

Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap *Streptococcus mutans*

Comparison Of The Aantibacterial Activity Of Etanol Extract And Ethyl Asetate Fraction Of Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) Against *Streptococcus mutans*

**Ukhtian Uula Cahyani Firdaus, Asri Wido Mukti, Dewi Perwito Sari
Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas PGRI Adi Buana**

***Email: asriwidomukti@unipasby.ac.id**

ABSTRAK

Permasalahan gigi utama masyarakat Indonesia ialah karies gigi dengan salah satu pengobatannya memberikan teraapi antibiotik. Beberapa penelitian menunjukkan adanya tingkat resistensi antibiotik pada bakteri di plak gigi seperti pada amoksisilin dan tetrasiklin sebesar 100%, antibiotik klindamisin 91%, antibiotik eritromisin 83,3%, antibiotik ciprofloksasin 66,6%. Sehingga perlu adanya pengembangan obat baru dan dapat menggunakan bahan alam, seperti daun jambu biji yang memiliki aktivitas antibakteri karena mengandung flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid. Penarikan golongan senyawa dapat dilakukan dengan ekstraksi maupun fraksinasi. Tujuan penelitian ini ialah membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% dengan fraksi etil asetat serta antar konsentrasi (30%, 60%, dan 100%) pada daun jambu biji terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan menggunakan metode difusi cakram, hasil diameter zona hambat yang didapatkan diuji statistika ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan diameter zona hambat ekstrak berturut-turut ialah $11,61 \pm 0,35$ mm (kuat); $12,33 \pm 0,16$ mm (kuat); dan $13,31 \pm 0,64$ mm (kuat), sedangkan fraksi berturut-turut $9,23 \pm 0,48$ mm (sedang); $10,67 \pm 0,53$ mm (kuat); dan $10,97 \pm 0,06$ mm (kuat). Hasil analisis statistik two-way ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak dengan fraksi dan konsentrasi dengan nilai P value $< 0,05$. Hasil zona hambat terbaik ialah pada ekstrak konsentrasi 100%.

Kata kunci : Ekstrak, Fraksi, Daun Jambu Biji, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

The main dental problem among Indonesian is dental caries, with one of the treatments being antibiotic therapy. Several studies have shown a high level of antibiotic resistance in bacteria found in dental plaque, such as 100% resistance to amoxicillin and tetracycline, 91% resistance to clindamycin, 83.3% resistance to erythromycin, and 66.6% resistance to ciprofloxacin. Therefore, there is a need for the development of new drugs, potentially utilizing natural ingredients such as guava leaves, which possess antibacterial activity due to their content of flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, and terpenoids. The isolation of these compounds can be achieved through extraction or fractionation. The objective of this study was to compare the antibacterial activity of a 96% ethanol extract with the ethyl acetate fraction and between concentrations (30%, 60%, and 100%) of guava leaves against *Streptococcus mutans* bacteria using the disk diffusion method. The obtained zone inhibition diameter was then statistically tested using ANOVA. The results showed that the inhibition zone diameters of the extracts were 11.61 ± 0.35 mm (strong); 12.33 ± 0.16 mm (strong); and 13.31 ± 0.64 mm (strong), while the fractions were 9.23 ± 0.48 mm (moderate); 10.67 ± 0.53 mm (strong); and 10.97 ± 0.06 mm (strong). The results of the two-way ANOVA statistical analysis showed significant differences between the extracts with fractions and concentrations with a P-value < 0.05 . The best inhibition zone results were obtained from the 100% concentration extract.

Keywords: Extract, Fraction, Guava Leaves (*Psidium guajava* L.), *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Berdasarkan hasil Survey Kesehatan Indonesia (SKI) 2023 menunjukkan 56,9% penduduk Indonesia dengan usia >3 tahun mengalami permasalahan gigi, dengan permasalahan utama ialah karies gigi. Tingginya angka karies gigi di Indonesia berbanding terbalik dengan persentase penduduk yang berobat ke tenaga medis sebesar 11,2%. Hal tersebut dikarenakan waktu tunggu berobat yang lama (80,2%), masyarakat lebih suka melakukan pengobatan sendiri (79,3%), dan tidak adanya biaya untuk berobat (76,7%). Selain itu biaya pengobatan atau perawatan gigi di Indonesia terbilang cukup besar (Kemenkes RI, 2024).

Karies gigi terjadi akibat fermentasi dari sukrosa pada saliva oleh suatu bakteri tertentu, sehingga membentuk suasana asam dan pH pada plak menurun hingga pH 5 dan terjadi secara berulang yang menyebabkan adanya proses demineralisasi (Mariati, 2015). Bakteri utama yang menyebabkan terjadinya karies gigi ialah *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Actinomyces viscosus* (Babu *et al.*, 2016) dan bakteri yang dominan dalam proses terjadinya karies gigi ialah *S.mutans* (Astuti, 2020). Pada aktivitas karies rendah jumlah koloni *S.mutans* (*colony-forming units*/CFUs) ialah kurang dari

100.000/ml, sedangkan pada aktivitas karies tinggi lebih dari 10^6 /ml (Samaranayake, 2018).

Perawatan dalam karies gigi berupa perlakuan penambalan pada gigi yang berlubang dan pemberian antibiotik seperti amoxicillin, eritomicin, klindamisin, tertasiklin, dan ciprofloksasin. Namun, pemberian antibiotik secara rasional saat ini belum terimplementasi secara menyeluruh. Hal tersebut dikarenakan budaya *self-medication* di masyarakat Indonesia yang masih banyak terjadi, sehingga hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya resistensi.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Khasanah *et al* (2019) mengenai sensitifitas antibiotik terhadap bakteri gram positif pada plak gigi menunjukkan bahwa terdapat resistensi antibiotik amoksisilin dan tetrasiklin sebesar 100%, antibiotik klindamisin 91% resisten dan 8,3% sensitif. Antibiotik eritromisin 83,3% resisten, sebagian 8,3% intermediet, dan sebagian lainnya 8,3% sensitif. Sedangkan untuk antibiotik ciprofloksasin 66,6% resisten dan 33,3% sensitif (Khasanah *et al.*, 2019).

Dengan demikian, perlu adanya pengembangan obat baru dalam menangani karies gigi dan dapat dimulai dari penggunaan bahan alam, salah

satunya ialah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mengandung fenol, flavonoid, dan tanin sebagai antibakteri (Das and Goswami, 2019). Selain itu pemanfaatan daun jambu biji lainnya ialah dalam mengatasi diare (Lu *et al.*, 2020), menghambat pertumbuhan bakteri *S.sanguis* (Darsono, 2020), dan sebagai antiinflamasi (Kim *et al.*, 2015).

Pengambilan zat aktif yang terkandung didalam daun jambu biji dilakukan dengan ekstraksi dan fraksinasi. Ekstraksi ialah suatu teknik pemisahan zat aktif dari senyawa campurannya menggunakan bantuan pelarut (Aribowo *et al.*, 2021). Metode ekstraksi yang paling sederhana dan biasa digunakan ialah maserasi (Nugroho, 2017). Sedangkan fraksinasi ialah suatu teknik pemisahan zat berdasar kepolaran. Umumnya menggunakan dua pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Pelarut yang biasa digunakan ialah n-heksana dan etil asetat (Aribowo *et al.*, 2021). Fraksinasi sederhana yang dapat dilakukan ialah dengan menggunakan ekstraksi cair-cair. Fraksinasi ini umumnya dilakukan menggunakan labu pemisah. Pada metode ini nantinya akan membentuk dua fase dimana fase bagian atas memiliki massa jenis yang lebih rendah, sedangkan fase bagian bawah memiliki

massa jenis yang lebih tinggi (Nugroho, 2017).

Perbedaan dari ekstrak dan fraksi dapat terlihat dari hasil skrining fitokimia pada kandungan senyawa dan berpengaruh pada diameter zona hambat antibakteri. Dimana ekstrak etanol akan memiliki kandungan senyawa yang lebih banyak daripada fraksi etil asetat, selain itu konsentrasi senyawa dalam fraksi dengan ekstrak juga berbeda. Hal tersebut dikarenakan penggunaan pelarut etanol yang bersifat universal sehingga memungkinkan menarik senyawa polar maupun non polar dan lebih selektif dari air. Berbeda halnya dengan pelarut etil asetat yang bersifat polar, sehingga nantinya senyawa yang terkandung dalam fraksi hanya senyawa yang bersifat polar seperti senyawa fenolik yaitu fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakuinon, xanton, alkaloid, dan flavonoid (Widyasari, 2019). Dengan demikian, perbandingan ekstrak dengan fraksi serta antar konsentrasi dilakukan untuk mengetahui mana yang lebih baik dalam aktivitas antibakteri pada bakteri *Streptococcus mutans*.

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui perbandingan aktivitas antibakteri terbaik antara ekstrak etanol dan fraksi etil asetat serta pada perbedaan konsentrasi pada daun jambu biji

terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

METODE PENELITIAN

Alat

Adapun alat yang digunakan ialah seperangkat alat ekstraksi, seperangkat alat fraksinasi, rotary evaporator (Buchi R-300), oven, cawan petri, tabung reaksi, *cotton swab steril* ukuran S (Onemed), bunsen dan spiritus, autoklaf, inkubator, jangka sorong, *blank disc*, dan alat gelas lainnya yang biasa digunakan di laboratorium.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia kering daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), etanol 96%, etil asetat, N-Heksan, *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Himedia), bakteri *Streptococcus mutans* (ATCC 25175 PK/5), dan cakram antibiotik klindamisin 2mcg.

Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi yang digunakan ialah maserasi dimana 1Kg serbuk daun jambu biji direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 10L. Diaduk sebanyak 3 kali pengadukan dengan interval waktu setiap 2 jam dan dilakukan selama 6 jam. Setelah itu 18 jam didiamkan dalam ruangan gelap dan terhindar dari cahaya matahari langsung. Setelahnya disaring dengan kertas saring

Whatman No. 42 dan corong buchner serta *Erlenmeyer flush*. Setelah pelarut tersaring semua, residu (serbuk) dilakukan perendaman Kembali (remaserasi) dengan 5L etanol 96%. Diberikan perlakuan yang sama seperti maserasi pertama. Selanjutnya semua pelarut yang telah tersaring dijadikan satu dan di uapkan dengan *rotary evaporator* serta *waterbath* dengan suhu 50°C (Handoyo, 2020).

Ekstrak yang didapatkan selanjutnya dilakukan pengamatan organoleptis meliputi warna, bau, dan tekstur. Selain itu juga dilakukan perhitungan rendemen dan kadar airnya.

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{massa ekstrak daun jambu biji}}{\text{massa daun jambu biji total}} \times 100\%$$

Uji Bebas Etanol

Pertama, keringkan ekstrak pada suhu 40°C hingga sisa ekstrak bebas etanol. Terdapat dua cara dalam uji bebas etanol, yaitu dengan menambahkan ekstrak dengan 2 tetes H₂SO₄ pekat dan 1ml K₂Cr₂O₇, jika terjadi perubahan warna dari jingga menjadi kebiruan maka masih mengandung pelarut etanol. Selanjutnya dengan cara menambahkan 1ml CH₃COOH dan 1ml H₂SO₄ pekat, lalu panaskan. Dikatakan bebas pelarut etanol jika tidak bau ester yang tercium (Girsang *et al.*, 2019).

Pembuatan Fraksi

Fraaksinasi dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair, dimana 60g ekstrak dilarutkan kedalam 100ml *aquadest* hangat dan diaduk hingga larut, lalu dimasukkan kedalam corong pisah. Masukkan 100ml N-Heksan kedalam corong pisah dan dikocok sebanyak 10× hingga homogen dengan setiap kali pengocokan tutup bagian atas dibuka, hal tersebut bertujuan untuk mengurangi tekanan yang ada dalam corong pisah agar tidak terjadi ledakan. Selanjutnya didiamkan selama ± 30 menit hingga fase air (bawah) dan fase N-Heksan (atas) terpisah sempurna dan lakukan pengulangan sebanyak 6× atau hingga warna fraksi yang didapat tidak berbeda dengan yang sebelumnya. Lakukan hal yang sama pada pelarut etil asetat. Selanjutnya pekatkan fraksi etil asetat dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan tekanan 112-114psi (Ndako *et al.*, 2023). Fraaksinasi pertama dilakukan dengan menggunakan pelarut n-Heksan yang bertujuan untuk melarutkan senyawa minyak lemak dan asam lemak tinggi, karotenoid, dan minyak atsiri. Sehingga pada saat fraksinasi dengan pelarut etil asetat harapannya hanya mengandung fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakuinon, xanton, flavonoid, dan alkaloid. Dengan demikian hasil diameter zonahambat yang dihasilkan

lenih baik karena tidak ada zat pengotor yang terkandung didalamnya (Widyasari, 2019).

Frakasi etil asetat yang didapatkan selanjutnya dilakukan pengamatan organoleptis dengan mengamati warna, bau, dan tekstur. Selain itu juga dilakukan perhitungan rendemen dan kadar airnya.

Pengujian Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan dengan metode gravimetri, dimana 1g ekstrak ditimbang dalam kurs porselen dan dioven selama 5 jam dengan suhu 105°C dan setelah itu didinginkan selama 15 menit, lalu ditimbang. Dilakukan pengulangan pemanasan selama 1 jam hingga berat konstan. Kadar air ekstrak yang didapat ialah 0,65% dimana telah memenuhi persyaratan tidak lebih dari 10% (Kemenkes RI, 2017).

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{bobot ekstrak akhir}}{\text{bobot ekstrak awal}} \times 100\%$$

Uji Bebas Pelarut Organik

Untuk membuktikan apakah hasil fraksi etil asetat telah murni maka dilakukan uji bebas pelarut organi yaitu dengan cara dalam tabung reaksi fraksi etil asetat kental dimasukkan, lalu ditambahkan asam sulfat encer, panaskan. Fraksi kental dikatakan bebas pelarut organik jika tidak ada bau khas cuka yang tercium (Wulandari, 2021).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia penelitian ini secara kualitatif dengan mereaksikan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dari ekstrak daun jambu biji dengan menggunakan zat pereaksi.

a. Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan dua metode yang bertujuan untuk memvalidasi kandungan senyawa saponin pada ekstrak maupun fraksi. Pertama 0,5g ekstrak dan/atau fraksi dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 10ml aquadest, kemudian dikocok dan tambahkan 1 tetes HCl 2N. Akan erbentuk busa stabil. Selanjutnya dilakukan pengujian 0,5g ekstrak dan/atau fraksi dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 10ml kloroform, panaskan selama 5 menit dalam penangas air sambil di kocok. Tambahkan pereaksi Lieberman-Burchard. Terbentuk cincin coklat atau violet. Menghasilkan warna hijau atau biru. (Rizkita et al., 2021).

b. Fenol

Sejumlah sampel diekstrak dengan 20ml etanol 70%. Ambil 1 ml larutan yang dihasilkan dengan 2 tetes FeCl₃ 5%. Terbentuk warna hijau/hijau biru (Anisa and Najib, 2022)

c. Tanin

Tambahkan 1 ml ekstrak dan/atau fraksi kental dengan 2 ml etanol 70% di aduk, tambahkan 3 tetes FeCl₃.

Perubahan warna hijau atau biru-hijau, biru-hitam, dan ada endapan (Anisa and Najib, 2022).

e. Terpenoid

Tambahkan ekstrak dan/atau fraksi dengan H₂SO₄ pekat. Terjadinya warna jingga atau ungu (Agustina et al., 2017).

f. Flavonoid

Sebanyak 7 ml ekstrak dan/atau fraksi yang telah di didihkan dengan aqua pada 3 tabung reaksi yang berbeda (Anisa and Najib, 2022). Tabung pertama di tambahkan dengan H₂SO₄ pekat 5 ml. Tabung kedua ditambahkan HCl pekat 5ml serta serbuk Mg. Tabung ketiga ditambahkan NaOH 5ml. Timbul warna merah, kuning atau jingga.

g. Glikosida

Ekstrak dan/atau fraksi diuapkan di atas waterbath, larutkan dalam asam asetat anhidrida 20 ml. Tambahkan 20 tetes asam sulfat P. Terbentuk warna biru atau hijau (Rubianti et al., 2022).

h. Alkaloid

Sebanyak 7,5mg ekstrak kental dilarutkan kedalam 1ml HCl 10% dalam tabung reaksi dan vortex hingga homogen, tambahkan pereaksi dragendorff 20 tetes. Terbentuk endapan jingga atau merah bata (Indraswara et al., n.d.).

Uji Aktivitas Antibakteri

Setelah ekstrak dan fraksi dari daun jambu biji didapatkan, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri, dengan cara:

a. Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan di rendam bayclin terlebih dahulu, lalu dicuci hingga bersih dan dikeringkan. Setelah itu dibungkus dengan plastic wrap atau kertas coklat dan di autoklaf 15 menit suhu 121oC (Tampedje et al., 2016).

b. Pembuatan Media dan Peremajaan Bakteri

Mueller Hinton Agar (MHA) sebanyak 9,5g di larutkan dalam 250ml aqua di beaker glass dan panaskan hingga homogen dan tuang dalam 5 tabung reaksi dan 10 cawan petri, sterilkan dengan autoklaf 15 menit suhu 121oC. Selanjutnya tunggu hingga memadat untuk tabung reaksi dalam posisi miring, untuk media pengujian antibakteri dimasukkan kedalam kulkas terlebih dahulu dikarenakan belum digunakan (Kherid et al., 2020). Selanjutnya dilakukan peremajaan bakteri dengan mengambil koloni murni bakteri dan digoreskan pada media agar miring dengan cotton swab steril. Lakukan secara aseptis di bawah LAF, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37oC (Kherid et al., 2020).

c. Identifikasi Bakteri

Ambil bakteri yang telah dibiakan dengan cotton swab steril, letakkan pada objek glass dengan metode aseptis. Tambahkan kristal violet sebanyak 2-3 tetes sampai noda tertutupi, diamkan 2 menit, cuci dengan air mengalir, tambahkan yodium dengan cara ditetesi dan diamkan 30 detik. Selanjutnya bersihkan dengan air, tetesi kembali dengan etanol dan diamkan 30 detik, lalu bersihkan kembali dengan air. Tetesi dengan safranin 2-3 tetes dan diamkan 2 menit, bersihkan kembali dengan air dan keringkan (jangan di lap). Amati dimikroskop dengan perbesaran lensa 100x. *Streptococcus mutans* berbentuk kokkus atau bulat yang membentuk rantai (*streptokokkus*) dan termasuk bakteri gram positif (Prihanto et al., 2018).

Selanjutnya bakteri diuji katalase untuk membuktikan apakah bakteri tersebut merupakan *Streptococcus mutans*. Uji katalase dilakukan dengan meneteskan H₂O₂ 3% pada object glass yang telah dioleskan oleh biakan bakteri. Jika tidak terbentuk gelembung udara maka hasilnya negatif yang menandakan bakteri tersebut merupakan *Streptococcus* sp (Suardana et al., 2021).

d. Pembuatan Larutan Uji dan Kelompok Kontrol

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat ekstrak daun jambu biji yang digunakan

ialah masing-masing konsentrasi 30%, 60%, dan 100%. Pada pembuatan konsentrasi uji 30%, 60%, dan 100% dibuat dengan menimbang ekstrak/fraksi masing-masing sebanyak 0,15g, 0,3g, dan 0,5g lalu dilarutkan dengan masing-masing pelarut ekstra dan fraksi 0,5ml dan direplikasi sebanyak 3 kali. Kontrol negatif dalam penelitian ini menggunakan masing-masing pelarut dari ekstrak (etanol 96%) dan fraksi (etil asetat). Kontrol positif menggunakan cakram klindamisin 2mcg.

e. Pembuatan Suspensi *S.mutans*

Pembuatan standar McFarland dibuat dengan memipet 0,5ml BaCl_2 1% kedalam tabung reaksi, lalu dicampurkan dengan 9,95ml H_2SO_4 1%. Setelah itu larutan di vortex hingga homogen. Ambil 1ml standar McFarland dan lakukan spektro untuk melihat nilai absorbansi. Jika nilai absorbansi terlalu besar ditambahkan dengan H_2SO_4 1% dan jika nilai absorbansi terlalu kecil ditambahkan dengan BaCl_2 1% (Rosmania and Yanti, 2020). Selanjutnya dibuat suspensi bakteri dengan memasukkan NaCl 0,9% sebanyak 10ml ke tabung reaksi, hasil biakan bakteri pada media agar miring MHA diinokulasi dalam tabung reaksi secara aseptis dan divorteks hingga homogen. Ambil 1ml suspensi bakteri dan bandingkan dengan standar McFarland secara visual. Lakukan pengecekan nilai

absorbansi, jika terlalu besar ditambahkan dengan NaCl 0,9% dan jika nilai absorbansi terlalu kecil ditambahkan dengan suspensi bakteri. Setelah itu, ukur kembali absorbansi standar dan suspensi bakteri dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 625nm hingga setara dengan McFarland 0,5 di rentang 0,08-0,13 (3×10^8 CFU/ml). Jika suspensi telah memenuhi rentang, maka bisa digunakan untuk pengujian antibakteri (Kherid et al., 2020).

f. Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diujikan menggunakan difusi cakram yang telah diberi label dan/atau tanda. Bakteri dipindahkan ke media dengan digoreskan pada media agar yang telah memadat. Rendam kertas cakram ekstrak, fraksi etil asetat dan kontrol negatif etanol 96% serta etil asetat masing-masing dalam volume 500 μl selama 5 menit agar jenuh (Fatmalia and Safira, 2022). Selanjutnya letakkan di atas media dan tandai. Untuk kontrol positif cakram antibiotik klindamisin diletakkan pada media agar. Sedangkan kontrol negatif rendam kertas cakram pada masing-masing pelarut ekstrak dan fraksi selama 15 menit. Letakkan cakram pada media dan tandai. Selanjutnya inkubasi suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ 1x24 jam. Selanjutnya, ukur diameter zona hambat (mm) yang diperoleh, dilakukan replikasi 3x (Tampedje et al., 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi ialah suatu teknik pemisahan zat aktif dari senyawa campurannya menggunakan bantuan pelarut (Aribowo *et al.*, 2021). Ekstraksi yang mudah, murah, dan biasa digunakan ialah dengan metode maserasi. Proses maserasi yang dilakukan pengulangan maserasi dengan perendaman kembali serbuk dengan setengah pelarut dari jumlah pelarut awal disebut juga dengan remaserasi. Remaserasi bertujuan untuk menarik sejumlah komponen yang tertinggal dalam maserasi pertama agar hasil rendemen maupun senyawa yang didapatkan harapannya lebih besar daripada hanya maserasi saja (Atun, 2014). Hasil ekstrak yang didapat pada penelitian ini berupa ekstrak kental berwarna coklat tua, berbau khas dan bobot ekstrak kental yang didapat sebesar 157,615g dengan persen rendemen 15,761%. Dimana rendemen tersebut telah memenuhi persyaratan tidak kurang dari 12,3% (Kemenkes RI, 2017).

Uji Bebas Etanol

Ekstrak yang telah didapatkan dilakukan pengujian bebas etanol. Hasilnya ekstrak yang direaksikan dengan H_2SO_4 pekat dan $K_2Cr_2O_7$ tidak berubah biru, maka ekstrak tidak mengandung etanol. Selain itu, hasil dari ekstrak yang direaksikan dengan

CH_3COOH dan H_2SO_4 pekat tidak tercium bau ester dan ekstrak dapat dikatakan tidak mengandung etanol.

Pembuatan Fraksi

Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut *aquadest* dengan N-Heksan dan *aquadest* dengan etil asetat. Pelarut yang digunakan merupakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Hal tersebut agar setiap pelarut mengandung senyawa yang lebih selektif sesuai dengan kepolarannya. Menurut Widyasarai (2019) pelarut etil asetat dapat melarutkan senyawa fenolik seperti fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakuinon, xanton, flavonoid, dan alkaloid. Pelarut lainnya yang dapat digunakan dalam fraksinasi ialah n-Heksana yang dapat melarutkan senyawa minyak lemak dan asam lemak tinggi, karotenoid, triterpenoid, steroid, dan minyak atsiri (Widyasari, 2019). Fraksi yang didapat berupa fraksi kental berwarna hijau tua dan bau khas dan bobot sebesar 12,101g dengan persen rendemen 19,03% yang telah memenuhi persyaratan tidak kurang dari 12,3%.

Uji Bebas Pelarut Organik

Fraksi yang telah didapat dilakukan pengujian bebas pelarut organik. Tujuan dari pengujian ini sama dengan pengujian bebas etanol yaitu untuk memastikan bahwa fraksi kental yang didapat tidak

mengandung etil asetat. Hasilnya fraksi tidak tercium bau cuka.

Pengujian Kadar Air

Ekstrak dan fraksi yang telah didapatkan dilakukan pengujian kadar air. Hal tersebut dikarenakan jika masih banyak mengandung air maka akan mudah ditumbuhi oleh jamur. Hasil dari kadar air ekstrak sebesar 0,65% sedangkan fraksi sebesar 0,32%. Kadar air yang didapatkan telah memenuhi

persyaratan kadar air <10% (Kemenkes RI, 2017).

Skrining Fitokimia

Masing-masing dari ekstrak dan fraksi dilakukan skrining untuk mengetahui kandungan senyawanya (Putri *and* Lubis, 2022). Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan mereaksikan sample dengan menggunakan bantuan reagen. Hasil dari skrining fitokimia pada ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Fitokimia ekstrak dan fraksi

Golongan Senyawa	Metode	Ekstrak	Fraksi
Saponin	1. Uji Busa (Pengocokan) 2. Uji Warna (Liebreman)	1. + (busa stabil) 2. + (cincin merah)	1. + (busa stabil) 2. + (cincin merah)
Fenol	FeCl ₃	+ (cairan hijau)	+ (cairan hijau)
Tanin	FeCl ₃	+ (cairan hijau endapan hitam)	+ (cairan hijau endapan hitam)
Terpenoid	Uji warna (H ₂ SO ₄ P)	+ (jingga)	+ (jingga)
Flavonoid	1. H ₂ SO ₄ P 2. Serbuk Mg + HCl P 3. NaOH	1. + (merah jingga) 2. + (jingga) 3. + (kuning)	1. + (merah jingga) 2. + (jingga) 3. + (kuning)
Glikosida	Lieberman	+ (hijau)	+ (hijau)
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	+ (endapan merah jingga)	- (endapan hitam)

Pada ekstrak mengandung golongan senyawa saponin, fenol, tanin, terpenoid, flavonoid, glikosida, dan alkaloid. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Risman Tunny *et.al* (2023), dimana ekstrak daun jambu biji

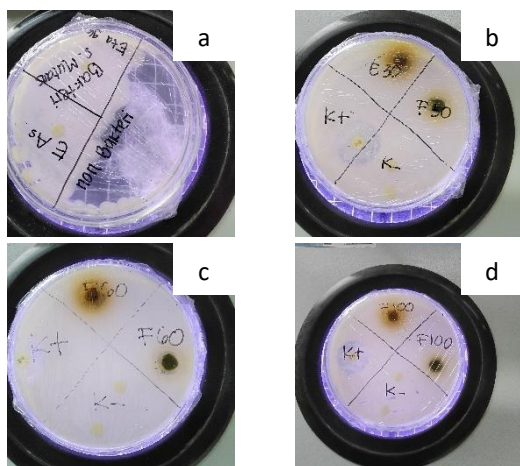
mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Risman Tunny *et al.*, 2023).

Pada fraksi etil asetat daun jambu biji hasil skrining fitokimia mengandung saponin, fenol, tanin, terpenoid, flavonoid, dan glikosida. Hasil tersebut

sejalan dengan penelitian yang dilakukan Pramita (2023) dimana fraksti etil asetat daun jambu biji mengandung Flavonoid, Fenol, dan tanin (Pramita, 2023), selain itu penelitian yang dilakukan oleh Hidayat (2020) dimana fraksi etil asetat daun jambu biji mengandung flavonid, tanin/polifenol, dan terpenoid (Hidayat, 2020).

Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil diameter zona hambat ekstrak 30% memiliki daya antibakteri yang lebih kuat daripada fraksi, dimana diameter zona hambat ekstrak konsentrasi 30% ialah $11.61 \pm 0.35\text{mm}$ dan diameter zona hambat fraksi $9.23 \pm 0.48\text{mm}$.



Keterangan:

- a: Perbandingan daerah yang ditumbuhi bakteri dan tidak.
- b: Perbandingan ekstrak dan fraksi konsentrasi 30%.
- c: Perbandingan ekstrak dan fraksi konsentrasi 60%.
- d: Perbandingan ekstrak dan fraksi konsentrasi 100%.

Pada konsentrasi yang berbeda seperti 60% dan 100% memiliki kategori

kuat, namun diameter ekstrak lebih besar daripada diameter fraksi. Pada konsentrasi 60% diameter ekstrak ialah $12.33 \pm 0.16\text{mm}$ sedangkan diameter fraksi ialah $10.67 \pm 0.53\text{mm}$. *Konsentrasi* 100% diameter ekstrak $13.31 \pm 0.64\text{mm}$ sedangkan fraksi $10.97 \pm 0.06\text{mm}$.

Perbedaan diameter zona hambat antara ekstrak etanol 96% dengan fraksi etil asetat dapat terjadi karena mengandung golongan senyawa yang berbeda. Ekstrak mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri. Sedangkan fraksi mengandung flavonoid, tanin, dan terpenoid serta tidak mengandung alkaloid. Aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat daun jambu biji dapat terjadi karena senyawa yang terkandung didalamnya. Dimana pada masing-masing senyawa golongan memiliki peran antibakteri dengan mekanisme yang berbeda. Seperti flavonoid merusak protein pada bakteri sehingga proses metabolisme bakteri terganggu dan menyebabkan kematian sel bakteri. Selain itu flavonoid juga dapat merusak membran sel bakteri. Pada senyawa tanin aktivitas antibakteri yang dimiliki bekerja dengan mengerutkan dinding sel sehingga permeabilitas sel bakteri terganggu. Aktivitas antibakteri pada saponin bekerja dengan

menurunkan tegangan permukaan pada dinding sel sehingga terjadi kebocoran pada dinding sel dan berakibat pada keluarnya senyawa intraseluler (Hidayatullah *and* Mourisa, 2023). Pada alkaloid bekerja dengan merusak metabolisme sel, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat dan menyebabkan

kematian pada sel (Tilarso *et al.*, 2021). Serta pada terpenoid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu proses pembentukan dinding sel, sehingga dinding sel akan kekurangan nutrisi dan menyebabkan kematian pada bakteri (Hidayatullah *and* Mourisa, 2023).

Tabel 2. Zona hambat ekstrak, fraksi, dan kontrol

Perlakuan	Konsentrasi	Rata-Rata Zona Hambat \pm SD	Respon Hambat Pertumbuhan
Ekstrak	30%	11.61 ± 0.35	Kuat
	60%	12.33 ± 0.16	Kuat
	100%	13.31 ± 0.64	Kuat
Fraksi	30%	9.23 ± 0.48	Sedang
	60%	10.67 ± 0.53	Kuat
	100%	10.97 ± 0.06	Kuat
Kontrol + (Klindamisin)	30%	21.94 ± 0.25	Sangat Kuat
	60%	22.72 ± 0.52	Sangat Kuat
	100%	24.02 ± 0.30	Sangat Kuat
Kontrol - (Etanol 96%)	30%	0.00 ± 0.00	Tidak Ada Daya Hambat
	60%	0.00 ± 0.00	Tidak Ada Daya Hambat
	100%	0.00 ± 0.00	Tidak Ada Daya Hambat
Kontrol - (Etil Asetat)	30%	0.00 ± 0.00	Tidak Ada Daya Hambat
	60%	0.00 ± 0.00	Tidak Ada Daya Hambat
	100%	0.00 ± 0.00	Tidak Ada Daya Hambat

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nofita *et al* (2021) alkaloid pada daun jambu biji menempati urutan kedua setelah flavonoid. Sehingga dapat berpengaruh kepada besaran diameter zona hambat (Nofita *et al.*, 2021). Selain itu, pemilihan jenis pelarut juga dapat mempengaruhi kandungan

senyawa yang terkait seperti halnya dengan prinsip like dissolve like. Tetapan konstanta dielektrik yang tinggi pada pelarut menjadikan pelarut bersifat polar, sedangkan tetapan konstanta dielektrik yang rendah akan menjadikan pelarut tersebut bersifat non polar (Sembiring *et al.*, 2016). Konstanta dielektrik pada

etanol, aquadest, n-heksan, dan etil asetat berturut-turut ialah 24,30 (Luviana *et al.*, 2023): 80,4: 6,02: 1, (Khaerunnisa *et al.*, 2022).

Pelarut pada ekstrak menggunakan etanol yang bersifat polar, sedangkan fraksi menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dan memiliki ikatan hidrogen yang lebih lemah dari etanol (polar), hal tersebut mengakibatkan kemampuan menarik alkaloidnya lebih lemah dari etanol (Putri and Lubis, 2022). Sehingga hal tersebut dapat berpengaruh pada hasil skrining fitokimia dan hasil besaran diameter zona hambat yang diperoleh (Febrianti *et al.*, 2022).

Hasil pengolahan data dengan SPSS menunjukkan bahwa pada perlakuan (ekstrak, fraksi, dan kontrol positif) dan pada perbedaan konsentrasi (30%, 60%, dan 100%) terdapat perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan nilai P value < 0,05 dengan nilai P value 0,000. Pemilihan jenis pelarut pada ekstrak dan fraksi dapat mempengaruhi kandungan senyawa yang terkandung seperti halnya dengan prinsip like dissolve like. Tetap konstanta dielektrik yang tinggi pada pelarut menjadikan pelarut bersifat polar, sedangkan tetap konstanta dielektrik yang rendah akan menjadikan pelarut tersebut bersifat non polar (Sembiring *et al.*, 2016). Konstanta dielektrik pada

etanol, aquadest, n-heksan, dan etil asetat berturut-turut ialah 24,30 (Luviana *et al.*, 2023): 80,4: 6,02: 1, (Khaerunnisa *et al.*, 2022). Pelarut pada ekstrak menggunakan etanol yang bersifat polar, sedangkan fraksi menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dan memiliki ikatan hidrogen yang lebih lemah dari etanol (polar), hal tersebut mengakibatkan kemampuan menarik alkaloidnya lebih lemah dari etanol (Putri and Lubis, 2022). Sehingga hal tersebut dapat berpengaruh pada hasil skrining fitokimia dan hasil besaran diameter zona hambat yang diperoleh (Febrianti *et al.*, 2022). Perbedaan konsentrasi berpengaruh juga pada hasil diameter zona hambat. Antara konsentrasi dan besar zona hambat berbanding lurus, dimana semakin besar konsentrasi maka akan semakin besar pula zona hambat yang terbentuk (Natali *et al.*, 2021). Hal ini didukung dari penelitian sebelumnya tentang pengaruh konsentrasi yang meningkat terhadap diameter zona hambat yang terbentuk, seperti yang dilakukan oleh Niken *et al.* (2022) pada ekstrak daun jambu biji dengan variasi konsentrasi yang berbeda menunjukkan semakin besar konsentrasi, semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Pada penelitian tersebut zona hambat terbaik pada konsentrasi 20% (17mm) (Niken *et al.*, 2022). Penelitian lainnya

dilakukan oleh Nungut (2020) konsentrasi 25% efektif dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *E.coli* (Nungut, 2020).

SIMPULAN

Dengan demikian, terdapat perbedaan yang signifikan dari diameter zona hambat antara ekstrak dan fraksi dengan nilai *P value* 0,000. Serta pada perbandingan konsentrasi ekstrak dan fraksi mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dihasilkan, dimana ekstrak konsentrasi 30% sebesar 11.61 ± 0.35 (kuat); 60% sebesar 12.33 ± 0.16 (kuat); 100% sebesar 13.31 ± 0.64 (kuat). Sedangkan pada fraksi rata-rata zona hambat yang dihasilkan sedikit lebih kecil dengan nilai rata-rata berturut-turut konsentrasi 30% sebesar 9.23 ± 0.48 (sedang); 60% sebesar 10.67 ± 0.53 (sedang); 100% sebesar 10.97 ± 0.06 (kuat). Perbedaan tersebut dibuktikan dengan nilai *P value* 0,000. Berdasarkan hasil diameter zona hambat, ekstrak memiliki hasil diameter zona hambat yang lebih besar daripada fraksi. Maka daun jambu biji memiliki aktivitas antibakteri yang dapat digunakan sebagai pencegahan karies gigi yang disebabkan oleh bakteri *Sterptococcus mutans* dengan zona hambat terbaik ialah ekstrak konsentrasi 100%. Namun perlu adanya penelitian terkait perbandingan nilai

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) antara ekstrak etanol 96% dan juga fraksi etil asetat daun jambu biji untuk mengetahui minimum konsentrasi dan minimum kadar bunuh bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W., Handayani, D., Kimia, P., 2017. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak.
- Anisa, N., Najib, S.Z., 2022. Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Total Fenol Flavonoid Dan Tanin Pada Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). Indonesian Journal Pharmaceutical And Herbal Medicine (IJPHM) 1, 96–104.
- Astuti, Es.Y., 2020. Etiologi, Dampak Dan Manajemen Early Childhood Caries (ECC). InterdentJKG 16, 57–60.
- Atun, S., 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur 8, 53–61.
- Babu, A., Malathi, L., Karthick, R., Sankari, S., 2016. Immunology of Dental Caries. Biomed. Pharmacol. J. 9, 823–826.
- Darsono, O., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun

- Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Bakteri Penyebab Karies Gigi *Streptococcus sanguis*. Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal 5, 61–69.
- Das, M., Goswami, S., 2019. Antifungal and Antibacterial Property of Guava (*Psidium guajava*) Leaf Extract: Role of Phytochemicals. International Journal Of Health Science and Research 9.
- Fatmalia, N., Safira, M., 2022. Lidah buaya (*Aloe vera*), bengkuang dan kombinasi (lidah buaya dan bengkuang terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Jurnal Sains 14, 20–29.
- Febrianti, F., Widyasanti, A., Nurhasanah, S., 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Bakteri Patogen. ALCHEMY J.Pen.Kim 18, 234.
- Handoyo, D.L.Y., 2020. Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*). Jurnal Farmasi Tinctura 2, 34–41.
- Hidayat, C.N., 2020. Formulasi Sediaan Nanopartikel Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dalam Bentuk Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) dan Uji Aktivitasnya terhadap Sel MCF-7 dan T47D Menggunakan Metode MTT Assay. Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Hidayatullah, S.H., Mourisa, C., 2023. Uji Efektivitas Akar Karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Kohesi 7, 34–40.
- Indraswara, H., Aisyah, N.N., Umami, M., n.d. Identifikasi Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L. Var. *Pyrifera*) di Kabupaten Bandung.
- Kemenkes RI, 2024. Laporan Tematik Survey Kesehatan Indonesia 2023, Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan. Kementerian Kesehatan RI, JAKARTA.
- Kemenkes RI, 2017. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Kemenkes RI. <https://doi.org/10.2307/jj.2430657.12>
- Khaerunnisa, N., Saraswati, I., Sasikirana, W., 2022. Kandungan Total Fenolik Ekstrak Metanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) dan Fraksi-fraksinya. GJRP 2, 86–92. <https://doi.org/10.14710/genres.v2i2.15716>
- Khasanah, H.R., Muslim, Z.M., Wekriana, P.W., 2019. Uji Sensitivitas Bakteri Gram Positif Pada Plak Gigi

- Terhadap Antibiotika. *avicenna* 14, 36–41.
- Luviana, A., Putri, A., Alatif, I.A., Nurulgina, R., Permatasari, R.P., Sihombing, R.P., Paramitha, T., 2023. Pengaruh Pelarut dan Daya Microwave terhadap Hasil Ekstrak Daun Pepaya dengan Metode Microwave Assisted Extraction. *IRWNS* 14, 213–217.
- Mariati, N.W., 2015. Pencegahan Dan Perawatan Karies Rampan. *Jurnal Biomedik (Jbm)* 7.
- Natali, O., Tarigan, A.I., Sarumpaet, E., Salim, S., Dewani, Y., Hanida, W., Yensuari, Y., 2021. Uji efektifitas antibakteri ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. *JPMS* 3, 29–33.
- Ndako, J.A., Oludipe, E.O., Dojumo, V.T., Fajobi, V.O., Echemita, R.F., Ndako, P.J., Junaid, S.A., Omole, A.O., 2023. Optimizing Antibacterial Activity of *Psidium guajava* Extracts using Solvent Fractionation method and its Efficacy against Foodborne Pathogens, in: 2023 International Conference on Science, Engineering and Business for Sustainable Development Goals (SEB-SDG). Presented at the 2023 International Conference on Science, Engineering and Business for Sustainable Development Goals (SEB-SDG), IEEE, Omu-Aran, Nigeria, pp. 1–9.
- Niken, N., Yusuf, R.N., Annita, A., 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Bioscientist j. ilm. bosbiol.* 10, 726. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i2.5919>
- Nofita, N., Maria Ulfa, A., Delima, M., 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *jfl* 9, 10–17.
- NUNGGUT, Y., 2020. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* (Diploma). Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika, Jombang.
- Pramita, G.A., 2023. Pengaruh Konsentrasi Metanol Terhadap Akktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH dari Fraksi Ekstrak Daun Jambu Biji Putih. Universitas Jenderal Achmad Yani.
- Putri, D.M., Lubis, S.S., 2022. SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN KALAYU (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina* 2, 120–125.

- Risman Tunny, Epi Dusra, Annisatul Khoiriyah Kaplale, Jayanti Djarami, Maritje.S.J. Malisngorar, 2023. Analisis Perbandingan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus* Dengan Menggunakan Metode Sumuran. *Calory Journal* 1, 39–47. <https://doi.org/10.57213/caloryjournal.v1i4.48>
- Rizkita, A.D., Dewi, S.A., Wibowo, E.A.P., Maulana, I., 2021. Isolasi dan Identifikasi Saponin dari Ekstrak *Leunca* (*Solanum nigrum* L) Secara Spektrofotometri Infra Merah. *JIS* 21, 166.
- Rosmania, Yanti, F., 2020. Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains* 22, 76–86.
- Rubianti, I., Azmin, N., Nasir, M., 2022. Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun *Golka* (*Ageratum conyzoides*) Sebagai Tumbuhan Obat Tradisional Masyarakat Bima. *JUSTER* 1, 7–12.
- Samaranayake, L., 2018. *Essential Microbiology For Dentistry*, 5th Edition. ed. Elsevier Health Sciences, London.
- Sembiring, E., Sangi, M.S., Suryanto, E., 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Dari Biji Jagung (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress* 9, 14–20.
- Suardana, I.W., Dinarini, N.M.A.A., Sukrama, I.D.M., 2021. Identifikasi Spesies *Streptokokus* β -Hemolisis Hasil Isolasi dari Nasal dan Tonsil Babi dengan Uji Basitrasin. *Buletin Veteriner Udayana* 47, 27.
- Widyasari, E., 2019. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Dan Fraksi - Fraksi Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. Universitas Setia Budi.