

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI DAN DAUN MANGGA ARUMANIS TERHADAP S. AUREUS

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF THE COMBINATION OF ETHANOL EXTRACT OF GUA VA AND ARUMANIS MANGO LEAVES AGAINST STAPHYLOCOCCUS. AUREUS

Tri Cahyani Widiastuti^{1*}, Laeli Fitriati¹, Nurlaela Rahmawati¹, Siska Kumalasari¹, Fadila Amalina Putri¹

¹Program Studi Sarjana Program Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Gombong *Email Corresponding: tricahyani@unimugo.ac.id

Submitted: 17 February 2023 Revised: 8 May 2023 Accepted: 10 May 2023

ABSTRAK

Daun mangga arummanis (Mangifera indica L.) dan daun jambu biji (Psidium guajava. L) terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur. Staphylococcus aureus merupakan jenis bakteri patogen opportunistik yang dapat menyebabkan penyakit infeksi. Maserasi ekstrak dilakukan untuk menghilangkan adanya zat yang tidak dapat menghasilkan efek terapi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga arumanis dan daun jambu biji terhadap bakteri Staphylococcus aureus, serta kandungan senyawa flavonoid dengan metode KLT. Serbuk daun mangga arumanis dan serbuk daun jambu bji diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram terhadap bakteri uji dengan seri konsentrasi 6,25%; 12,5%; dan 25% menggunakan perbandingan (1:1); (1:2); dan (2:1). Fase diam yang digunakan pada uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah plat silika gel GF254 dengan fase gerak yang digunakan yaitu etil asetat : n-heksana (7:3) dengan pembanding senyawa flavonoid yang digunakan yaitu kuersetin dan untuk tannin dengan pembanding asam tanat. Analisis data yang diperoleh berupa diameter zona hambat, yang kemudian dianalisis secara statistik menggunakan One Way Anova. Hasil skrining fitokimia kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arumanis mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid terkandung dalam daun mangga arumanis. Pada kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arumanis konsentrasi 6,25% perbandingan 1:2 memiliki daya hambat paling besar yaitu 8 mm termasuk kategori kuat, pada konsentrasi 12,5% perbandingan 1:2 memiliki daya hambat paling besar yaitu 10,2 mm termasuk kategori kuat dan pada konsentrasi 25% perbandingan 2:1 memiliki daya hambat paling besar yaitu 12,3 mm termasuk kategori sangat kuat.

Kata kunci: Daun Jambu Biji, Daun Arum Manis, Antibakteri, Staphylococcus aureus

ABSTRACT

Arumanis mango leaves (Mangifera indica L.) and guava leaves (Psidium guajava. L) are proven to have antibacterial and antifungal activity. Staphylococcus aureus is a type of opportunistic pathogenic bacteria that can cause infectious diseases. Maceration of the extract is carried out to eliminate the presence of substances that cannot produce therapeutic effects. This study aims to determine the antibacterial activity of the ethanol extract of mango arumanis leaves and guava leaves against Staphylococcus aureus bacteria, as well as the content of flavonoid compounds using the TLC method. Arumanis mango leaf powder and

guava leaf powder were extracted using 70% ethanol by maceration method. The antibacterial activity test was carried out using the agar diffusion method against the test bacteria with a concentration series of 6.25%; 12.5%; and 25% use a comparison (1:1); (1:2); and (2:1). The stationary phase used in the Thin Layer Chromatography (TLC) test was silica gel plate GF254 with the mobile phase used being ethyl acetate: n-hexane (7:3) with the flavonoid compound used as comparison, namely quercetin and for tannins with tannic acid as comparison. Analysis of the data obtained was in the form of the diameter of the inhibition zone, which was then analyzed statistically using One Way Anova. The results of the phytochemical screening combination of ethanol extracts of guava leaves and arumanis mango leaves contain secondary metabolites such as phenols, flavonoids, tannins, saponins, steroids, and triterpenoids contained in arumanis mango leaves. In the combination of ethanol extract of guava leaves and mango arumanis leaves with a concentration of 6.25%, a ratio of 1:2 has the greatest inhibition, namely 8 mm, which is included in the strong category, at a concentration of 12.5%, a ratio of 1:2 has the greatest inhibition, namely 10. 2 mm is included in the strong category and at a concentration of 25%, the ratio of 2:1 has the greatest inhibition, namely 12.3 mm, which is included in the very strong category.

Keywords: Guava Leaves, Sweet Arum Leaves, Antibacterial, Staphylococcus aureus

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk daerah tropis yang menjadi penyebab penyakit infeksi yang banyak diderita oleh masyarakat. Penyakit infeksi didefinisikan sebagai penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti virus, bakteri, parasit, dan jamur. *Staphylococcus aureus* merupakan mikroorganisme yang seringkali menjadi penyebab terjadinya penyakit infeksi (Wahyu dkk., 2017). Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut yaitu seperti infeksi lokal (jerawat, bisul, impetigo) dan infeksi luka. Penyakit pneumonia, meningitis, endokarditis, dan osteomielitis merupakan penyakit infeksi yang lebih berat. Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga menjadi penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik. *Staphylococcus aureus* dapat masuk pada jaringan dan tinggal dalam waktu lama pada daerah infeksi karena organisme tersebut menghasilkan toksin (*staphilotoksin, staphylococcal enterotoxin*, dan *exfoliatin*) sehingga menimbulkan infeksi kulit. *Staphylococcus aureus* menyebabkan sindrom infeksi yang luas (Ruhana Afifi, 2017).

Staphylococcus aureus lebih dari 80% strain menghasilkan *penicilinase*, dan *penicillinase-stable* β-laktam seperti Methicilin, cloxacilin, dan fluoxacilin yang telah digunakan sebagi terapi dari infeksi *Staphylococcus aureus* selama 35 tahun. Setelah menggunakan agen tersebut untuk pengobatan, strain yang resisten terhadap golongan penicillin dan β-laktam tidak akan mucul lama. Penggunaan antibiotik jangka panjang dapat merugikan penderita karena menyebabkan resistensi bakteri patogen sehingga bakteri resistensi terhadap antibiotik. Kejadian ini menjadi masalah besar dalam bidang kesehatan. Oleh karena itu, perlu alternatif pengganti antibiotik yang ramah lingkungan seperti antibiotik yang berasal dari tumbuhan (Fadhilah dkk., 2018).

Daun jambu biji dan daun mangga arummanis merupakan tanaman obat alami yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif antibiotik. Tanaman tersebut dapat tumbuh di daerah tropis dan tersebar luas di Asia Tenggara sehingga mudah ditemukan di Indonesia. Menurut (Kurniasih, 2016), senyawa aktif paling banyak ditemukan di bagian daun daripada lainnya. Daun jambu biji (*Psidium guajava L*) mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai alternatif antibiotik alami. Daun jambu biji mengandung senyawa metabolik sekunder seperti flavonoid, tannin, saponin, polifenol, minyak atsiri (eugenol), asam malat, asam ursolat, asam psidiolat, asam kratogolat, asam oleabolat, dan asam guajaverin (Ruhana Afifi, 2017). Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya yang telah dilakukan menyebutkan bahwa saponin, tannin, dan flavonoid yang terkandung dalam daun jambu biji merupakan senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri (Handarni dkk., 2020).

Tanaman mangga arummanis (*Mangifera indica. L. var. arumanis*) juga berpotensi sebagai antibakteri. Daun mangga arummanis mengandung senyawa mangiferan, flavonoid, alkaloid, steroid, polifenol, tannin, dan saponin. Senyawa flavonoid, saponin, dan mangiferan merupakan senyawa metabolit sekunder dari daun mangga arummanis yang berperan sebagai antibakteri (*Prasetyorini Djarot*, *Isna Diana*, 2020). Daun mangga bermanfaat untuk mengatasi infeksi pada kulit, kandidiasis oral, malaria, keputihan, cacar disentri dan diare.

Menurut penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan nilai daya hambat sebesar 11.0±0.52. Penelitian yang lain juga menyebutkan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak 5mg/ml; 10 mg/ml; 20mg/ml; 30mg/ml; 40mg/ml; 50mg/ml; dan 60 mg/ml dengan rata-rata nilai daya hambat berturut-turut 0 mm; 0 mm; 14,1 mm; 15,7 mm; 18,1 mm; 18,5 mm; dan 16,2 mm. Hasil penelitian Kunti menyatakan bahwa ekstrak etanol daun mangga arumanis (*Mangifera indica. L. var. arumanis*) dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100% diperoleh rata-rata daya hambat secara berturut-turut sebesar 13,18±1,31; 15,03±1,33; 15,89±0,65; 15,82±1,17; 15,82±1,17; dan19,93±1,32 (Biswas dkk., 2013; Yulisma, 2018; Kunti Mulangsri & Zulfa, 2020).

Perbedaan konsentrasi bahan aktif dari hasil penelitian tersebut berpengaruh pada aktivitas antibakterinya dan jika kedua tanaman tersebut dikombinasikan maka kombinasi ekstrak tersebut memiliki efek yang bersifat sinergis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Tidak semua senyawa antibakteri terkandung dalam tanaman, sehingga dilakukan kombinasi tanaman pada aktivitas antibakteri yang bertujuan untuk meningkatkan efektivitas antibakteri serta khasiat dari bahan alam tersebut. Kombinasi antibakteri memiliki efek yang bersifat antagonis, aditif, dan sinergis (Agboke dkk., 2011). Oleh karena itu, peneliti akan melakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava*. *L*) dan daun mangga arumanis (*Mangifera indica*. *L. var. arumanis*) terhadap *Staphylococcus aureus* sebagai perbandingan potensi antibakteri antara ekstrak tunggal dan kombinasi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu neraca (Bel), *Laminar Air Flow (Messgerate* H915S), alat gelas, *hot plate (Heidolph)*, chamber, bejana maserasi, autoklaf (All American), *waterbath (Biobase* SY-2L8H), incubator (Memmert IN55), mikropipet (Dragon Lab).

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak daun mangga arumanis, ekstrak daun jambu biji, etanol 70% (Teknis), Media *Nutrien Agar* (NA)((for microbiology MERCK), media *Nutrien Broth* (NB) (for microbiology MERCK), sukrosa, aquadest, plat silika GF254, alumunium foil, kertas saring, bakteri *Staphylococcus aureus*, vankomisin, Mg (MERCK), HCl pekat, DMSO (for analysis MERCK), H2SO4 1%, BaCl2 1,175% (analitical reagent SMART-LAB), NaCl 0,9%, asam sulfat pekat (teknis), larutan lugol dan FeCl3 1%, kloroform, HCL 2N, Pereaksi wagner (Indoreagen chemical), mayer dan dragendrof (Indoreagen chemical), butanol (for analysis MERCK), toluene (for analysis MERCK), asam asetat anhidrat (for analysis MERCK).

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi Daun Jambu Biji dan Daun arummanis

Daun jambu biji dan daun mangga arumanis yang telah diperoleh di Desa Mulyosari Kebumen dilakukan determinasi tanaman di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Universitas Ahmad Dahlan dengan nomor surat 474/Lab.Bio/B/XII/2022. Daun jambu biji dan daun manga arummanis sebanyak 3kg, lalu dicuci menggunakan air bersih yang mengalir kemudian daun jambu biji dan daun arummanis dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, lalu dioven pada suhu 40-

50°C. Daun yang sudah kering disortasi kering untuk memisahkan simplisia dari pengotor, kemudian diserbuk menggunakan blender. Serbuk daun jambu biji dan daun mangga arumanis masing-masing diambil 1 kg lalu dimasukan dalam bejana maserasi, kemudian tambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 5 L dan aduk selama 10 menit, direndam selama 2 hingga 3 hari dan sesekali diaduk. Setelah itu disaring menggunakan kain hingga menghasilkan filtrat. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan hingga menjadi ekstrak kental (Biswas *et al.*, 2013; Kunti Mulangsri and Zulfa, 2020).

2. Skrining Fitokimia

a. Pemeriksaan Fenol

Ekstrak daun jambu biji dan mangga arummanis masing-masing ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan menggunakan akuades dan ditetesi dengan larutan FeCl3 5% secukupnya. Jika ekstrak positif mengandung fenol maka muncul warna hijau kehitaman (Bahrisy, Fitriyati and Kiromah, 2021).

b. Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak daun jambu biji dan mangga arummanis masing-masing ditambah 10 ml air. Campuran kemudian dipanaskan selama 5 menit, disaring dan diambil filtratnya. Filtrat ditambahkan 0,1 gram Mg, 1 ml HCl pekat, dan 1 ml amil alkohol. Lalu dikocok kuat-kuat. Uji positif ditandai muncul warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Nugraha, Prasetya and Mursiti, 2017)

c. Pemeriksaan Tannin

Ekstrak daun jambu biji dan mangga arummanis masing-masing dilarutkan dalam 100 ml air panas, dinginkan lalu disaring. Filtrat 5 ml dimasukkan ke tabung reaksi ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi FeCl3 1 %. Positif bila terbentuk warna hijau violet atau hijau kehitaman pada reaksi dengan FeCl3 (Kunti Mulangsri and Zulfa, 2020)

d. Pemeriksaan Saponin

Ekstrak daun jambu biji dan mangga arummanis masing-masing di timbang 0,5 gram, ditambahkan dengan 10 ml akuades panas, selanjutnya didinginkan dan digojog kuat selama 10 detik. Reaksi dikatakan positif jika terbentuk busa selama 10 menit dengan ketinggian 1-10 cm, lalu ditambahkan asam klorida 2 N sebanyak 1 tetes yang menimbulkan buih tidak hilang (Handarni, Putri and Tensiska, 2020).

e. Pemeriksaan Triterpenoid Dan Steroid

Pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid dilakukan dengan metode Reaksi *Lieberman-Burchard*. Reaksi dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,5 gram masig- masing ekstrak dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, selanjutnya ditambahkan dengan asam asetat anhidrat sebanyak 0,5 ml. Asam sulfat pekat ditambahkan sebanyak 2 ml melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin kecoklatan atau violet yang terdapat pada perbatasan larutan menunjukkan adanya triterpenoid, jika muncul cincin warna biru kehijauan menunjukkan adanya steroid (Kunti Mulangsri and Zulfa, 2020).

f. Pemeriksaan Alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan mengambil 0,5 gram masing-masing ekstrak kemudian ditambahkan dengan 1 ml asam klorida 2 N dan air suling sebanyak 9 ml, selanjutnya dipanaskan pada penangas air selama 2 menit, selanjutnya didinginkan dan disaring. Filtrat kemudian dipindah kedalam 3 bagian yang selanjutnya ditetesi dengan pereaksi meyer, dragendrof, dan wagner. Pereaksi meyer akan terbentuk endapan warna putih atau kuning yang larut dalam metanol, timbul warna jingga pada

pereaksi dragendrof dan pada pereaksi wagner akan timbul warna coklat yang menandakan ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid (Handarni, Putri and Tensiska, 2020).

Pengujian fitokimia dan identifikasi kromatorafi lapis tipis fase diam yang digunakan adalah plat silika gel GF254, fase gerak yang digunakan campuran eluen etil asetat : n-heksana (7:3) untuk pemeriksaan flavonoid dengan pembanding kuersetin dan untuk tannin dengan pembanding asam tanat. Hasil kromatogram diamati dibawah sinar tampak, sinar UV 254 dan 366 nm untuk melihat fluorosensi bercak dan menghitung nilai Rf-nya (Kunti Mulangsri and Zulfa, 2020).

3. Uji Aktivitas Antibakteri kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun arum manis

a. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Serbuk NA ditimbang 36gram lalu dilarutkan ke dalam 1 liter aquadest di dalam erlenmeyer dan dihomogenkan, kemudian erlenmeyer ditutup menggunakan *alumunium foil* dan sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit (Fiana dkk., 2020a).

b. Pembuatan Suspensi Bakteri

Kultur bakteri diambil 2-3 ose yang sudah diinkubasi selama 24 jam, lalu diencerkan dengan media NB (*Nutrient Broth*) sebanyak 10 ml sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc Farland (Fiana dkk., 2020b).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis dilakukan menggunakan metode difusi cakram pada media NA dan dikerjakan pada LAF. Suspensi bakteri Staphylococcus aureus yang sudah dibuat kemudian diambil sebanyak 100µL menggunakan mikropipet dan dituang ke dalam media NA padat menggunakan metode pour plate, suspensi bakteri kemudian diratakan secara perlahan di atas permukaan media NA yang sudah memadat dan biarkan beberapa menit hingga bakteri kering sempurna. Kertas cakram yang telah direndam dalam larutan sampel ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis dengan konsentrasi 6,25% yaitu dengan menimbang 0,625 gram ekstrak etanol kemudian dilarutkan dengan 10 mL aquades, konsentrasi 12,5% yaitu dengan menimbang 1,25 gram dilarutkan dalam 10 mL aquades, dan konsentrasi 25% yiatu dengan menimbang 2,5 gram dilarutkan dalam 10 mL aquades. Ketiga konsentrasi diatas kemudian dibuat menjadi beberapa perbandingan untuk kombinasi ekstrak dengan menggunakan perbandingan 1:1; 1:2; dan 2:1, yaitu pada perbandingan (1:1) diambil 1 mL ekstrak etanol daun jambu biji ditambah 1 mL ekstrak etanol mangga arummanis, pada perbandingan (1:2) diambil 1 mL ekstrak etanol daun jambu biji ditambah 2 mL ekstrak etanol daun mangga arummanis, pada perbandingan (2:1) diambil 2 mL ekstrak etanol daun jambu biji ditambah 1 mL ekstrak etanol daun mangga arummanis. Kertas cakram direndam beberapa menit dari setiap konsentrasi perbandingan yang diujikan, lalu diletakkan diatas permukaan media agar dan diamkan selama 15 menit (Biswas et al., 2013; Kunti Mulangsri and Zulfa, 2020).

Larutan vankomisin 1000µg/mL DMSO sebagai kontrol positif dan kontrol negatif yaitu DMSO (*Dimetil sulfoksida*). Media yang telah mendapat perlakuan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun arum manis diulangi sebanyak 3 replikasi. Hasil yang diperoleh diukur diameter zona hambatnya dengan menggunakan jangka sorong (Permatasari, 2020).

Perhitungan zona hambat bakteri dengan cara:

$$\frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Keterangan:

DV: Diameter Vertikal
DH: Diameter Horizontal
DC: Diameter kertas cakram

Analisis Data

Analisis data yang diperoleh berupa diameter zona hambat dianalisis secara statistik menggunakan *One Way Anova*. Kemudian uji *Post-Hoc LSD* dilakukan untuk mengetahui perbedaaan rata-rata antar perlakuan konsentrasi. Hasil pengujian menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan apabila nilai sig < 0,05 (Yulisma, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi Daun Jambu Biji dan Daun Mangga Arummanis

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Proses maserasi pelarut akan berdifusi ke dalam simplisia daun jambu biji dan juga daun mangga arumanis sehingga melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang sama dengan pelarut. Metode maserasi memiliki kelebihan diantaranya yaitu tidak memerlukan pemanasan pada saat penarikan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam simplisia sehingga senyawa tidak rusak karena pemanasan, alat yang digunakan dalam maserasi sederhana dan mudah digunakan. Hasil dari maserasi diperoleh pada ekstrak kental daun jambu biji berwarna hijau kehitaman dengan rendemen ekstrak sebesar 19,46%, sedangkan hasil maserasi ekstrak kental daun mangga arumanis berwarna hijau kecoklatan dengan rendemen ekstrak sebesar 23,55%.

2. Skrining Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan mengamati warna atau perubahan yang terbentuk setelah direaksikan dengan beberapa pereaksi. Tujuan analisis dilakukan untuk mengetahui beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kental daun jambu biji dan daun mangga arumanis. Senyawa metabolit sekunder yang diujikan pada penelitian ini yaitu fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid dan triterpenoid. Hasil uji tabung yang dilakukan pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel I**.

Tabel I. Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Hasil Uji Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji	Hasil Uji Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis
Fenol	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	+	+
Alkaloid:		
 Pereaksi Dragendrof 	+	+
 Pereaksi Wagner 	+	+
 Pereaksi Mayer 	-	-
Steroid	+	+
Triterpenoid	-	+

Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini menunjukan bahwa ekstrak daun jambu biji maupun daun mangga arummanis positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, tanin, saponin, steroid, namun pada ekstrak etanol daun jambu biji tidak mengandung triterpenoid sedangkan pada ekstrak etanol daun mangga arummanis mengandung triterpenoid. Ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis senyawa alkaloid positif pada pereaksi dragendrof dan pereaksi wagner, sedangkan pada pereaksi mayer baik ekstrak etanol daun jambu biji maupun daun mangga arummanis negatif. Hasil identifikasi beberapa senyawa metabolit yang terkandung pada masing-masing ekstrak menandakan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis berpotensi memiliki aktivitas antibakteri (Handarni, Putri and Tensiska, 2020; Kunti Mulangsri and Zulfa, 2020).

3. Uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Uji KLT yang bertujuan untuk memastikan kandungan senyawa flavonoid dan tanin dalam ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun mangga arumanis secara kualitatif. Eluen yang digunakan untuk identifikasi senyawa flavonoid dengan menggunakan etil asetat : n-heksan dengan perbandingan (7:3). Pemilihan fase gerak didasarkan pada kemampuan fase gerak untuk mengeluasi senyawa. Pemilihan fase gerak berupa etil asetat : n-heksan karena eluen tersebut dapat memisahkan senyawa non polar, semi polar maupun polar sehingga bercak hasil elusi dapat diidentifikasi sesuai golongan senyawanya. Eluen yang baik merupakan eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak dan ditandai dengan munculnya noda. Hasil uji KLT dalam mengidentifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun jambu biji menghasilkan nilai Rf sebesar 0,81, pada ekstrak etanol daun mangga arumanis menghasilkan nilai Rf sebesar 0,8, sedangkan nilai Rf pada senyawa pembanding kuersetin menghasilkan nilai Rf sebesar 0,81. Sedangkan hasil uji KLT dalam mengidentifikasi senyawa tanin pada esktrak etanol daun jambu biji menghasilkan nilai Rf sebesar 0,79, pada ekstrak etanol daun mangga arumanis menghasilkan nilai Rf sebesar 0,79, sedangkan nilai Rf pada senyawa pembanding tanat menghasilkan nilai Rf sebesar 0,78. Menurut penelitian sebelumnya menyatakan bahwa hasil uji KLT pada ekstrak terpurifikasi daun mangga arummanis menghasilkan nilai Rf sebesar 0,81 sedangkan nilai Rf pada pembanding kuersetin menghasilkan nilai Rf sebesar 0,85 (Bahrisy dkk., 2021; Forestryana & Arnida, 2020; Kunti Mulangsri & Zulfa, 2020).

4. Uji Aktivitas Antibakteri

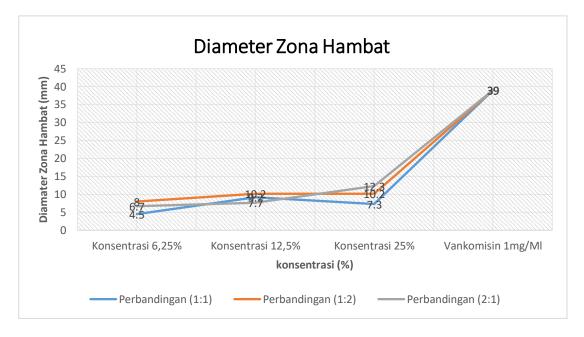
Ekstak daun jambu biji dan ekstrak daun mangga arummanis yang telah dilakukan uji skrining fitokimia kemudian dilakukan uji antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram yang berukuran 6 mm. Aktivitas antibakteri pada penelitian ini ditentukan dengan mengukur besarnya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis dengan konsentrasi yang berbeda. Kontrol negatif yang digunakan yaitu larutan DMSO. Kontrol negatif dilakukan dalam pengujian ini bertujuan agar kontrol negatif tidak akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri dan tidak mempengaruhi uji aktivitas pada ekstrak yang diuji. Kontrol positif yang digunakan yaitu vankomisin 1mg/1mL DMSO. Vankomisin merupakan antibiotik golongan glikopeptida yang memiliki mekanisme membunuh bakteri dengan mencegah sintesis dinding sel. Vankomisin merupakan antibiotik lini ketiga yang aktif terhadap bakteri gram-positif. Vankomisin diindikasikan untuk infeksi yang disebabkan karena bakteri *Staphylococus aureus* yang resisten terhadap metisilin (MRSA) (Afrida, 2018).

Hasil uji antibakteri yang dilakukan menggunakan metode kertas cakram dengan terbentuknya zona hambat yang ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram. Zona bening yang terbentuk menandakan bahwa adanya aktivitas antibakteri. Hasil pengujian antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

dikategorikan kuat pada semua konsentrasi (**Tabel II**). Menurut (Surjowardoyo dkk., 2015) kategori antibakteri pada zona hambat yang terbentuk apabila berukuran kurang dari 5 mm dikategorikan lemah, 6-10 mm dikategorikan sedang, 11-20 mm dikategorikan kuat dan apabila diameter zona hambat lebih dari 21 mm dikategorikan sangat kuat. Rata-rata zona hambat yang diperoleh pada waktu inkubasi 24 jam menunjukan adanya diameter zona hambat yang berbeda setiap konsentrasi. Data rata-rata diameter zona hambat dapat dilihat pada **Gambar 1** (Surjowardoyo dkk., 2015).

Sampel	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)			Nilai SD
	(1:1)	(1:2)	(2:1)	
6,25%	4,5	8	6,7	6,4
12,5%	9,2	10,2	7,7	9,03
25%	7,3	10,2	12,3	9,93
Vankomisin	39	39	39	39
1mg/mL DMSO				
DMSO 1mL	-	-	-	-

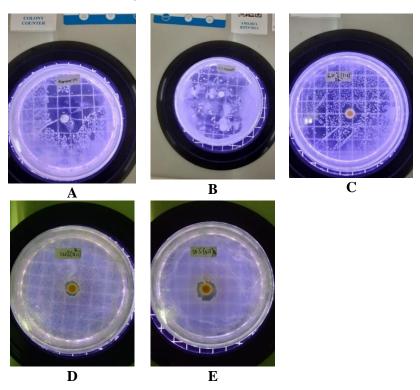
Tabel II. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri



Gambar 1. Diameter Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Mangga Arummanis

Uji antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda-beda pada setiap konsentrasi yang digunakan. Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka diameter zona hambat yang dihasilkan semakin besar. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi zat aktif yang dapat berpotensi sebagai antibakteri seperti flavonoid, dan tanin maka semakin meningkat. Kombinasi ekstrak etanol 70% daun jambu biji dan daun mangga arummanis memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, adanya aktivitas antibakteri mulai dari konsentrasi 6,25% hingga konsentrasi 25%. Penelitian sebelumnya menunjukan bahwa hasil daya hambat ekstrak daun mangga arummanis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 6,25%

menghasilkan daya hambat sebesar 13,18±1,31 mm, namun pada penelitian yang dilakukan pada konsentrasi 6,25% didapatkan hasil rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan lebih besar pada perbandingan (1:2) dimana pada perbandingan (1:2) dibuat dengan menambahkan 1 mL esktrak daun jambu biji ke dalam tabung reaksi dan dicampur dengan 2mL ekstrak daun mangga arummanis. Hal ini menunjukan bahwa ekstrak daun mangga arummanis lebih peka dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsenstrasi 12,5% hasil yang didapatkan lebih besar pada perbandingan (1:2), namun pada konsentrasi 25% didapatkan hasil bahwa pada perbandingan (1:2) memiliki hasil diameter zona hambat yang sama dengan konsentrasi 12,5% yaitu sebesar 10,2 mm tetapi pada konsentrasi 25% perbandingan (2:1) juga memiliki hasil diameter zona hambat yang besar yaitu 12,3 mm, hal ini menunjukan bahwa ekstrak daun jambu biji juga mempunyai aktivitas antibakteri yang baik pada konsentrasi yang lebih besar. Hasil uji antibakteri ditunjukan pada Gambar 2 (Kunti Mulangsri & Zulfa, 2020).



Gambar 2. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Mangga Arummanis

Keterangan:

A: Kontrol positif (Vankomisin)

B: Kontrol negatif (DMSO)

C: Uji aktivitas antibakteri konsentrasi 6,25%

D: Uji aktivitas antibakteri konsentrasi 12,5%

E: Uji aktivitas antibakteri konsentrasi 25%

Data yang diperoleh pada penelitian ini berupa diameter zona hambat yang kemudian dianalisis dengan uji *One-way Anova* menggunakan program SPSS. Sebelum dilakukan uji *One-way Anova*, data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan memiliki varians yang homogen dengan nilai p > 0.05. Hasil uji normalitas pada penelitian kali ini didapatkan hasil bahwa pada konsentrasi 6.25%; 12.5% dan 25% secara berturut-turut didapatkan nilai p = 0.719 (p > 0.05); p = 0.780 (p > 0.05); p = 0.824

(p>0,05), hal ini menunjukan bahwa data yang diperoleh normal dan dapat dilihat pada **Tabel III**.

Tabel III. Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk

Tests of Normality ^{b,c}						
		Kolmogoro	v-Smi	rnov ^a	Shapir	o-Wilk
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df Sig.
Diameter Zona Hambat	Konsentrasi 6,25%	.234	3		.978	3 .719
	Konsentrasi 12,5%	.219	3		.987	3 .780
	Konsentrasi 25%	.209	3		.992	3 .824

Pada uji homogenitas didapatkan hasil bahwa nilai p = 0,060 (p>0,05), hal ini menunjukan bahwa data yang diperoleh homogen. Analisis statistik *One-way Anova* terhadap diameter zona hambat didapatkan hasil bahwa terdapat pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai p = 0,000 (p<0,05) dapat dilihat pada **Tabel IV**.

Tabel IV. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Diameter Zona Hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.235	4	10	.060

Hasil analisis *Post-Hoc LSD* didapatkan adanya perbedaan pengaruh yang signifikan antar kelompok konsentrasi dan kontrol positif. Kontrol positif jika dibandingkan dengan semua perbandingan pada konsentrasi baik 6,25%; 12,5% dan 25% lebih kuat kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus. Pada kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan baik kombinasi ekstrak maupun kontrol positif. Kombinasi ekstrak etanol konsentrasi 6,25% dengan konsentrasi 12,5% tidak memiliki perbedaan yang signifikan, namun kekuatan dalam menghambat pertumbuhan bakteri lebih besar pada konsentrasi 12,5%. Kombinasi ekstrak etanol konsentrasi 12,5% dengan konsentrasi 25% tidak memiliki perbedaan yang signifikan, namun kekuatan dalam menghambat pertumbuhan bakteri lebih besar pada konsentrasi 25%. Konsentrasi ekstrak tertinggi yaitu pada konsentrasi 25% yang merupakan konsentrasi adekuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus, namun apabila dibandingkan dengan kontrol positif yaitu vankomisin yang digunakan maka yankomisin memiliki efek yang lebih baik (p=0,000). Hasil analisis Post-Hoc LSD dapat dilihat pada Tabel V (Biswas et al., 2013).

Tabel V. Hasil Uji Post-Hoc LSD

Multiple Comparisons				
Dependent Variable: Diameter Zona Hambat				
		Mean Difference		
(I) Konsentras	i (J) Konsentrasi	(I-J)		
LSD Konsentrasi 6,25%	Konsentrasi 12,5%	-2.6333		
	Konsentrasi 25%	-3.5333*		
	Kontrol Positif	-32.6000*		
	Kontrol Negatif	6.4000*		

Konsentrasi 12,5%	Konsentrasi 6,25%	2.6333
·	Konsentrasi 25%	9000
	Kontrol Positif	-29.9667 [*]
	Kontrol Negatif	9.0333*
Konsentrasi 25%	Konsentrasi 6,25%	3.5333*
	Konsentrasi 12,5%	.9000
	Kontrol Positif	-29.0667*
	Kontrol Negatif	9.9333*
Kontrol Positif	Konsentrasi 6,25%	32.6000*
	Konsentrasi 12,5%	29.9667*
	Konsentrasi 25%	29.0667*
	Kontrol Negatif	39.0000*
Kontrol Negatif	Konsentrasi 6,25%	-6.4000 [*]
	Konsentrasi 12,5%	-9.0333*
	Konsentrasi	-9.9333*
	25%	-39.0000*

Berdasarkan penelitian (Nugraha dkk., 2017a) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun mangga mengalami penambahan diameter zona hambat selama mengalami variasi inkubasi yaitu pada 1x24 jam dan 5x24 jam pada pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus, pada inkubasi selama 1x24 jam didapatkan diameter zona hambat sebesar 8,2 mm yang dikategorikan kuat dan pada inkubasi selama 5x24 jam mengalami penambahan diameter zona hambat menjadi 11,4 mm yang dikategorikan sangat kuat. Pada isolat flavonoid daun mangga mengalami penurunan diameter zona hambat, dimana pada inkubasi selama 1x24 jam didapatkan diameter zona hambat sebesar 13,4 mm yang dikategorikan kuat dan pada inkubasi selama 5x24 jam mengalami penurunan diameter zona hambat menjadi 12,3 mm dikategorikan sangat kuat. Adanya aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun mangga arummanis diduga karena daun jambu biji maupun daun mangga arummanis mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid. Hasil uji aktivitas antibakteri penelitian (Nugraha dkk., 2017b) juga menyimpulkan bahwa isolat flavonoid daun mangga menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar, hal ini menunjukan bahwa yang berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah flavonoid. Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak dinding sel, menonaktifkan kerja enzim dan membentuk senyawa kompleks pada protein ekstraseluler yang dapat menyebabkan rusaknya membran sel bakteri (Nugraha dkk., 2017b).

KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid terkandung dalam daun mangga arummanis. Ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis dengan konsentrasi 6,25%; 12,5% dan 25% pada perbandingan 1:1, 1:2, 2:1 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun mangga arummanis konsentrasi 6,25% perbandingan 1:2 memiliki daya hambat paling besar yaitu 8

mm yang termasuk kategori kuat, pada konsentrasi 12,5% perbandingan 1:2 memiliki daya hambat paling besar yaitu 10,2 mm yang termasuk kategori kuat dan pada konsentrasi 25% perbandingan 2:1 memiliki daya hambat paling besar yaitu 12,3 mm yang termasuk kategori sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrida, A. (2018). Gambaran Tingkat Pengetahuan Masyarakat Tentang Penggunaan Antibiotik Di Dusun Nampan Bumirejo Mungkid. 1–50.
- Agboke, A. A., Attama, A. A., & Momoh, M. A. (2011). Evaluation of the antimicrobial activities of crude extract of Cryptolepis sanguinolenta and Crateva adansonii leaves and their interactions. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *1*(10), 85–89.
- Bahrisy, A.H.K., Fitriyati, L. and Kiromah, N.Z.W. (2021) 'Uji Aktivitas Antibakteri Sabun Cair Ekstrak Metanol Daun Mangga Arum Manis (Mangifera indica L. var. arum manis) Terhadap Staphylococcus epidermidis', *Prosiding The 14th University Research Colloquium*, pp. 44–56.
- Biswas, B. *et al.* (2013) 'Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (psidium guajava L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria', *International Journal of Microbiology*, 2013. Available at: https://doi.org/10.1155/2013/746165.
- Fadhilah, Annisa, Susanti, Sri, Gultom, & Tumiur. (2018). Karakterisasi Tanaman Jambu Biji (Psidium guajava L.) di Desa Namoriam Pancur Batu Kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya*, 1670.
- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W., & Purwanti, E. (2020a). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 10–20. https://doi.org/10.23917/pharmacon.v0i0.10108
- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W., & Purwanti, E. (2020b). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 10–20. https://doi.org/10.23917/pharmacon.v0i0.10108
- Forestryana, D., & Arnida, A. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (Hydrolea Spinosa L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113. https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859
- Handarni, D., Putri, S.H. and Tensiska, T. (2020) 'Skrining Kualitatif Fitokimia Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidiium guajava L.)', *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*, 8(2), pp. 182–188. Available at: https://doi.org/10.21776/ub.jkptb.2020.008.02.08
- Kunti Mulangsri, D.A. and Zulfa, E. (2020) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Mangga Arumanis (Mangifera indica L.) dan Identifikasi Flavonoid dengan KLT', *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(1), pp. 55–62. Available at: https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.14044.
- Kurniasih, R. (2016). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis Muda (Mangifera indica L.) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans IN VITRO. *Univearsitas Muhammadiyah Surakarta*, 1–11.
- Nugraha, A.C., Prasetya, A.T. and Mursiti, S. (2017) 'Isolasi, identifikasi, uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga', *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2), pp. 91–96.
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2017a). Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. 6(2).
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2017b). *Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga*. 6(2).
- Permatasari, D. A. (2020). Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun jambu mete (Anacardium occidentale Linn.) terhadap Propionibacterium acnes menggunakan metode sumuran. Skripsi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, 19.

- Prasetyorini Djarot, Isna Diana, D. I. (2020). Formulasi Dan Uji Anti Bakteri Sediaan Gel Ekstrak Daun Mangga Arumanis (Mangifera indica L.) Sebagai Anti Bakteri Staphylococcus aureus Dan Propionibacterium acnes. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 84–96. https://doi.org/10.33751/jf.v10i1.2072
- Ruhana Afifi, E. E. (2017). Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava L) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat Propionibacterium acnes Secara In Vitro Ruhana. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17, 321–330.
- Surjowardoyo, P., Susilorini, T. E., & Sirait, G. R. B. (2015). Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (Malus sylvestrs Mill.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Pseudomonas sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *Ternak Tropikal Vol. 16*, *16*(2), 1–47.
- Wahyu, Y., Mulyani, T., Hidayat, D., & Fatimah, Y. (2017). Ekstrak Daun Katuk (Sauropus androgynus (L) Merr) Sebagai Antibakteri Terhadap Propionibacterium acnes dan Staphylococcus epidermidis Antibacterial Activity of (Sauropus androgynus (L) Merr) Extract Againts Propionibacterium acnes and Staphylococcus Epide. *JFL Jurnal Farmasi Lampung*, 6(2), 46–55.
- Yulisma, L. (2018) 'Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji Lokal (Psidium Guajava L) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus Dan Bacilus Subtilis Secara in Vitro', *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 10(2), p. 1. Available at: https://doi.org/10.25134/quagga.v10i2.1296.