perbandingan Konsentrasi	Mann-Whitney U	Z	Sig. (2-tailed)	Keterangan
40 vs 20	2,000	-1,742	0,081	Tidak signifikan
20 vs 10	2,000	-1,742	0,081	Tidak signifikan
10 vs 5	0,500	-2,191	0,028	Signifikan
40 vs 5	0,000	-2,323	0,020	Signifikan

Output uji normalitas secara keseluruhan per kelompok konsentrasi, ekstra, dan jenis bakteri $p > 0,05$ yang menunjukkan data terdistribusi normal dan dilanjutkan uji homogenitas. Hasil $p = 0,00$ untuk uji homogenitas yang menunjukkan varian antar kelompok tidak homogen yaitu $p < 0,05$.

Karena asumsi homogenitas tidak terpenuhi, maka untuk uji lanjutan digunakan *Kruskal-wallis* untuk data dengan varians tidak homogen sehingga diberlakukan uji non-parametrik. Hasil data *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,001 < 0,05$ sehingga terdapat perbedaan signifikan terhadap keenam kelompok konsentrasi. Diberlakukan uji *Pos hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok konsentrasi yang memiliki perbedaan signifikan dengan $p < 0,005$. Output uji pos hoc *Mann-whitney* seperti pada Table 4 menunjukkan

hasil perbedaan zona hambat yang signifikan pada konsentrasi 10% dan 5% ($p=0,028$) serta antara konsentrasi 40% dan 5% ($p=0,020$). Namun tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 40% dan 20% maupun antara 20% dan 10% ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak mempengaruhi zona hambat terutama terjadi pada konsentrasi terendah. Selanjutnya, kontrol positif memiliki mean rank tertinggi dan kontrol negatif terendah menunjukkan hasil yang sesuai sebagai standar pembandingan pada uji antibakteri.

Uji KLT-Bioautografi

Uji KLT dilakukan dengan tiga reagen semprot bertujuan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder yang ada pada ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal (Tabel 4).

Table 5. Hasil Uji KLT dengan Reagen Semprot

Reagen Semprot	Keterangan	Nilai Rf		Golongan senyawa
		Ekstrak Etanol	Dekokta	
Dragendroff	+	0,80	0,80	Alkaloid
Sitroborat	+	0,68	0,68	Flavonoid
FeCl ₃	+	0,72	0,88	Tanin, Fenol

Fase gerak yang digunakan merupakan hasil optimasi yaitu Toluene : Etil Asetat : Metanol (4 : 5 : 1) v/v/v. Hasil KLT menunjukkan daun jambu kristal mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan fenolik. Terlihat pada kedua ekstrak terdapat nilai Rf baik ekstrak etanol maupun dekokta. Jika suatu ekstrak memiliki senyawa alkaloid maka setelah disemprot oleh reagen Dragendroff yang kemudian dipanaskan dengan oven selama 5 menit akan menghasilkan warna jingga-kecoklatan [23]. Selanjutnya, senyawa flavonoid ditunjukkan setelah disemprot dan dipanaskan ringan dengan terjadinya fluoresensi kuning-hijau yang dilihat pada UV 366 nm [11]. Sedangkan reagen FeCl₃ digunakan untuk mengetahui adanya tanin yang merupakan senyawa polifenol dalam ekstrak ditandai dengan adanya spot berwarna hijau kehitaman atau biru tua [24]. Hasil pada KLT selanjutnya digunakan untuk memadankan spot atau bercak pada bioautografi.

KLT-Bioautografi adalah tahap selanjutnya yang dilakukan untuk mengetahui senyawa apa yang menjadi agen antibakteri pada ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal. Metode yang dipilih yaitu kontak langsung dengan cara menempelkan plat KLT yang telah dijenuhkan ke media agar yang telah diinokulasikan bakteri. Terbentuknya zona bening sesuai dengan Rf menunjukkan senyawa yang menjadi agen antibakteri [25].

Berdasarkan hasil uji bioautografi pada bakteri *Escherichia coli* didapatkan zona bening pada spot Rf 0,68 untuk ekstrak etanol dan dekokta didapat Rf 0,68. Pada *Shigella sonnei* terdapat zona bening pada spot Rf 0,68 untuk ekstrak etanol dan Rf 0,67 untuk dekokta (Gambar 1).

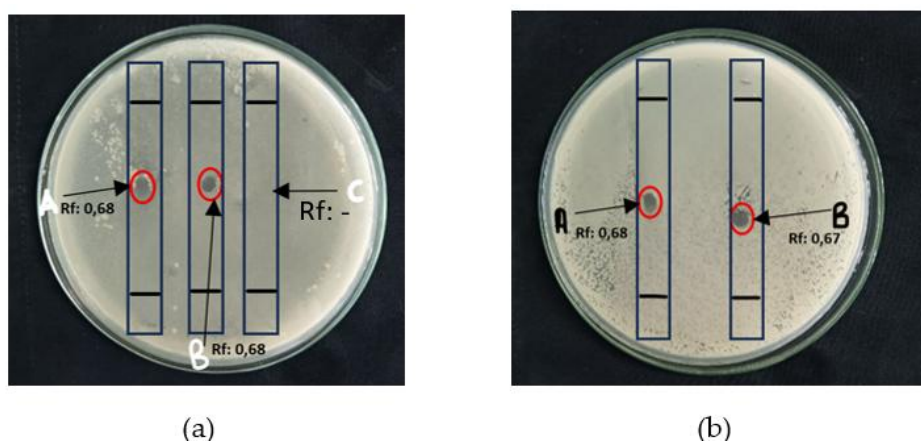


Figure 1. Hasil Uji Bioautografi (a) Bakteri *Escherichia coli* (b) *Shigella sonnei*; A: Ekstrak Etanol, B: Dekokta, C: Kontrol negatif (Fase gerak).

Nilai Rf pada hasil bioautografi kemudian dipadankan dengan plat KLT yang telah diuji. Berdasarkan hasil tidak terdapat persamaan nilai Rf pada ekstrak etanol dan dekokta. Didapat nilai Rf ekstrak etanol sesuai

dengan nilai Rf dari bercak reagen semprot sitroborat yaitu 0,68 sebagai pendeteksi flavonoid. Berdasarkan nilai Rf sesuai literatur untuk kuersetin yaitu dengan nilai Rf sekitar 0,68-0,72 untuk identifikasi flavonoid pada ekstrak tanaman [26], senyawa yang diduga berperan sebagai agen antibakteri adalah dari golongan flavonoid, dan kuersetin sebagai kandidat utamanya. Hal ini sesuai dengan teori bahwa kuersetin menjadi senyawa utama yang berperan sebagai antibakteri kuat pada ekstrak etanol daun jambu biji dengan cara mengganggu integritas membran sel, merusak metabolisme energi sel, dan menghambat sintesis protein [27,28]. Namun perlu identifikasi ini bersifat preliminer dan perlu konfirmasi deteksi senyawa yang menjadi agen antibakteri dengan metode yang lebih spesifik.

Perbedaan kecil pada nilai Rf dalam analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain tingkat kejenuhan chamber, ketebalan lapisan fase diam pada pelat, serta kondisi pengembangan kromatogram. Selain itu, keberadaan senyawa lain dalam ekstrak juga dapat memengaruhi pergerakan senyawa target. Identifikasi senyawa yang hanya didasarkan pada kesesuaian nilai Rf dengan standar pada satu sistem eluen memiliki keterbatasan, mengingat nilai Rf sangat bergantung pada kondisi eksperimental. Oleh karena itu, konfirmasi identitas senyawa perlu dilakukan menggunakan sistem eluen yang berbeda atau metode analisis tambahan untuk meningkatkan tingkat keakuratan identifikasi [29,30].

Kesimpulan

Ekstrak etanol dan dekokta daun jambu kristal (*Psidium guajava* L. cultivar Kristal) menunjukkan aktivitas antibakteri kuat terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella sonnei* dengan pola peningkatan daya hambat seiring kenaikan konsentrasi, di mana konsentrasi 40% b/v menghasilkan zona hambat terbesar pada kedua bakteri uji. Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar konsentrasi (Kruskal–Wallis, $p = 0,001$), dengan perbedaan signifikan terutama antara 40% vs 5% dan 10% vs 5% (Mann–Whitney, $p < 0,05$). Uji KLT dan KLT-bioautografi mengindikasikan bahwa kedua ekstrak mengandung flavonoid, alkaloid, dan tanin, serta menunjukkan bahwa fraksi flavonoid berperan dominan sebagai agen antibakteri. Berdasarkan kesesuaian Rf dan zona hambat pada bioautografi, senyawa flavonoid yang diduga kuat berkontribusi adalah kuersetin, namun konfirmasi lebih lanjut dengan metode analitik yang lebih spesifik masih diperlukan.

Conflict of Interest

Para penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan finansial, personal, ataupun institusional yang dapat memengaruhi pelaksanaan, analisis, dan pelaporan hasil penelitian ini.

Referensi

- [1] Hutasoit D. Pengaruh Sanitasi Makanan dan Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli* Terhadap Penyakit Diare Pendahuluan 2020;9:779–86. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.399>.
- [2] Kemenkes RI. Buku Pedoman Pengendalian Penyakit Diare. Dep Kesehat RI, Direktorat Jendral Pengendali Penyakit Dan Penyehatan Lingkung 2010:1–81.
- [3] WHO. Diarrhoea Treatment Guidelines Including new recommendations for the use of ORS and zinc supplementation for Clinic-Based Healthcare Workers. 2015.
- [4] Nugroho HP, Fauziah PN, Alislam MA. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Pada Bakteri *Salmonella typhi* ATCC 14028 Kolonisasi bakteri pada epitel kandung kemih dan ureter oleh *Staphylococcus saprophyticus* terjadi melalui beberapa jenis adhesin yang berb 2022;8:88–101.
- [5] Nurdianti L, Yuliana A, Raras E, Setiawan F, Wulandari WT, Firmansya A. Antibacterial activity of guava (*Psidium guajava* L.) leaf ethanolic extract nanosuspension against *Escherichia coli* bacteria 2024;14:173–82. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v14i2.26359>.
- [6] BPOM RI. Pedoman Penyediaan Bahan Baku Obat Bahan Alam Berbasis Ekstrak / Fraksi. Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI 2023:45.
- [7] Sari M. Uji bakteriologis dan resistensi antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella* sp pada makanan gado-gado di kantin UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Lap Penelit Fak Kedokt Dan Ilmu Kesehat UIN Sfarif Hidayatullah Jakarta 2015:1–87.
- [8] Kherid MT, Sari D diana, Nuri N. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta* Merr.) dan Fraksinya Terhadap *Salmonella typhi*. Pharm J Indones 2020;005:97–102.

<https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.5>.

- [9] Putri D, Tutik T, Nofita N, Husein S. Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* Ekstrak Metanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Dengan Metode Ekstraksi Refluks. JFM (Jurnal Farm Malahayati) 2024;7:297–309. <https://doi.org/10.33024/jfm.v7i2.8935>.
- [10] Widyanti ID, Maryati M. *Shigella sonnei* and *Bacillus cereus* Bacteria. Usadha J Pharm 2023;2:60–71.
- [11] Utari SSN. Beberapa Daun Tanaman di Indonesia Terhadap *Shigella sonnei* Serta Bioautografinya [Skripsi]. 2016.
- [12] Anikasari E, Istiqomah N, Amalia M. Effectiveness Analgesic Of Ethanol Extrakt Of Kersen Leaves (*Muntingia calabura* L) On White Mice. J Pharma Bhakta 2022;2:36–43.
- [13] Purnamaningsih, N., Kalor, H., & Atun S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 Dan *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 2015;25923:6.
- [14] Wulandari L, Umam K. Potensi Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dalam Menghambat Bakteri Patogen (*E. sakazakii*, *S. typhi*, dan *L. monocytogenes*). J Ilm Biosaintropis 2023;8:18–31. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v8i2.497>.
- [15] Hombach M, Maurer FP, Pfiffner T, Böttger EC, Furrer R. Standardization of operator-dependent variables affecting precision and accuracy of the disk diffusion method for antibiotic susceptibility testing. J Clin Microbiol 2015;53:3864–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.02351-15>.
- [16] Microbiology AS for. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility. Am Soc Microbiol 2016;3:6–13.
- [17] Sule AO, Olalemi AO, Ogundare AO. Efficacy of leaf extracts of *Psidium guajava* (L.) on enteric bacterial isolates from faecally impacted groundwater. Water Pract Technol 2022;17:167–74. <https://doi.org/10.2166/wpt.2021.113>.
- [18] Ali M, Yahaya A, Zage A, Yusuf Z. In-vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Psidium guajava* on Some Enteric Bacterial Isolates of Public Health Importance. J Adv Med Pharm Sci 2017;12:1–7. <https://doi.org/10.9734/jamps/2017/31126>.
- [19] Khikmah N, Nurhidayati FA. Efektifitas Sari Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Sebagai Antibakteri Pada *Escherichia Coli*. J Anal Lab Med 2024;9:145–52. <https://doi.org/10.51544/jalm.v9i2.5433>.
- [20] Lee JE, Jayakody JTM, Kim J Il, Jeong JW, Choi KM, Kim TS, et al. The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. Foods 2024;13:1–21. <https://doi.org/10.3390/foods13193151>.
- [21] Aulia Nur Rahmawati, Salsabila TS, Mariastuti L. Perbedaan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Buah Jambu Merah (*Psidium guajava*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Duta Pharma J 2024;4:185–92. <https://doi.org/10.47701/djp.v4i1.3822>.
- [22] Sianturi R. Test Normality As A Condition Of Hypothesis Testing. J Pembelajaran Dan Mat Sigma 2025;11:1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.36987/jpms.v10i2.5881>.
- [23] Markovi M, Paunovi DM, Antoni DD. Histochemical Localization of Alkaloids in the Bulbs of In Vitro-Regenerated Snake ' s Head Fritillary (*Fritillaria meleagris* L .): The Effect of a Temperature Regime. Horticulturae 2023;10:4–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/horticulturae10010017>.
- [24] Chandra D, Thaib CM, Tandiono S, Irianto M, Sari U, Indonesia M. Formulasi dan Uji Penetrasi In Vitro Sediaan Gel Sistem Fitosom Ekstrak Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica* L .) Program Studi S1 Farmasi / Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan dalam industri perawatan kulit . JRIKUF J Ris Ilmu Kesehat Umum 2024;2:157–78. <https://doi.org/https://doi.org/10.57213/jrikuf.v2i4.559>.
- [25] Paputungan WA, Lolo WA, Siampa JP. Aktivitas Antibakteri dan Analisis KLT-Bioautografi Dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). Pharmacon 2019;8:516. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29325>.
- [26] Mamahit RM, Fatmawali, Jayanti M. Isolation and Identification of Flavonoid Compounds in Ethanol Extract of Lemon Suanggi Fruit Peel (*Citrus limon* L.). J Pharmacon 2023;12:120–6.
- [27] Barbosa J, Galberto J. Review Article Flavonoids: A Review of Antibacterial Activity Against Gram-Negative Bacteria. Int J Microbiol 2025;2025. <https://doi.org/10.1155/ijm/9961121>.
- [28] Turay A, Kamara MD, Conteh EBS. Phytochemical screening and antimicrobial studies of *Psidium guajava* (*Guava*) plant. Int J Pharmacogn Pharm Sci 2025;7:51–9. <https://doi.org/https://shorturl.at/3gBv2>.
- [29] Mursalim, Hasan ZA, Pratama R. Politeknik Kesehatan Kemenkes Ternate. 2018.
- [30] Chromatography PL. The Technique of Thin-Layer 1972:115–6.