

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik daun, simplisia, dan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

a. Karakteristik daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Lampiran 6. Daun yang digunakan dipetik langsung dari tanaman dengan berat total 2 kg. Daun yang dipilih adalah daun yang tumbuh pada bagian pucuk hingga tangkai ketiga, serta tidak mengalami kerusakan seperti berlubang atau bercak. Daun tersebut diperoleh dari perkebunan milik warga di Desa Tiyingtali, Kecamatan Abang, Kabupaten Karangasem. Secara geografis, desa ini terletak pada ketinggian sekitar 250 meter di atas permukaan laut dengan suhu rata-rata sekitar 23°C. Wilayah ini termasuk dataran tinggi dengan karakteristik agraris, sehingga mendukung aktivitas pertanian masyarakat setempat.

b. Karakteristik serbuk simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Serbuk simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Lampiran 6. Daun yang telah dipilih dikeringkan di tempat teduh selama satu minggu hingga kadar airnya berkurang. Setelah proses pengeringan, daun dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia. Dari 2 kg daun segar, diperoleh 487 g serbuk simplisia berwarna hijau kecoklatan dengan tekstur halus.

c. Karakteristik ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Lampiran 6. Sebanyak 200 gram serbuk simplisia daun jambu biji diekstraksi menggunakan 1.500 ml etanol 96% dengan metode maserasi. Hasil maserasi kemudian dievaporasi hingga diperoleh ekstrak pekat sebanyak 35,75 g. Ekstrak yang dihasilkan berwarna coklat gelap kehijauan dan memiliki tekstur kental.

2. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada metode difusi cakram

a. Hasil uji aktivitas antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji konsentrasi 25% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram dengan lima variasi volume (12,5 µl, 25 µl, 50 µl, 75 µl, 100 µl) disajikan pada Lampiran 7. Terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram pada media *Mueller Hinton Agar*.

b. Hasil pengukuran diameter zona hambat

Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram disajikan pada Tabel 3 sebagai berikut.

Tabel 3
Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Metode Difusi Cakram

Perlakuan	Volume (μl)	Diameter Zona Hambat (mm)			
		I	II	III	Rerata±SD
Ekstrak daun jambu biji konsentrasi 25%	12,5	11,86	11,80	11,72	11,79±0,07
	25	12,66	12,70	12,62	12,66±0,04
	50	13,16	13,16	13,14	13,15±0,01
	75	13,14	13,22	13,18	13,18±0,04
	100	13,20	13,18	13,26	13,21±0,04
Kontrol positif (antibiotik Gentamicin 10 μg/μl)	12,5	20,14	20,22	20,28	20,21±0,07
	25	20,24	20,20	20,20	20,21±0,02
	50	20,20	20,30	20,28	20,26±0,05
	75	20,30	20,30	20,28	20,29±0,01
	100	20,60	20,58	20,60	20,59±0,01
Kontrol negatif (etanol 96%)	12,5	0	0	0	0±0,00
	25	0	0	0	0±0,00
	50	0	0	0	0±0,00
	75	0	0	0	0±0,00
	100	0	0	0	0±0,00

Berdasarkan Tabel 3 diatas, volume ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 25% sebesar 12,5 μl menghasilkan diameter zona hambat terkecil dengan rerata 11,79 mm, sedangkan volume ekstrak 100 μl menghasilkan diameter zona hambat terbesar dengan rerata 13,21 mm.

3. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada metode difusi sumuran

a. Hasil uji aktivitas antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji konsentrasi 25% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumuran dengan lima variasi volume (12,5 μl, 25 μl, 50 μl, 75 μl, 100 μl) disajikan pada Lampiran 7. Terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar sumuran pada media *Mueller Hinton Agar*.

b. Hasil pengukuran diameter zona hambat

Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun jambu biji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumuran disajikan pada Tabel 4 sebagai berikut.

Tabel 4
Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Metode Difusi Sumuran

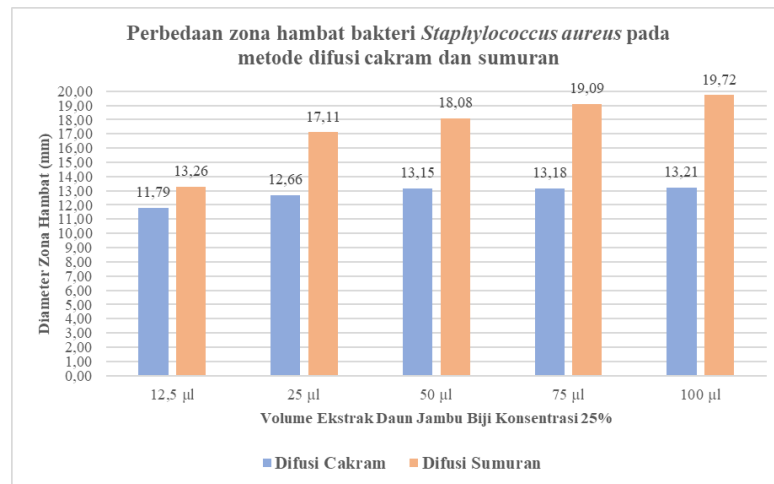
Perlakuan	Volume (µl)	Diameter Zona Hambat (mm)			
		I	II	III	Rerata±SD
Ekstrak daun jambu biji konsentrasi 25%	12,5	13,18	13,34	13,26	13,26±0,08
	25	17,16	17,06	17,10	17,11±0,05
	50	18,04	18,08	18,12	18,08±0,04
	75	19,08	19,02	19,16	19,09±0,07
	100	19,64	19,80	19,72	19,72±0,08
Kontrol positif (antibiotik <i>Gentamicin</i> 10 µg/µl)	12,5	22,30	22,24	22,28	22,27±0,03
	25	22,36	22,28	22,30	22,31±0,04
	50	22,40	22,50	22,30	22,40±0,10
	75	22,38	22,40	22,44	22,41±0,03
	100	22,56	22,54	22,52	22,54±0,02
Kontrol negatif (etanol 96%)	12,5	0	0	0	0±0,00
	25	0	0	0	0±0,00
	50	0	0	0	0±0,00
	75	0	0	0	0±0,00
	100	0	0	0	0±0,00

Berdasarkan Tabel 4 diatas, volume ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 25% sebesar 12,5 µl menghasilkan diameter zona hambat terkecil dengan rerata 13,26 mm, sedangkan volume ekstrak 100 µl menghasilkan diameter zona hambat terbesar dengan rerata 19,72 mm.

4. Perbedaan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada metode difusi cakram dan sumuran

a. Deskriptif

Hasil perbedaan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada metode difusi cakram dan sumuran disajikan pada Gambar 11 sebagai berikut.



Gambar 6 Perbedaan Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Metode Difusi Cakram Dan Sumuran

Berdasarkan Gambar 6 diatas, diperoleh hasil bahwa metode difusi sumuran menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan metode difusi cakram, dengan selisih rerata diameter zona hambat berkisar antara 1,47 mm - 6,51 mm.

b. Analisis data

1) Uji normalitas data

Hasil uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk Test* disajikan pada Tabel 5 sebagai berikut.

Tabel 5
Hasil Uji Normalitas Data Menggunakan *Shapiro-Wilk Test*

Zona	Hambat	Metode	Difusi	Shapiro-Wilk		
				Statistic	df	Sig.
Cakram	dan	Sumuran		,805	30	,000

Berdasarkan Tabel 5 diatas, diperoleh nilai $\text{sig} < 0,05$ untuk zona hambat metode difusi cakram dan sumuran, yang menunjukkan bahwa data berdistribusi tidak normal.

2) Uji non-parametrik data

Hasil uji non-parametrik perbandingan metode difusi cakram dan sumuran menggunakan *Kruskal-Wallis Test* disajikan pada Tabel 6 sebagai berikut.

Tabel 6
Hasil Uji Non-Parametrik Perbandingan Metode Difusi Cakram Dan Sumuran Menggunakan *Kruskal-Wallis Test*

Zona	Hambat	Metode	Difusi	Kruskal-Wallis		
				Chi-Square	df	Sig.
Cakram	dan	Sumuran		20,098	1	,000

Berdasarkan Tabel 6 diatas, diperoleh nilai $\text{sig} < 0,05$ untuk perbandingan metode difusi cakram dan sumuran, yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kedua metode.

B. Pembahasan

1. Karakteristik daun, simplisia, dan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

a. Karakteristik daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang digunakan pada penelitian ini merupakan daun yang dipetik langsung dari perkebunan milik warga di Desa Tiyingtali, Kecamatan Abang, Kabupaten Karangasem. Daun yang dipetik langsung umumnya masih memiliki kadar air yang tinggi. Akibatnya, kandungan senyawa metabolit sekunder belum mengalami degradasi karena penyimpanan atau pengeringan berlebih (Sinaga dkk., 2021). Daun yang digunakan berasal dari bagian pucuk hingga tangkai ketiga karena pada bagian tersebut mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan saponin dalam kadar yang lebih tinggi. Kandungan senyawa aktif yang tinggi tersebut berkontribusi terhadap meningkatnya aktivitas antibakteri (Sabullah dkk., 2023).

b. Karakteristik serbuk simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Serbuk simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang didapatkan pada penelitian ini berwarna hijau kecoklatan. Warna hijau kecoklatan diperoleh karena klorofil dalam daun mengalami oksidasi yang dibantu oleh enzim seperti lipoksigenase, peroksidase, dan oksidase. Perubahan warna juga dipengaruhi oleh kandungan air dalam daun. Semakin lama proses pengeringan berlangsung, semakin lama pula air tersimpan di dalam simplisia. Hal ini dapat meningkatkan risiko kerusakan klorofil dan feofitin (Sinaga dkk., 2021). Serbuk simplisia yang didapatkan pada penelitian ini memiliki tekstur halus. Tekstur yang halus bertujuan untuk memperluas permukaan bahan, sehingga pelarut dapat mengekstraksi

senyawa aktif lebih optimal (Rahman dkk., 2022). Daun yang dihaluskan terbukti menghasilkan kadar senyawa aktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun yang tidak dihaluskan (Mardalena, 2023).

Pada penelitian ini, proses pengeringan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dilakukan di tempat teduh selama satu minggu hingga kadar airnya berkurang. Pengeringan di bawah paparan sinar matahari langsung dapat merusak senyawa aktif yang terkandung dalam daun jambu biji (Rahman dkk., 2022). Suhu pengeringan yang terlalu tinggi juga berisiko merusak struktur senyawa flavonoid karena senyawa ini memiliki gugus aromatik terkonjugasi yang sensitif terhadap panas berlebih (Tari dkk., 2022).

c. Karakteristik ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang didapatkan pada penelitian ini berwarna coklat gelap kehijauan. Hal ini disebabkan oleh penggunaan etanol sebagai larutan pengekstraknya (Haryadi dan Hidayati, 2018). Stabilitas warna tersebut juga dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor, seperti lama penyimpanan, suhu, pencahayaan, pH, dan paparan udara (Panca dkk., 2025). Ekstrak tersebut diketahui mengandung berbagai senyawa aktif, antara lain tanin, polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid (Sinaga dkk., 2021). Ekstrak yang didapatkan pada penelitian ini memiliki tekstur kental yang diperoleh dari proses evaporasi. Proses ini akan menyebabkan pelarut pada filtrat mengalami penguapan (Niken dkk., 2022).

Pada penelitian ini, proses ekstraksi daun jambu biji menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih karena mampu menghasilkan ekstrak secara optimal tanpa merusak senyawa aktif yang terkandung di dalam daun (Aprilyanie dkk.,

2023). Selain itu, metode ini menggunakan peralatan yang sederhana. Metode ini juga sesuai untuk mengekstraksi senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Akibatnya, senyawa yang diinginkan tetap stabil selama proses ekstraksi (Rahman dkk., 2022). Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi adalah etanol 96%. Etanol 96% dikenal memiliki sifat selektif, tidak toksik, memiliki daya serap yang baik, serta mampu mengekstraksi senyawa non-polar, semi-polar, dan polar secara efisien (Panca dkk., 2025). Pelarut ini dinilai lebih efektif dalam melarutkan senyawa aktif karena menghasilkan kadar senyawa yang lebih tinggi dibandingkan etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah (Niken dkk., 2022; Mardalena, 2023). Proses evaporasi pada penelitian ini dilakukan pada suhu yang rendah, sekitar 40 – 60°C, guna menjaga stabilitas senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak (Angraini dkk., 2023).

2. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada metode difusi cakram

Pada metode difusi cakram, diameter zona hambat terkecil diperoleh pada volume ekstrak 12,5 µl dengan rerata 11,79 mm, sedangkan diameter zona hambat terbesar diperoleh pada volume 100 µl dengan rerata 13,21 mm. Hal ini disebabkan oleh perbedaan jumlah kandungan senyawa aktif pada masing-masing volume. Semakin banyak volume ekstrak yang digunakan, semakin banyak jumlah kandungan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Akibatnya, kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri meningkat dan menghasilkan zona hambat yang lebih besar (Febrianti dkk., 2019).

Prinsip metode ini adalah mengukur aktivitas antibakteri berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekitar cakram (Putri dkk., 2023). Dalam penelitian ini, kertas cakram direndam dalam variasi volume ekstrak daun jambu biji dengan

konsentrasi 25% selama 2 jam. Perendaman ini bertujuan agar ekstrak dapat terserap secara merata ke dalam kertas cakram (Febrianti dkk., 2019). Selanjutnya, cakram diletakkan di atas media *Mueller Hinton Agar* yang telah diinokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* (Putri dkk., 2023). Media *Mueller Hinton Agar* dipilih karena tidak bersifat selektif maupun diferensial. Hal ini memungkinkan pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Selain itu, struktur media ini mendukung penyebaran senyawa antibakteri secara merata, sehingga zona bening dapat terlihat dengan jelas. Media ini juga tidak mengandung zat yang dapat mengganggu aktivitas senyawa antibakteri (Fadhilah, 2019). Setelah proses inkubasi terbentuk zona bening di sekitar cakram yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jambu biji. Aktivitas ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun jambu biji mengandung senyawa aktif seperti polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid (Sinaga dkk., 2021). Penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat terjadi karena bakteri ini termasuk dalam kelompok Gram positif (Nabilla dan Advinda, 2022). Dinding sel bakteri Gram positif lebih mudah rusak dibandingkan dengan Gram negatif karena strukturnya yang lebih tipis (Nurhamidin dkk., 2021). Bakteri ini memiliki struktur dinding sel yang terdiri atas sitoplasma, lapisan peptidoglikan yang mengandung lipid dan polisakarida, serta asam teikoat pada bagian terluarnya (Nabilla dan Advinda, 2022).

3. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada metode difusi sumuran

Pada metode difusi sumuran, diameter zona hambat terkecil diperoleh pada volume 12,5 µl dengan rerata 13,26 mm, sedangkan diameter zona hambat terbesar diperoleh pada volume 100 µl dengan rerata 19,72 mm. Hal ini disebabkan oleh

perbedaan jumlah kandungan senyawa aktif pada masing-masing volume. Semakin banyak volume ekstrak yang digunakan, semakin banyak jumlah kandungan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Akibatnya, kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri meningkat dan menghasilkan zona hambat yang lebih besar (Febrianti dkk., 2019).

Prinsip metode ini adalah mengukur aktivitas antibakteri berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumur (Putri dkk., 2023). Dalam penelitian ini, variasi volume ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 25% ditetaskan ke dalam lubang sumur pada media *Mueller Hinton Agar* yang telah diinokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Media *Mueller Hinton Agar* dipilih karena tidak bersifat selektif maupun diferensial. Hal ini memungkinkan pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Selain itu, struktur media ini mendukung penyebaran senyawa antibakteri secara merata, sehingga zona bening dapat terlihat dengan jelas. Media ini juga tidak mengandung zat yang dapat mengganggu aktivitas senyawa antibakteri (Fadhilah, 2019). Setelah proses inkubasi terbentuk zona bening di sekitar lubang sumur yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jambu biji. Aktivitas ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun jambu biji mengandung senyawa aktif seperti polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid (Sinaga dkk., 2021). Penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat terjadi karena bakteri ini termasuk dalam kelompok Gram positif (Nabilla dan Advinda, 2022). Dinding sel bakteri Gram positif lebih mudah rusak dibandingkan dengan Gram negatif karena strukturnya yang lebih tipis (Nurhamidin dkk., 2021). Bakteri ini memiliki struktur dinding sel yang terdiri atas

sitoplasma, lapisan peptidoglikan yang mengandung lipid dan polisakarida, serta asam teikoat pada bagian terluarnya (Nabilla dan Advinda, 2022).

4. Perbedaan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada metode difusi cakram dan sumuran

Pada penelitian ini, diperoleh selisih rerata diameter zona hambat metode difusi cakram dan sumuran yang berkisar antara 1,47 mm - 6,51 mm. Hasil ini selaras dengan hasil uji statistik yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kedua metode. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain:

a. Daya serap cakram dan sumuran

Pada metode difusi cakram, cakram kosong memiliki kapasitas serap sebesar 0,02 ml (20 μ l). Hal ini menyebabkan volume ekstrak lebih dari 20 μ l tidak dapat terserap secara optimal oleh cakram. Keterbatasan cakram dalam menyerap ekstrak mengakibatkan hanya sejumlah kecil senyawa aktif yang dapat berdifusi ke dalam media (Jamaluddin dkk., 2018). Sebaliknya, pada metode difusi sumuran dengan diameter lubang sumur sebesar 6 mm dan ketebalan media 4 mm, volume ekstrak yang dapat ditampung mencapai 0,1 ml (100 μ l). Akibatnya, seluruh variasi volume ekstrak yang digunakan dalam penelitian dapat tertampung sepenuhnya di dalam lubang sumur. Oleh karena itu, senyawa aktif memiliki peluang lebih besar untuk berdifusi ke dalam media.

b. Ketebalan kertas cakram

Cakram yang tebal dapat menghambat proses keluarnya senyawa antibakteri dari dalam cakram ke media agar. Semakin tebal cakram, maka semakin sulit senyawa aktif berdifusi ke media agar. Akibatnya, zona hambat yang terbentuk

menjadi lebih kecil. Hal ini terjadi karena ekstrak harus melewati serat-serat cakram terlebih dahulu sebelum mencapai media agar. Dengan demikian, penghambatan bakteri menjadi kurang optimal (Sari dan Febriawan, 2021).

c. Kecepatan difusi senyawa aktif

Pada metode sumuran, ekstrak diteteskan langsung ke dalam lubang sumur pada media agar. Hal ini menyebabkan senyawa aktif dapat menyebar lebih cepat tanpa hambatan, sehingga lebih cepat mencapai bakteri dan menghambat pertumbuhannya (Putri dkk., 2023). Sebaliknya, pada metode cakram, senyawa aktif harus melewati kertas cakram terlebih dahulu. Akibatnya, proses difusinya menjadi lebih lambat dan kurang efektif (Sari dan Febriawan, 2021).

Pada penelitian ini terdapat beberapa keterbatasan. Salah satunya, tidak menggunakan isolat *Staphylococcus aureus* yang berasal dari pasien penderita diare, melainkan hanya menggunakan kultur standar laboratorium, yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hal ini membuat hasil penelitian kurang mewakili kondisi sebenarnya di lapangan. Penelitian ini juga belum dilengkapi dengan uji skrining fitokimia. Akibatnya, belum diketahui secara spesifik senyawa aktif apa saja yang terkandung dalam ekstrak daun jambu biji yang digunakan serta senyawa mana yang paling berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu, belum dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun jambu biji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.