

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Daun Jambu Biji

Tanaman obat (biofarmaka) merupakan jenis tanaman yang memiliki khasiat khusus yang berguna untuk mengobati atau mencegah berbagai macam penyakit karena mengandung sejumlah senyawa aktif (Sarno, 2019). Senyawa metabolit yang terkandung dalam tanaman obat yang berperan sebagai bahan baku obat-obatan karena memiliki khasiat dapat menyembuhkan penyakit (Gulo dan Nasution, 2022). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman merupakan produk akhir dari proses metabolisme. Metabolit sekunder digunakan oleh tumbuhan sebagai pertahanan diri agar tetap hidup dari kondisi lingkungan yang kurang baik seperti suhu, iklim, hama atau penyakit. Senyawa metabolit sekunder tidak hanya bermanfaat untuk tanaman tetapi juga bermanfaat bagi manusia yaitu dalam bidang farmakologi berupa pengembangan antibiotik, antioksidan, antikanker, antibakteri, antijamur, dan antikoagulan darah (Ningsih dkk., 2023).

Daun jambu biji (*Psidium guajava*) merupakan salah satu tanaman obat karena digunakan masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit (Afifi dan Erlin, 2017). Daun jambu biji termasuk kedalam famili Myrtaceae, genus *Psidium*, spesies *Psidium guajava* (Prastika dkk., 2023). Klasifikasi tanaman daun jambu biji (Mutmainah, 2025), sebagai berikut:

Kerajaan: Plantae  
Divisi: Magnoliophyta  
Kelas: Magnoliopsida  
Bangsa: Myrtales  
Suku: Myrtaceae

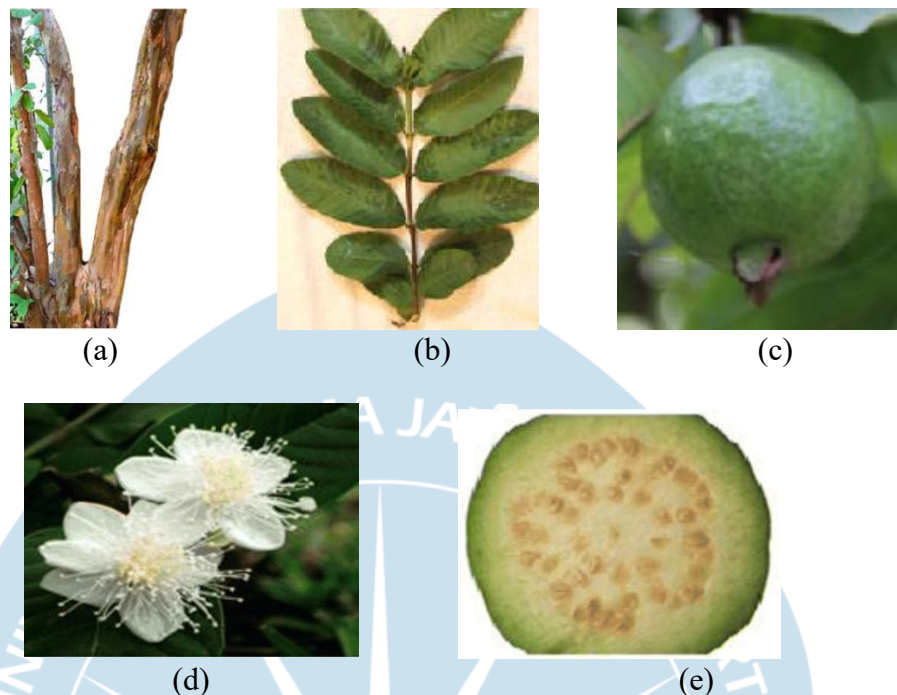
Marga: *Psidium*

Jenis: *Psidium guajava* Linnaeus

Jambu biji merupakan tanaman yang memiliki tinggi sekitar 2-10 m dan memiliki cabang yang banyak, selain itu tanaman jambu biji merupakan tanaman yang dapat berbuah sepanjang tahun atau bukan tanaman musiman sehingga mudah untuk didapatkan. Ciri-ciri tanaman daun jambu biji yaitu memiliki batang yang kuat tidak mudah patah, berkayu keras, padat. Kulit kayu yang terdapat pada batang tanaman jambu biji mudah terlepas dan memiliki tekstur halus. Batang pohon jambu biji memiliki warna cokelat (Muhlisah, 2007).

Daun jambu biji memiliki bentuk bulat telur memanjang, ujung daun tumpul dan lancip. Daun jambu biji memiliki warna hijau muda dan hijau tua dengan permukaan daun halus, serta memiliki panjang sekitar 5-15 cm dan lebar sekitar 3-6 cm. Buah jambu biji memiliki bentuk bulat atau bulat lonjong, memiliki warna hijau tua ketika masih muda atau belum matang dan akan berubah menjadi hijau muda atau hijau kekuningan ketika buah sudah matang. Warna daging buah jambu biji berwarna putih susu dan memiliki banyak biji yang bertekstur sangat kuat (Parimin, 2007).

Bunga tanaman jambu biji memiliki mahkota sebanyak 5, memiliki banyak benang sari, warna tangkai sari yaitu putih, bunga jambu biji tumbuh keluar dari ketiak daun. Biji buah jambu biji berwarna putih, memiliki jumlah yang banyak serta bertekstur kera (Parimin, 2007). Gambar bagian-bagian tanaman jambu biji dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagian Tanaman Jambu Biji (a) Batang (b) Daun (c) Buah (d) Bunga (e) Biji (Sumber: Suhaeni, 2023).

Penggunaan daun jambu biji dalam bidang kesehatan sering digunakan oleh masyarakat karena daun jambu biji dapat mengobati berbagai macam penyakit. Daun jambu biji bermanfaat untuk mengobati penyakit diare, sariawan, luka pada lukit, demam berdarah, dan menurunkan kolesterol (Zulharmita dkk., 2017). Daun jambu biji juga digunakan dalam pengobatan radang usus, disentri, sariawan ambeien, kencing manis, dan anak-anak yang mengalami perut kembung (Nuriyatin dkk., 2020). Cara penggunaan daun jambu biji dalam pengobatan penyakit secara tradisional yaitu dengan direbus, langsung dikunyah, dilumatkan (ditempelkan diluka berdarah pada kulit), dan ditumbuk (Muhlisah, 2007). Daun jambu biji sering digunakan sebagai pengobatan tradisional karena mengandung sejumlah senyawa aktif seperti tanin, terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan minyak atsiri (Handarni dkk., 2020).

## B. Metode Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi

Ekstraksi merupakan proses memisahkan senyawa yang ada pada bahan ke pelarut yang sesuai dan pelarut yang dipilih pada proses ekstraksi didasari dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan larut pada pelarut yang memiliki kepolaran yang sama seperti senyawa polar akan larut pada pelarut polar sedangkan senyawa nonpolar akan larut pada pelarut nonpolar (Yani dkk., 2019). Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi yaitu ukuran bahan, waktu atau lama ekstraksi, suhu, jenis dan jumlah pelarut, serta metode ekstraksi yang digunakan (Maslukhah dkk., 2016). Metode ekstraksi memiliki berbagai jenis metode contohnya yaitu ekstraksi maserasi dan sonikasi (Pebriyanti, 2016).

Ekstraksi secara maserasi dilakukan dengan melarutkan serbuk simplisia tanaman pada pelarut tertentu di sebuah wadah *inert* pada suhu ruang, kemudian akan dilakukan penyaringan untuk memisahkan pelarut dari hasil ekstrak. Kelebihan metode ekstraksi maserasi adalah mudah dilakukan dan lebih sederhana namun kekurangan metode maserasi adalah waktu yang digunakan termasuk lama, pelarut yang digunakan banyak (Yasacaxena dkk, 2023). Prinsip ekstraksi maserasi adalah pelarut akan menembus ke dalam dinding sel tanaman sehingga terjadi perpindahan senyawa aktif ke dalam pelarut. Larutan pelarut dapat menarik senyawa aktif karena terdapat perbedaan konsentrasi. Konsentrasi senyawa aktif di dalam sel lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut, ketika pelarut menembus dinding sel maka senyawa aktif yang

memiliki konsentrasi lebih tinggi akan berdifusi ke pelarut yang memiliki konsentrasi lebih rendah (Wiraningtyas dkk., 2020).

Metode sonikasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik pada frekuensi  $\geq 20$  kHz diatas pendengaran manusia (Aryanti dkk., 2025). Prinsip metode sonikasi yaitu efek gelombang ultrasonik akan mempercepat kontak antara pelarut dan bahan sehingga pelarut dapat berdifusi dengan baik ke dalam dinding sel tanaman sehingga perpindahan senyawa metabolit pada tanaman ke pelarut berjalan dengan optimal. Kelebihan dari metode sonikasi adalah dapat menghasilkan nilai rendemen hasil ekstrak lebih tinggi (Sondari dkk., 2016). Ekstraksi sonikasi juga dapat menghasilkan rendemen ekstrak yang rendah karena getaran yang ditimbulkan oleh gelombang ultrasonik dapat merusak senyawa aktif apabila proses sonikasi terlalu lama sehingga senyawa aktif pada bahan hanya sedikit yang terekstrak dan berpengaruh pada hasil rendemen (Sari, 2020). Menurut penelitian Nofita dkk. (2021), hasil rendemen ekstrak etanol 96% daun jambu biji Australia dari metode ekstraksi sonikasi lebih tinggi dibandingkan ekstraksi maserasi yaitu secara berturut-turut sebesar 30,67% dan 18,67%.

Menurut penelitian Hikmawanti dkk. (2021), hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) metode sonikasi lebih tinggi dari metode maserasi, secara berturut-turut yaitu  $36,29 \pm 3,56\%$  dan  $35,35 \pm 3,09\%$ . Menurut penelitian Diana (2022), hasil rendemen ekstrak daun kenikir (*Cosmoc caudatus* Kunth.) metode sonikasi lebih tinggi dari hasil metode maserasi, secara berturut-turut yaitu  $16,73 \pm 1,36\%$  dan  $13,03 \pm 1,13\%$ .

Menurut penelitian Marwati dkk. (2022), hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) metode maserasi lebih tinggi daripada hasil metode sonikasi, secara berturut-turut yaitu 15,6% dan 3,4%. Hasil rendemen ekstrak metode maserasi lebih tinggi dari metode sonikasi pada penelitian Marwati dkk. (2022) karena pelarut yang digunakan selalu diganti secara berkala sehingga pelarut dapat menarik senyawa aktif lebih maksimal sedangkan saat proses sonikasi tidak dilakukan pergantian pelarut.

Pelarut etanol merupakan pelarut yang umum digunakan pada proses ekstraksi karena memiliki kemampuan untuk menarik atau mengekstrak senyawa metabolit pada simplisia tanaman (Qodriah dkk., 2021). Etanol 70% merupakan pelarut universal karena mampu mengekstrak senyawa yang bersifat nonpolar dan polar. Kelebihan pelarut etanol 70% yaitu memiliki sifat netral, tidak mudah untuk ditumbuhi oleh bakteri dan kapang, aman digunakan, memiliki penyerapan yang baik, dan mampu bereaksi dengan baik dengan air (Purwanti dkk., 2023). Hasil ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi menggunakan pelarut 70% akan dilakukan pengenceran untuk mendapatkan berbagai konsentrasi ekstrak sampel yang digunakan pada uji antibakteri (Kurniawati, 2015).

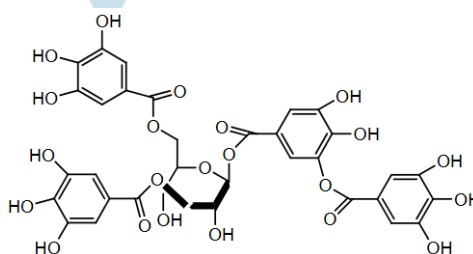
### C. Senyawa Aktif Daun Jambu Biji

Daun jambu biji merupakan tanaman yang mengandung cukup banyak senyawa polifenol (Mutmainah dkk., 2025). Kadar senyawa polifenol yang terdapat pada daun jambu biji yaitu sebesar 1717 mgGAE/g (Kumar dkk., 2021). Daun jambu biji mengandung senyawa polifenol yang berperan sebagai

antibakteri seperti flavonoid dan tanin (Meisani dkk., 2018). Daun jambu biji yang mengandung kedua senyawa ini membuat daun jambu biji memiliki potensi yang tinggi sebagai senyawa antibakteri (Qonita dkk., 2019).

#### a) Senyawa Tanin

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk ke dalam kelompok senyawa polifenol yang memiliki berat molekul tinggi yaitu 500-20.000 Da dan senyawa tanin dapat ditemukan diseluruh bagian tanaman jambu biji seperti di kulit kayu, daun, buah, kulit buah, biji, pucuk, dan batang (Dewi dkk., 2022). Sifat fisika tanin yaitu tanin akan berbentuk koloid saat larut dalam air, mempunyai aroma yang khas seperti asam dan sepat, tidak memiliki titik leleh dan berbentuk serbuk amorf berwarna kekuningan hingga cokelat muda. Sifat kimia tanin yaitu sukar untuk dikristalisasi dan dipisahkan, mudah larut pada pelarut organik dan memiliki kemampuan terhidrolisis oleh asam, basa dan enzim (Hersila dkk., 2023). Struktur kimia tanin merupakan struktur yang terdiri dari cincin benzena (C<sub>6</sub>) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH) (Noer dkk., 2018). Struktur senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 2.

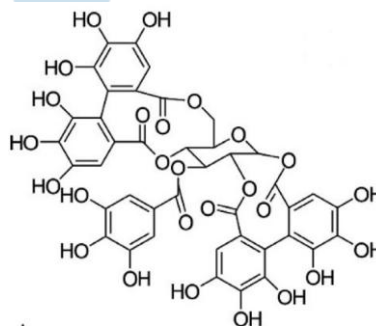


Gambar 2. Struktur Senyawa Tanin (Sumber: Noer dkk., 2018).

Senyawa tanin memiliki 2 jenis yang dibedakan berdasarkan struktur kimianya yaitu tanin terhidrolisis (*hydrolizable tannin*) dan tanin

terkondensasi (*condensed tannin*). Tanin terkondensasi memiliki jumlah lebih banyak pada tanaman dibandingkan dengan tanin terhidrolisis (Sunani dan Hendriani, 2023). Tanin terhidrolisis lebih sedikit ditemukan pada tanaman karena lebih beracun daripada tanin terkondensasi (Fathurahman dan Ida, 2018).

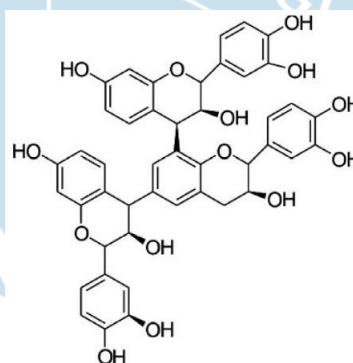
Tanin terhidrolisis merupakan salah satu jenis tanin yang memiliki karbohidrat (D-glukosa) dan letaknya berada di tengah. Tanin terhidrolisis dapat dihidrolisis oleh asam lemah, basa lemah, dan enzim yang akan menghasilkan asam fenolik (asam galat dan asam ellagic) dan karbohidrat (Sunani dan Henriani, 2023). Gallotanin dan ellagitannin merupakan contoh tanin terhidrolisis, gallotanin terbentuk dari senyawa gabungan antara asam galat dan karbohidrat sedangkan ellagitannin terbentuk dari unit elagit dan glukosa (Hersila dkk., 2023). Asam tanat juga termasuk tanin terhidrolisis yang merupakan polimer dari asam galat dan glukosa (Hidjrawan, 2018). Struktur kimia tanin terhidrolisis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Tanin Terhidrolisis (Sumber: Das dkk., 2020).

Tanin terkondensasi merupakan jenis tanin yang terbentuk dari beberapa unit flavonoid (flavan-3-ol) yang terhubung oleh ikatan-ikatan

karbon. Tanin terkondensasi tidak dapat dihidrolisis namun terkondensasi menghasilkan asam klorida (Lisan dan Palupi, 2015). Tanin terkondensasi memiliki nama lain yaitu *proanthocyanidin* yang merupakan polimer atau gabungan dari 20-50 atau lebih unit flavonoid yang berikatan dengan ikatan karbon C-8 dan C-4. Tanin terkondensasi juga bersumber dari senyawa flavonoid, katekin, dan flavan-3,4-diol (Hersila dkk., 2023). Struktur kimia tanin terkondensasi dapat dilihat pada Gambar 4.

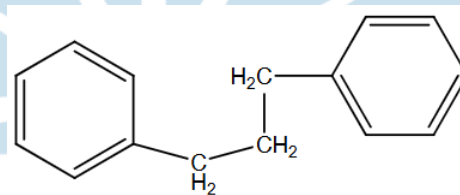


Gambar 4. Struktur Kimia Tanin Terkondensasi (Sumber: Das dkk., 2020).

Mekanisme tanin sebagai antibakteri yaitu dapat melakukan penghambatan pada enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase yang menyebabkan sel bakteri tidak dapat terbentuk (Suryani dkk., 2019). Tanin dapat menghambat pembentukan dinding sel bakteri karena memiliki target pada polipeptida dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri yang tidak terbentuk dengan sempurna akan mengakibatkan bakteri mengalami lisis karena osmotik dan fisik kemudian bakteri mati. Tanin juga dapat melakukan inaktivasi pada adhesin sel dan enzim serta menghambat transport protein pada sel bakteri (Suryani dkk., 2019).

## b) Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa aktif yang masuk ke dalam senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua bagian tanaman seperti akar, batang, daun, dan buah. Flavonoid bersifat mudah larut dalam air, tidak tahan panas, berfungsi memberikan pigmen warna (kuning, merah, oranye, biru, dan ungu) pada buah, bunga, dan daun serta memberikan aroma (Ningsih dkk., 2023). Senyawa flavonoid mengandung 15 atom karbon yang terdiri dari cincin C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yaitu 2 cincin benzena C<sub>6</sub> yang dihubungkan oleh rantai C<sub>3</sub> (Wang dkk., 2018). Struktur dasar flavonoid dapat dilihat pada Gambar 5.

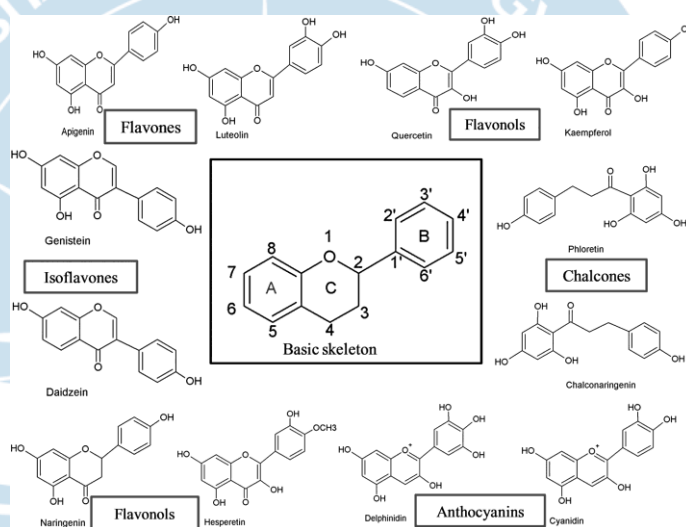


Gambar 5. Struktur Dasar Flavonoid. (Sumber: Noer dkk., 2018).

Flavonoid memiliki berbagai jenis yang terbagi dalam beberapa subkelas flavonoid yang dikelompokkan berdasarkan sifat strukturalnya yaitu flavonol, flavon, flavanon, flavon, isoflavonol, dan *anthocyanidins*. Flavon dan flavonol adalah jenis flavonoid yang tersebar paling banyak pada tumbuhan. Flavonol terdapat pada petal atau daun pada tumbuhan tingkat tinggi sebagai pigmen antosianin, selain itu sumber flavonol dapat ditemukan pada buah-buahan, sayur-sayuran, teh, dan anggur merah (Panche dkk., 2016)

Kuersetin merupakan salah satu flavonol dalam bentuk glikosida yang dapat ditemukan pada sayuran dan buah-buahan. Kuersetin memiliki

manfaat sebagai antioksidan yang ditunjukkan dari kemampuan kuersetin dalam melakukan pencegahan oksidasi *low density lipoprotein* (LDL) dengan cara menangkal radikal bebas dan ion-ion transisi (Arifin dan Ibrahim, 2018). Flavon ditemukan pada buah dan sayuran yaitu apigenin dan luteolin. Perbedaan flavonol dan flavon yaitu gugus flavon pada atom C3 tidak mengandung gugus hidroksil (Panche dkk., 2016). Klasifikasi flavonoid dapat dilihat pada Gambar 6.



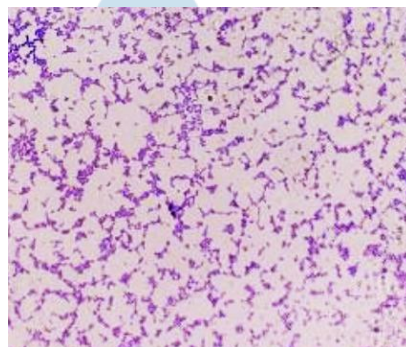
Gambar 6. Struktur Kimia Klasifikasi Flavonoid (Sumber: Panche dkk., 2016).

Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan melakukan ikatan kompleks pada protein pelarut dan protein ekstraseluler dinding sel bakteri menyebabkan dinding sel bakteri rusak (Meisani dkk., 2018). Flavonoid memiliki banyak manfaat untuk kesehatan seperti sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, dan antijamur (Ningsih dkk., 2023). Daun jambu biji yang telah diketahui memiliki senyawa antibakteri dapat menyembuhkan luka pada kulit maupun penyakit kulit yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Sine dan Fallo, 2016).

#### D. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* merupakan bakteri penyebab penyakit pada kulit. Bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* keduanya merupakan bakteri penyebab infeksi piogenik sehingga dapat disebut sebagai kuman piogenik. Infeksi piogenik merupakan infeksi yang terjadi pada kulit dan ditandai dengan adanya nanah (Ekawati dkk., 2018).

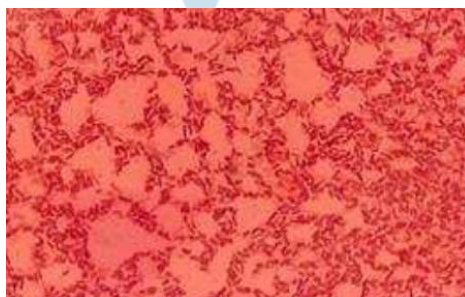
*S. epidermidis* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit manusia. Infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri ditunjukkan dengan muncul lesi bernanah, permukaan kulit mengeras serta ditandai dengan munculnya bisul berwarna kekuningan (Lestari dan Asri, 2021). Bakteri *S. epidermidis* memiliki karakteristik Gram positif, berbentuk *coccus*, nonmotil, bersifat anaerob fakultatif, serta bakteri flora normal kulit (Lestari dan Asri, 2021). Bakteri *S. epidermidis* berukuran 0,5-1,5  $\mu\text{m}$  berbentuk bulat menyerupai buah anggur (Karimela dkk., 2018). Gambar bakteri *S. epidermidis* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. *Staphylococcus epidermidis* (Sumber: Pribadhi dkk., 2023).  
Keterangan: Perbesaran 1000x dan menggunakan pengecatan Gram A (kristal violet), Gram B (lugol iodin), Gram C (alkohol), dan Gram D (safranin).

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang terdapat pada flora normal usus dan kulit manusia dalam jumlah kecil (Devi dan Mulyani dkk., 2017). Jumlah *P. aeruginosa* yang berada di kulit manusia yaitu sebesar 2% (Tran dkk., 2022). *P. aeruginosa* ditemukan di usus manusia sebesar 13,6% (Niikura dkk., 2021).

*P. aeruginosa* memiliki bentuk sel batang, motil, dan ukuran sel berkisar 0,6x2 mm (Supartiningsih dkk., 2022). *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang dapat menginfeksi luka pada kulit seperti luka sayatan maupun luka lecet. *P. aeruginosa* yang menginfeksi luka bakar dapat mengakibatkan munculnya nanah berwarna hijau karena pigmen piosianin (Ananto dkk., 2015). Pigmen piosianin merupakan pigmen berwarna hijau kebiruan tidak berfluoresensi yang dihasilkan oleh *P. aeruginosa* dan dapat berdifusi ke medium agar (Panyuari, 2020). Pigmen piosianin juga berperan dalam virulensi yang dilakukan oleh *P. aeruginosa* karena menyebabkan stress oksidatif pada sel inang dan mengganggu sistem kekebalan tubuh karena dapat menyebabkan apoptosis pada sel neutrofil dan makrofag (Anggraeni dkk., 2024). Gambar bakteri *P. aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. *Pseudomonas aeruginosa*. (Sumber: Admi dkk., 2021).  
Keterangan: Perbesaran 100x dan Pengecatan Gram menggunakan Gram A (kristal violet), Gram B (lugol iodin), Gram C (alkohol 95%), Gram D (*fuschine*)

### E. Antibakteri dan Aktivitasnya

Antibakteri merupakan senyawa yang dapat menghambat bahkan membunuh pertumbuhan bakteri dan digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen (Utomo dkk., 2018). Senyawa antibakteri atau antibiotik dibagi menjadi 2 berdasarkan efek toksisitasnya yaitu bersifat bakteristatik dan bakteriosidal (Maimunah dkk., 2020). Senyawa antibakteri yang bersifat bakteristatik merupakan antibakteri yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri dan bersifat sementara sedangkan antibakteri yang bersifat bakteriosidal dapat membunuh bakteri (Wilapangga dan Syaputra, 2018). Senyawa antibakteri bersifat bakteriolitik akan menyebabkan bakteri mengalami lisis sel atau sel bakteri pecah sehingga sel bakteri mati (Kusumawati, 2016).

Aktivitas antibakteri merupakan pengujian yang dilakukan untuk melihat sampel ekstrak yang digunakan memiliki aktivitas antibakteri. Hal tersebut dapat dibuktikan melalui terbentuknya zona hambat atau zona bening pada metode difusi. Zona hambat yang terbentuk tersebut menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Cahyaningtyas dkk., 2019). Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan uji zona hambat menggunakan metode difusi (kertas cakram, sumuran, silinder) dan konsentrasi hambat minimum (KHM) (Mulyadi dkk., 2017). Perbedaan zona hambat dan konsentrasi minimum adalah zona hambat untuk melihat seberapa kuat aktivitas antibakteri melalui ukuran diameter zona hambat, semakin besar ukuran diameter zona hambat maka semakin kuat

aktivitas antibakteri. Konsentrasi hambat minimum untuk melihat konsentrasi terkecil dari ekstrak yang sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, semakin kecil nilai KHM maka aktivitas antibakteri semakin efektif (Saputera dkk., 2019).

#### 1. Diameter Zona Hambat

Pengujian aktivitas antibakteri suatu sampel ekstrak dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu metode dilusi dan metode difusi agar. Metode difusi agar terbagi menjadi 3 yaitu metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder (Saputera dkk., 2019). Metode dilusi terbagi menjadi 2 yaitu dilusi cair dan dilusi agar. Dilusi cair dilakukan dengan cara sampel ekstrak dibuat seri pengenceran pada medium cair yang telah diinokulasi bakteri uji sedangkan dilusi padat menggunakan medium padat yang telah berisi sampel ekstrak kemudian bakteri diinokulasikan ke dalam medium tersebut (Fitriana dkk., 2019).

Metode difusi sumuran merupakan metode uji antibakteri dengan membuat sumuran pada media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Sumuran pada media agar diisi dengan sampel uji setelah itu akan diinkubasi dan dilihat zona bening yang terbentuk. Kelebihan metode difusi sumuran adalah pengukuran luas zona hambat lebih mudah karena aktivitas bakteri tidak sebatas dipermukaan media padat tapi hingga ke dalam media (Saputera dkk., 2019).

Kelemahan metode difusi sumuran adalah memerlukan keterampilan yang baik untuk membuat sumuran karena kemungkinan besar media agar

akan rusak atau retak. Metode difusi cakram dilakukan dengan cara mencelupkan kertas cakram pada sampel uji kemudian diletakkan di atas media agar yang telah diinokulasikan bakteri uji. Zona bening yang terbentuk disekitar kertas diukur dalam satuan milimeter (Nurhayati dkk., 2020).

Pengujian aktivitas antibakteri dengan difusi sumuran dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri uji ke dalam media padat kemudian pada media padat tersebut dibuat sumuran. Sampel uji berupa ekstrak dimasukkan ke dalam sumuran lalu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati zona bening yang terbentuk disekitar sumuran (Nurhayati dkk., 2020). Menurut Mawaddah (2018), kekuatan antibakteri dibagi menjadi 4 kategori berdasarkan hasil luas zona hambat yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kategori Kekuatan Antibakteri

| Luas Diameter | Kategori    |
|---------------|-------------|
| <5 mm         | Lemah       |
| 5-10 mm       | Sedang      |
| 10-20 mm      | Kuat        |
| >20           | Sangat kuat |

Antibiotik yang digunakan secara umum untuk kontrol positif adalah tetrasiklin. Hal ini karena antibiotik tetrasiklin termasuk antibiotik berspektrum luas yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, bakteri aerob dan anaerob serta bersifat bakteriostatik (Muharni dkk., 2017). Antibiotik tetrasiklin digunakan dalam pengobatan infeksi kulit sehingga relevan sebagai kontrol positif untuk bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* penyebab infeksi kulit (Oktarina dan Danietik, 2023).

Mekanisme kerja tetrasiklin dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan mencegah sintesis protein bakteri. Target seluler tetrasiklin adalah ribosom bakteri yaitu berikatan dengan subunit 30s ribosom bakteri kemudian menghambat molekul tRNA yang membawa asam amino masuk ke situs A ribosom bakteri sehingga tidak terjadi proses translasi RNA dan sintesis protein yang menyebabkan sel bakteri mati atau menghambat pertumbuhan bakteri (Gzyl dan Wieden, 2017).

## 2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi hambat minimum (KHM) merupakan konsentrasi minimal atau terendah suatu zat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi hambat minimum dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah suatu zat antibakteri yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Saputera dkk., 2019). Pengujian KHM juga dilakukan untuk melihat kerentanan dan resistensi bakteri terhadap zat antibakteri (Li dkk., 2017).

Nilai KHM yang tinggi menunjukkan sensitivitas bakteri rendah terhadap zat antibakteri, dengan kata lain bakteri telah mengalami resistensi terhadap zat antibakteri sehingga memerlukan konsentrasi yang tinggi untuk berhasil menghambat pertumbuhan bakteri (Salmi dan Swandi, 2022). Semakin kecil nilai KHM menunjukkan bahwa bakteri memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap zat antibakteri. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri rentan terhadap zat antibakteri sehingga hanya memerlukan konsentrasi yang rendah untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Muharni dkk., 2017).

Pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan dengan metode difusi agar. Larutan KHM dibuat dengan cara mencampurkan larutan ekstrak berbagai konsentrasi, bakteri uji, dan medium cair steril kemudian diinkubasi selama 24 jam. Larutan KHM yang sudah diinkubasi tersebut diinokulasi secara *spread plate* pada medium padat kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam. Pengamatan dilakukan setelah inkubasi 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (Afrina dkk., 2016). Kelebihan KHM yang menggunakan metode difusi agar yaitu larutan ekstrak yang menjadi agen antibakteri dapat digunakan pada beberapa bakteri yang berbeda (Komala dkk., 2020).

#### **F. Hipotesis**

1. Metode ekstraksi sonikasi menghasilkan rendemen dan kadar senyawa aktif flavonoid dan tanin lebih tinggi dibandingkan metode ekstraksi maserasi yaitu rendemen ekstrak sonikasi sebesar 30,67%, kadar total flavonoid metode sonikasi sebesar 4,09%, dan kadar total tanin metode sonikasi sebesar 3,36%.
2. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dengan metode ekstraksi sonikasi lebih tinggi dibandingkan metode ekstraksi maserasi yaitu sebesar 10-20 mm yang ditunjukkan dari hasil diameter zona hambat yang lebih besar dan konsentrasi hambat minimum (KHM) yang lebih kecil.