

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada orang dengan umur produktif, makanan dan minuman sudah mengalami perubahan fungsional tidak hanya untuk mengisi perut tetapi juga untuk menyediakan vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh untuk kesehatan yang ideal. Gaya hidup saat ini mengubah nutrisi sekelompok penduduk yang cenderung mengonsumsi makanan cepat saji, terutama penduduk kota, terkait dengan kesehatan yang buruk dan aneka macam penyakit degeneratif misalnya kanker, penyakit jantung koroner, dan stroke dapat disebabkan oleh mikloflora usus yang kurang terawat. Flora usus berperan penting dalam penyerapan vitamin, sehingga tubuh mengambil vitamin yang terdapat pada makanan yang dicerna secara optimal (Julianto *et al.*, 2016).

Menjaga flora usus dapat dicapai dengan menyesuaikan gaya hidup dengan makanan yang memiliki manfaat kesehatan. Inilah yang disebut makanan fungsional. Contoh khas makanan fungsional adalah kefir. Kefir adalah produk fermentasi yang terbuat dari susu fermentasi dan biji kefir, yaitu kombinasi bakteri asam laktat (BAL) dan ragi (Julianto *et al.*, 2016).

Kefir adalah produk yang dibuat terutama dari susu fermentasi selain yogurt, dan dikenal luas di Indonesia dan negara lain. Kefir sudah terkenal dan diproduksi sejak ribuan tahun lalu oleh suatu komunitas di bagian utara Pegunungan Kaukasus. Walaupun kefir belum sepopuler yoghurt, tetapi kefir memiliki segudang khasiat bagi kesehatan (Bahar B, 2008).

Kefir yaitu hasil fermentasi yang mengandung biji kefir yang berisi spesies bakteri *Streptococcus sp*, *Lactobacilli*, dan sebagian jenis ragi tidak patogen (U.smiati *et al.*, 2007). Beberapa

mikrobakteri tersebut bertanggung jawab untuk memproduksi rasa masam, tetapi ragi membentuk aroma alkohol dan karbon dioksida (H.asruddin & Pra.tiwi, 2015). Kefir memiliki berbagai manfaat kesehatan. Ini berarti dapat membentuk komponen antibakteri yang memperkuat sistem kekebalan tubuh, melawan tumor, dan membantu mencegah gangguan pencernaan dan infeksi (Vinderola *et al.*, 2005).

Salah satu penyakit gangguan pencernaan yaitu penyakit diare yang dapat diakibatkan oleh bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). Berdasarkan hasil penelitian oleh Putri *et al.* (2016) mengenai pengujian aktivitas antibakteri menggunakan tiga jenis sampel susu kefir terhadap bakteri *E. coli* memperlihatkan bahwa ketiga sampel tersebut bisa membatasi perkembangan bakteri *E. coli* dengan diameter zona bening 14,5 ; 17,5 ; dan 17,5 mm pada konsentrasi 90%. Diameter yang terbentuk pada konsentrasi 90% ini termasuk ke dalam klasifikasi respon hambatan pertumbuhan yang kuat, karena berdiameter antara 10 – 20 mm.

Terlalu banyak *E. coli* dalam tubuh manusia dapat menyebabkan diare. Diare adalah penyakit berair yang memiliki gejala sering BAB, 3 kali atau lebih / hari. Diare bersifat endemik dan dapat menyebabkan komplikasi yang mengancam jiwa (KLB), seringkali menyebabkan kematian. Dari hasil laporan oleh Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 prevalensi diare berlandaskan diagnosa tenaga kesehatan dan gejala di Jawa Barat adalah 8,5%, lebih tinggi 0,5% dari prevalensi nasional yaitu 8%. Menurut Laporan Pusat Informasi Kesehatan Indonesia 2018, perkiraan jumlah kasus diare yang terjadi di fasilitas kesehatan di Jawa Barat pada tahun 2018 adalah 1.314.464 kasus, dimana 393.434 kasus atau 29.93% pasien diare ditangani oleh pelayanan kesehatan (Kemenkes RI, 2018).

Secara keseluruhan kejadian diare di kota Tasikmalaya pada tahun 2018 adalah 16.808 kasus. Terjadi peningkatan 16.439 kasus dibandingkan tahun 2015 (Profil Kesehatan Kota Tasikmalaya, 2018). Angka kasus diare per 1.000 penduduk di Kota Tasikmalaya pada tahun 2020 sebesar 270 kasus pada semua umur dan 843 kasus pada balita (Open data Kota Tasikmalaya, 2020). Kejadian ini memperlihatkan bahwa kasus diare di Kota Tasikmalaya masih menjadi masalah kesehatan yang masih perlu diperhatikan lagi.

Salah satu cara untuk menanggulangi penyakit diare ini, dapat menggunakan tanaman tradisional. Indonesia adalah suatu negara yang makmur akan berbagai jenis produk budaya. Tanaman tradisional merupakan salah satu produk budaya Indonesia. Tanaman tradisional dapat ditemukan dari berbagai sumber alami (Lesmana *et al.*, 2018). Contoh tanaman yang biasa dipakai menjadi tanaman tradisional adalah tanaman jambu biji. Bagian dari tanaman jambu biji sering digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan alternatif penyebab diare yaitu daunnya (Kemenkes RI, 2019).

Dewi *et al.* (2021) membuat penelitian mengenai khasiat infusum daun jambu biji sebagai antibakteri kepada bakteri *E.coli*. Dari hasil penelitian tersebut terlihat adanya zona bening yang terlihat pada konsentrasi 50% dengan diameter sebesar 1,71 mm dan konsentrasi 25% sebesar 0,73 mm. Diameter yang terbentuk pada konsentrasi 50% termasuk ke dalam klasifikasi respon hambatan pertumbuhan yang sedang, karena berdiameter antara 5 – 10 mm (sesudah ditambahkan dengan diameter *cakram disk* berukuran 6 mm).

Berlandaskan latar belakang di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang menggabungkan susu kefir dan infusum daun jambu biji (*Psidium guajava L*) sebagai agen antibakteri alami untuk menghambat bakteri patogen *Escherichia coli*.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

Apakah penambahan infusum daun jambu biji (*P. guajava L*) pada susu kefir dapat bersifat sinergis sebagai antibakteri terhadap *E. coli* ?

1.3. Pembatasan Masalah

Untuk memudahkan dalam pelaksanaan penelitian agar tujuan penelitian dapat terlaksana dengan baik, maka perlu adanya pembatasan masalah yaitu :

- a. Susu kefir yang digunakan adalah susu kefir sapi dengan merk X yang diproduksi di Tasikmalaya.
- b. Daun jambu biji yang digunakan adalah daun jambu biji lokal yang masih muda (5 helai teratas).
- c. Perlakuan untuk daun jambu biji dengan cara infusum.
- d. Menggunakan 6 variasi konsentrasi.
- e. Media yang digunakan adalah Mueller Hilton Agar.
- f. Metode yang dipakai yaitu metode difusi sumuran (*well diffusion method*).
- g. Jenis bakteri yang digunakan adalah *E. coli*.
- h. Kontrol negatif menggunakan *aquadest* steril.
- i. Kontrol positif menggunakan antibiotik *cloramphenicol* 30 µg.

1.4. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui apakah penambahan infusum daun jambu biji pada susu kefir dapat bersifat sinergis sebagai antibakteri terhadap *E. coli*.

1.5. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Manfaat umum, bisa menjadi wawasan tentang susu kefir dengan infusum daun jambu biji bisa menjadi opsi lain minuman probiotik.
2. Manfaat khusus, dapat menjadi ilmu pengetahuan dan wawasan bahwa susu kefir bermanfaat sebagai minuman probiotik yang ditambahkan dengan infusum daun jambu biji bisa menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*.

1.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya. Penelitian dilakukan pada bulan Februari – Juni 2022.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Dasar Teori

2.1.1. Susu

Susu merupakan sumber energi karena banyak mengandung laktosa dan lemak, serta disebut juga sebagai sumber bahan penyusun karena banyak mengandung protein, mineral, berbagai zat pembantu metabolisme seperti mineral dan vitamin. Persentase kandungan di dalam susu antara lain : air (87,20%), lemak (3,70%), protein (3,50%), laktosa (4,90%), dan mineral (0,07%). Susu pada hakekatnya yaitu produk susu sapi perah atau mamalia lain yang aman, sehat dan dapat diminum atau digunakan sebagai bahan makanan tanpa ada pengurangan komposisi atau penambahan bahan lain. Direkomendasikan terutama untuk anak-anak yang sedang tumbuh (Sana m *et al.*, .2 014).

Susu adalah cairan putih yang disekresikan oleh kelenjar susu mamalia betina dan digunakan sebagai makanan dan sumber makanan untuk anaknya. Mamalia yang berbeda menghasilkan jumlah susu yang berbeda karena mamalia betina yang berbeda memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda.

Chrisna *et al.* (2019) mengatakan bahwa susu segar merupakan makanan yang bergizi tinggi karena mengandung berbagai komponen makanan yang lengkap dan seimbang yang dibutuhkan oleh tubuh manusia seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin. Nilai gizi yang tinggi dari susu menjadikannya tempat berkembang biak yang sangat menguntungkan bagi mikroorganisme yang mendorong

pertumbuhan dan perkembangannya. Salah satu cara pengawetan susu adalah pasteurisasi.

2.1.1.1. Susu Kefir

Pemeliharaan flora usus dapat diwujudkan dengan memasukkan makanan dengan fungsi fisiologis, yang disebut makanan fungsional, ke dalam diet untuk kesehatan. Kefir adalah contoh khas makanan fungsional. Kefir adalah produk fermentasi yang dibuat dengan menambahkan butiran kefir ke dalam susu dan memfermentasinya dengan bakteri asam laktat dan ragi yang bersimbiosis (BAL) dan ragi (Syahdayani, 2020).

Kefir memiliki konsistensi dan penampakan seperti yoghurt dengan rasa yang sedikit beralkohol. Kefir memiliki manfaat kesehatan yang terbukti secara klinis, meningkatkan sistem flora usus dan terdapat bakteri menguntungkan yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen di usus, menjadikannya minuman probiotik. Candigi *et al.* (2003). menemukan bahwa kefir, selain kandungan bakteri dan raginya yang unggul, juga mengandung vitamin, mineral, dan asam amino esensial yang membantu menjaga dan meningkatkan fungsi tubuh.

Menurut Winarno dan Fernandez (2005), kefir memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh manusia, antara lain manfaat pencegahan kanker usus besar dan sistem kekebalan tubuh. Kandungan nutrisi kefir mirip dengan bahan baku yang digunakan dalam susu dan memiliki beberapa keunggulan. Kefir memiliki masa simpan yang lebih lama dan kandungan beberapa nutrisi seperti vitamin dan mineral yang lebih tinggi, dan lebih cocok untuk digunakan pada susu segar. Kefir biasanya

dibuat dari susu hewani seperti susu sapi, susu kambing atau susu domba.

2.1.1.2. Kandungan *Kefir Grains*

Kefir grains atau biji kefir adalah *starter* yang digunakan dalam memfermentasi susu menjadi kefir. Butir kefir berbentuk butiran *irregular*, berukuran 2-3 cm (berbutir), dan berwarna keputihan atau kekuningan. Struktur partikel kefir terlipat di permukaan dan merupakan hasil dari berbagai penebalan mikroba (Safitri & Swarastuti, 2013). Bentuk partikel kefir dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar. 2.1 *Kefir Grains* (Wordpress,2012)

Tabel 2.1. Kandungan Gizi Kefir 100 gram

| Zat Gizi | Jumlah |
|-------------|----------|
| Energi | 160 kkal |
| Karbohidrat | 8 g |
| Protein | 14 g |
| Lemak | 3 g |
| Natrium | 90 mg |
| Kalsium | 300 mg |
| Vitamin A | 500 IU |
| Vitamin D | 1000 IU |

Sumber: (Safitri & Swarastuti, 2013)

Pada tabel. 2.1 menjelaskan mengenai kandungan

gizi kefir pada 100 gram. Kultur starter kefir disebut biji kefir dan mengandung mikroorganisme yang terdiri dari bakteri dan ragi yang masing-masing berperan dalam membentuk rasa dan tekstur kefir. Bakteri penyebab keasaman dan ragi menghasilkan alkohol dan CO₂ dalam proses fermentasi (Safitri & Swarastuti, 2013).

2.1.1.3. Manfaat Susu Kefir

Kefir merupakan produk susu fermentasi yang memiliki cita rasa khas karena simbiosis bakteri asam laktat dan ragi yang saling menguntungkan. Rasa susu fermentasi (kefir) didominasi oleh asam laktat yang dihasilkan oleh starter selama fermentasi laktosa. Menurut standar yang ditetapkan oleh *Codex Alimentarius Commission* (2003), starter kefir memiliki jumlah bakteri minimal 10⁴ C FU/mL.

Manfaat kefir bagi kesehatan :

1. Perawatan kulit

Kefir dapat menyehatkan kulit karena merupakan antioksidan alami dan kefir juga dapat mencegah jerawat, psoriasis dan kerutan.

2. Penambah fungsi otak

Kefir dianggap sebagai makanan otak dan dapat membantu mengurangi stres. Kefir juga dapat meningkatkan daya ingat, refleksi, dan konsentrasi.

3. Pencernaan

Kefir meningkatkan pencernaan, mencegah sembelit, membersihkan usus, memiliki efek probiotik dan mengatur pergerakan usus (Gaware *et al.*, 2011).

Kemampuan minuman kefir sebagai antibakteri

dalam menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba dalam sistem pangan tergantung pada beberapa faktor, antara lain suhu, pH (keasaman), ketersediaan oksigen, dan interaksi/sinergi antar faktor tersebut. Kefir mengandung metabolit primer yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat seperti asam laktat, CO₂, diasetil, asetaldehida, dan hidrogen peroksida, serta bakteriosin senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri sejenis (Putri *et al.*, 2016).

2.1.2. Daun Jambu Biji

Jambu biji berasal dari Amerika tropis, jambu biji tumbuh di luar ruangan di tanah yang gembur atau lempung yang kaya akan kelembapan. Tanaman jambu biji tumbuh pada ketinggian 1 meter sampai dengan 1.200 meter di atas permukaan laut. Jambu biji mekar sepanjang tahun. Pohon kecil, tinggi 2–10 meter, bercabang. Batang berkayu, keras, kulit batang halus, coklat kehijauan. (Anggraini, 2010).

Jambu biji (*Psidium guajava L.*) tersebar luas di Asia Tenggara, antara lain Indonesia, Asia Selatan, India dan SriLanka. Jumlah dan spesies tumbuhan ini sangat banyak, dan saat ini diperkirakan ada sekitar 150 spesies di dunia. Tumbuhan ini (*Psidium guajava L.*) mudah ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Sering ditanam di pekarangan rumah. Tanaman ini sangat mudah beradaptasi dan dapat tumbuh tanpa perawatan. Di Pulau Jawa, sering ditanam sebagai pohon buah-buahan, dan sangat sering ditemukan di tepi hutan dan padang rumput (Nurazizah, 2008).

Daun jambu biji tergolong daun tidak lengkap karena hanya terdiri dari batang dan helaian yang disebut daun batang. Dilihat dari posisi bagian terluas daun, bagian terluas

daun jambu biji berada di tengah dan memiliki bagian memanjang karena rasio panjang: lebar 1,5 – 2,1 (13 – 15: 5,6-6 cm). Bentuk daun jambu biji pada gambar 2.2. mempunyai tulang daun menyirip, yang memiliki tulang tunggal memanjang dari pangkal ke ujung, dari mana tangkai daun mengikuti secara lateral, tulang-tulang bercabang dalam susunan yang mirip dengan sirip ikan. Jambu biji memiliki ujung yang tumpul dan bagian atas daun biasanya tampak lebih hijau daripada bagian bawahnya. Tangkai daun silindris, tidak menebal pada batangnya (Ayuni, 2012).



Gambar.2.2. Daun Jambu Biji (Sumber : wikiopinia.com)

Menurut Yulinar (2011) sistematika dan klasifikasi tanaman jambu biji adalah sebagai berikut :

| | |
|-----------|-----------------------------|
| Divisi | : Spermatophyta |
| Subdivisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Bangsa | : Myrtales |
| Suku | : Myrtaceae |
| Marga | : <i>Psidium</i> |
| Jenis | : <i>Psidium guajava</i> L. |

2.1.2.1. Manfaat Daun Jambu Biji

Daun jambu biji ternyata memiliki khasiat yang unik bagi tubuh kita, baik dari segi kesehatan maupun penyakit tertentu, diantaranya adalah anti inflamasi, antimutagenik, antibakteri dan analgesik (Dalimartha, 2000).

Daun jambu biji biasa digunakan untuk mengobati diare akut dan kronis, perut kembung pada bayi dan anak-anak, kolesterol darah tinggi, sering buang air kecil, luka, stomatitis, obat kumur atau sakit gigi, dan demam berdarah (Ningrum, 2013).

2.1.2.2. Kandungan Kimia Daun Jambu Biji

Daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) mengandung zat antibakteri seperti tanin, flavonoid, minyak atsiri (misalnya globulus), dan alkaloid yang menghambat pertumbuhan *E. coli*. Tanin dalam daun jambu biji mengecilkan jaringan dan dinding sel serta menghambat permeabilitas sel. Flavonoid dapat mengatur tanaman dengan sinar matahari buatan dengan melakukan uji antibakteri. Flavonoid juga dapat menyebabkan terganggunya dinding organ bakteri, mikroba dan pertumbuhan organel sebagai akibat dari perjalanan antara flavonoid dan nukleotida bakteri. (Arifin *et al.*, 2016).

Daun jambu biji kaya akan flavonoid, terutama *quercetin*. Dengan menghambat pelepasan asetilkolin yang dapat meningkatkan kontraksi usus pada rangsangan dari bakteri penyebab diare seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enteritidis*, *Bacillus cereus*, dan *Vibrio cholerae*, senyawa *quercetin* berpotensi sebagai agen antidiare. Kandungan tanin daun jambu biji (*P. guajava L.*) diperkirakan mencapai 9-12%. Tanin dapat menyebabkan rasa astringen pada buah dan daun jambu

biji (*P. guajava L.*), tetapi membantu menenangkan sistem pencernaan dan sirkulasi darah. Daun jambu biji juga mengandung bahan antidiare potensial lainnya, yaitu minyak atsiri dan alkaloid. Minyak atsiri adalah senyawa volatil yang tidak larut dalam air yang berasal dari tumbuhan (Fратиwi,2015).

2.1.3. Teknik Pengambilan Zat Aktif

Salah satu teknik pengambilan zat aktif yaitu ekstraksi. Ekstraksi adalah teknik pemisahan kimia untuk memisahkan atau menghilangkan satu atau lebih konstituen atau senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang spesifik dan sesuai (Leba, 2017).

Menurut Amalia (2012) ada beberapa macam metode ekstraksi menggunakan pelarut, diantaranya cara dingin dan cara panas.

2.1.3.1. Cara dingin

- (1) Maserasi adalah mengekstraksi simplisia dengan pelarut dan mengocoknya beberapa kali pada suhu kamar. Metode ini dapat menarik zat aktif tahan api dan tahan api.
- (2) Perkolasi selalu ekstraksi lengkap dengan pelarut segar, biasanya pada suhu kamar. Ekstraksi ini membutuhkan lebih banyak pelarut.

2.1.3.2. Cara panas

- (1) Refluks atau aliran balik adalah penggunaan pelarut dan suhu titik didihnya untuk waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya

pendingin yang sesuai. Umumnya proses ini diulang hingga 3 -5 kali sehingga residu awal termasuk dalam proses ekstraksi penuh.

- (2) Infusa berasal dari kata infusum (Latin), berarti sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi bahan tumbuhan dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 15 menit.

2.1.3.2.1. Infusum

Ekstraksi dengan infusum memiliki keunggulan dibandingkan maserasi karena relatif mudah diproduksi, murah untuk diproduksi, dan dapat diterapkan pada masyarakat umum (Ditjen POM, 2014). Infusum dipilih karena prosedurnya yang dekat dengan resep obat tradisional yang sudah lama digunakan di masyarakat (Dalimartha, 2014). Kelemahan metode injeksi adalah ekstraksi dengan pelarut air tidak stabil dan rentan terhadap kontaminasi jamur dan jamur, sehingga hasilnya tidak dapat disimpan dan digunakan setelah 24 jam (Sari, 2015).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah air. Air dapat melarutkan garam alkaloid, minyak atsiri, glikosida, tanin dan gula. Air dianggap sebagai filter karena murah, mudah didapat, stabil, tidak beracun, alami, tidak mudah menguap, dan tidak mudah terbakar (Ainia, 2017).

2.1.4. Bakteri

Bakteri adalah organisme bersel tunggal yang dapat berkembang biak dengan membelah, bertambah besar, dan melakukan berbagai aktivitas metabolisme sendiri. Bentuk sel ditentukan oleh dinding sel yang kaku tetapi permeabel (*permeabel* terhadap larutan). Dinding sel memberi sel bakteri bentuknya dan mengelilingi membran sitoplasma untuk melindunginya dari pengaruh lingkungan. Dinding sel mencegah sel pecah ketika ada perbedaan besar dalam tekanan osmotik antara sitoplasma dan lingkungan (Soedarto, 2015). Tekanan osmotik 3-5 kali lebih tinggi untuk bakteri gram positif daripada gram negatif (Jawetz *et al.*, 2013).

2.1.4.1. Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Bakteri gram positif juga berbeda dari bakteri gram negatif dalam hal lain. Bakteri gram positif umumnya lebih sensitif terhadap antibiotik penisilin dan kurang rentan terhadap degradasi dengan pengobatan mekanis (misalnya, penerapan tekanan yang sangat tinggi atau getaran ultrasonik) atau ketika enzim tertentu diberikan, bakteri gram negatif, di sisi lain, rentan terhadap antibiotik seperti streptomisin (Santos *et al.*, 2018).

Berikut adalah beberapa perbedaan relatif antara bakteri Gram positif dengan Gram negatif yang tertera pada tabel 2.2, yaitu :

Tabel.2.2 . Perbedaan.Gram.Positif.dan.Negatif

| | Perbedaan Relatif |
|--|-------------------|
|--|-------------------|

G:

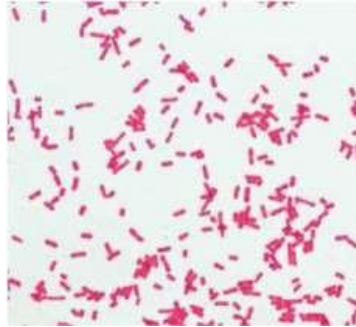
| | Gram Positif | Gram Negatif |
|--|--|--|
| Struktur dinding sel | 1. Tebal (15 – 80 nm) 2. Berlapis tunggal (mono) | 1. Tipis (10 – 15 nm) 2. Berlapis tiga (multi) |
| Komposisi dinding sel | 1. Kandungan lipid rendah (1% - 4%). 2. Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal | 1. Kandungan lipid tinggi (11% - 22%). 2. Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam ; jumlahnya sedikit 3. Tidak ada asam tekoat |
| Kerentanan terhadap penisillin | Lebih Rentan | Kurang rentan |
| Pertumbuhan dihambat oleh zat-zat warna dasar, misalnya ungu kristal | Pertumbuhan dengan nyata | Pertumbuhan tidak begitu dihambat |
| Persyaratan nutrisi | Relatif rumit pada banyak spesies | Relatif sederhana |
| Resistensi terhadap gangguan fisik | Lebih Resisten | Kurang Resisten |

Sumber : (Santos *et al.*, 2018)

2.1.4.2. *Escherichia coli*

E. coli merupakan salah satu bakteri yang sering menjadi penyebab utama infeksi. *E. coli* adalah bakteri Gram negatif yang tumbuh sebagai flora normal di usus manusia dan berperan penting dalam sintesis vitamin K, pigmen empedu, konversi asam empedu, dan penyerapan zat makanan. Namun, jika jumlah bakteri ini meningkat di saluran pencernaan atau di luar usus, mereka bisa menjadi patogen. *E. coli* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*, berbentuk batang pendek, gram negatif, ukuran 0,4–0,7 m x 1,4 m, beberapa galur berkapsul, tidak membentuk spora, anaerob fakultatif. Kebanyakan bersifat motil (dapat menggunakan flagela untuk bergerak) (Ramadhian, 2017). Bentuk *E. coli* setelah dilakukan pewarnaan gram dan di

amati pada mikroskop dengan perbesaran 100x dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar.2.3 *Escherichia coli* (Sumber : Jawetz *et al.*, 2013)

Menurut Bergey's *Manual of Systemic Biology*, klasifikasi taksonomi *E.coli* adalah:

| | |
|---------|---------------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Divisi | : Proteobacteria |
| Kelas | : Gamma Proteobacteria |
| Ordo | : Enterobacteriales |
| Famili | : Enterobacteriaceae |
| Genus | : <i>Escherichia</i> |
| Spesies | : <i>Escherichia coli</i> |

Struktur dinding sel bakteri gram negatif relatif kompleks, terdiri dari tiga lapisan: lapisan luar lipoprotein, lapisan antara lipopolisakarida, dan lapisan dalam peptidoglikan. Peptidoglikan pada bakteri gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks daripada bakteri gram positif. Membran luar terdiri dari lipid, liposakarida dan protein. Membran luar bakteri gram negatif berhubungan dengan lingkungan, termasuk inang manusia. Perubahan pada membran luar ini menyebabkan

perbedaan sifat patogenitas dan resistensi antibiotik (Ramadhian, 2017).

2.1.5. Peremajaan Bakteri Uji

Tujuan peremajaan bakteri adalah membawa kultur induk, bakteri asli yang dorman, menjadi kultur segar, siap pakai (Manalu, 2017). Peremajaan bakteri dilakukan dengan penyemaian *E.coli* pada cawan Petri yang berisi media NA (natrium agar) steril. Isolat bakteri pada media TSB kemudian *distreak* pada media yang tersedia dan dilakukan dalam *laminar air flow* untuk menghindari kontaminasi. Hasil peremajaan diinkubasi dalam inkubator selama 24-48 jam (Oktavia & Pujiyanto, 2018).

2.1.6. Metode Uji Aktivitas Bakteri

Aktivitas antimikroba dapat diuji dengan menggunakan beberapa metode: dilusi, difusi agar, dan difusi dilusi. Metode difusi merupakan metode yang umum digunakan untuk menganalisis aktivitas antimikroba. Ada tiga jenis dari metode difusi yang dapat dilakukan yaitu metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder (Pratiwi, 2008).

Prinsip kerja metode difusi adalah difusi senyawa antimikroba ke dalam media padat yang diinokulasi dengan organisme uji. Hasil yang diperoleh berupa daerah bening yang terbentuk di sekitar sumur menunjukkan adanya zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri (Balouiri *et al.*, 2016).

2.1.6.1. Metode Difusi Sumuran (*Well Diffusion Method*)

Metode yang digunakan yaitu metode difusi sumuran, yaitu dengan menusuk media padat agar yang diinokulasi

bakteri. Jumlah lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian dan ekstrak yang diuji dimasukkan dengan lubang. Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk mendeteksi ada tidaknya zona hambat di sekitar sumur. Prinsip metode ini adalah dengan menusuk agar yang diinokulasi dengan bakteri dan menjatuhkan larutan ke dalam sumur yang dihasilkan. Penghambatan pertumbuhan mikroba diamati karena adanya zona hambat (area bening) di sekitar sumur (Retnaningsih *et al.*, 2019).

2.1.7. Kontrol Penelitian

Pada penelitian ini untuk kontrol positif menggunakan antibiotik *cloramphenicol*. Menurut Aviany dan Pujiyanto (2020) dikarenakan *cloramphenicol* merupakan antibiotik berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. *Cloramphenicol* bekerja dengan menghambat sintesis bakteri yang dihambat enzim peptidil transferas yang berperan sebagai katalisator untuk ikatan - ikatan peptida saat sintesis bakteri.

Diameter zona hambat yang akan terbentuk di klasifikasikan menjadi tiga kelompok yaitu sensitif, intermediet dan resisten. *Cloramphenicol* memiliki standar zona hambat menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) yang tertera pada tabel 2.3 berikut ini

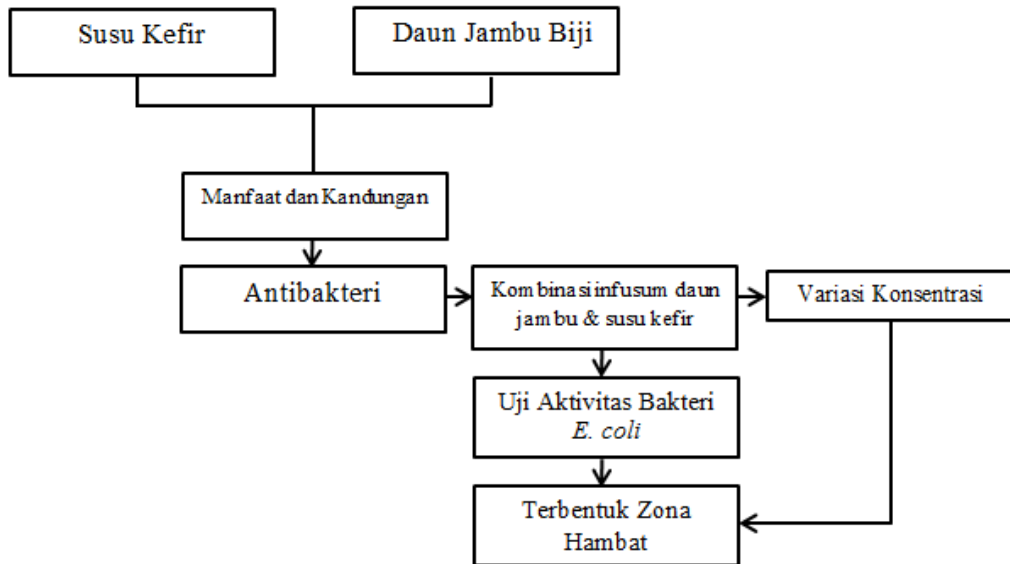
Tabel.2.3. Standar Zona Hambat Antibiotik

| Jenis Antibiotik | Konsentrasi Cakram Antibiotik | Diameter Zona Hambat (mm) | | |
|-----------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------|----------|
| | | Sensitif | Intermediet | Resisten |
| <i>Cloramphenicol</i> | 30 µg | ≥18 | 13 s/d 17 | ≤12 |

Sumber: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS) Providing NCCLS standards and

guidelines ISO/TC 212 standards, and ISO/TC 76 standards.

2.2. Kerangka Teori



Gambar.2.4 Skema.Kerangka.Teori

Gambar.2.4 menunjukkan skema kerangka teori pada penelitian ini. Kefir mempunyai segudang manfaat bagi kesehatan.yaitu, dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh, anti tumor dan membentuk bagian antibakteri yang bermanfaat untuk mencegah dari gangguan pencernaan dan infeksi (Vinderola *et al.*, 2005). Menurut Dalimartha (2000) dalam penelitian yang telah dilakukan daun jambu biji ternyata memiliki khasiat yang unik bagi tubuh kita, baik dari segi kesehatan maupun penyakit tertentu, diantaranya adalah anti inflamasi, antimutagenik, antibakteri dan analgesik.

Infusum adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90° C selama 15 menit (Dewi *et al.*, 2021). Menurut Mubarack *et al.* (2009) infusum daun jambu

biji sangat kaya akan senyawa fenolik, seperti flavonoid dan tanin, sehingga memiliki sifat antibakteri..

Pembuatan kombinasi susu kefir dan daun jambu biji ini bertujuan untuk menguji daya hambat dan sifat sinergis dari kombinasi tersebut terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan metode difusi sumuran pada media Mueller Hilton Agar. Kombinasi ini dibuat beberapa variasi konsentrasi. Variasi konsentrasi yang dibuat, akan berpengaruh pada diameter zona hambat yang terbentuk.

2.3. Anggapan Dasar

Kefir termasuk dalam minuman probiotik karena mengandung bakteri menguntungkan yang meningkatkan sistem flora usus dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen di usus. Menurut Gaware *et al.* (2011) kefir dapat meningkatkan pencernaan, mencegah sembelit, membersihkan usus, probiotik dan meregulasi buang air besar. Sudah ada beberapa penelitian mengenai aktivitas antibakteri susu kefir terhadap bakteri *E. coli*, seperti yang dilakukan oleh Putri *et al.* (2016) hasil dari penelitian tersebut dengan tiga susu kefir yang berbeda yaitu terlihat adanya zona hambat sebesar 14,5 ; 17,5 ; dan 17,5 mm pada konsentrasi 90%.

Tanaman jambu biji sudah sangat *familiar* di kalangan masyarakat Indonesia, khususnya pulau Jawa. Daun jambu biji memiliki berbagai manfaat, salah satunya yaitu sebagai obat tradisional pada penyakit diare yang dapat disebabkan oleh bakteri *E. coli*. Daun jambu biji sudah sering menjadi topik penelitian, salah satunya oleh Dewi *et al.* (2021) yang telah melakukan penelitian mengenai efektivitas infusum daun jambu biji (*Psidium guajava* L) sebagai anti bakteri terhadap bakteri *E. coli*. Dari hasil penelitian tersebut terlihat adanya zona hambat yang terbentuk pada

konsentrasi 50% dengan diameter sebesar 1,71 mm dan konsentasi 25% sebesar 0,73 mm

Mobarack *et al.* (2009) juga menyatakan bahwa eksudat daun jambu biji mengandung sejumlah besar senyawa fenolik, seperti flavonoid dan tanin, sehingga memiliki sifat antibakteri, mengandung lebih dari senyawa lain yaitu 6% lemak, 3% resin dan 0,4% minyak atsiri (eugenol).

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Metodologi Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Hal ini dikarenakan adanya perlakuan terhadap aktivitas susu kefir merk X dengan infusum daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dalam menghambat bakteri patogen penyebab diare yaitu *E. coli*.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Berikut ini beberapa alat yang diperlukan pada penelitian. dan terlampir pada tabel 3.1.

Tabel 3.1.Alat yang diperlukan untuk penelitian

| No. | Instrumen | Spesifikasi | Jumlah |
|-----|----------------------------|---|------------------|
| 1. | Alat gelas laboratorium | tahan panas | Secukupnya |
| 2. | Ose bulat | - | 10 buah |
| 3. | Timbangan analitik | 500 g x 0,1 g | 1 buah |
| 4. | <i>Autoclave automatic</i> | Suhu 121°C (<i>HICLAVE HVE-50</i>) | 1 buah |
| 5. | <i>Dry sterilisator</i> | Suhu 121°C | 1 buah |
| 6. | Inkubator | Suhu 37°C | 1 buah |
| 7. | Oven | <i>Memmert in 30</i> | 1 buah |
| 8. | Batang L | - | 2 buah |
| 9. | <i>Laminar air flow</i> | <i>Thermo 130 Series A2</i> | 1 buah |
| 10. | Lemari pendingin | Suhu 4-8°C | 1 buah |
| 11. | <i>Hot plate</i> | - | 1 buah |
| 12. | Bunsen | - | 1 buah |
| 13. | Cawan petri | - | 10 buah |
| 14. | Penggaris media | - | 1 buah |
| 15. | Mikropipet | (100-1000 µL) (10-100 µL) | 1 buah 1 buah |

| | | |
|-----------------------------|--|--------------------------|
| 16. Tip | 100 - 1000 μ L 10 – 100 μ L | Secukupnya Secukupnya |
| 17. Tabung Durham steril | Diameter 5 mm | 10 buah |
| 18. Pinset | - | 1 buah |

3.2.2. Bahan

Berikut ini beberapa bahan yang diperlukan pada penelitian dan terlampir pada tabel.3.2.

Tabel.3.2 Bahan yang diperlukan untuk penelitian

| No | Bahan | Spesifikasi | Jumlah |
|-----|---|---|------------|
| 1. | Susu kefir Sapi | (1) <i>Lactococcus acidophilus</i> , (2) <i>L. kefir</i> , (3) <i>L. kefirgranum</i> , (4) <i>L. parakefir</i> | 250 mL |
| 2. | Daun jambu biji | Lima daun teratas | 100 gram |
| 3. | <i>Aquadest</i> | - | Secukupnya |
| 4. | Suspensi Bakteri <i>E. coli</i> | - | Secukupnya |
| 5. | Mueller Hilton Agar | 100 mL | 3,04 gram |
| 6. | <i>Trypticase Soy Broth</i> | 100 mL | 3 gram |
| 7. | <i>Nutrient Agar</i> | 100 mL | 2,8 gram |
| 8. | <i>Eosin Methilen Blue</i> | 100 mL | 3,75 gram |
| 9. | Antibiotik <i>cloramphenicol</i> | 30 μ g | 2 buah |
| 10. | Kertas Cakram / <i>Disk</i> kosong | 6 mm | 2 buah |
| 11. | Natrium Klorida (NaCl) | 0,9% | 100 mL |
| 12. | Barium Klorida (BaCl ₂) | 1% | 100 mL |
| 13. | Asam Sulfat (H ₂ SO ₄) | 1% | 100 mL |
| 14. | Kertas saring | - | Secukupnya |
| 15. | Kertas payung | - | Secukupnya |
| 16. | Benang kasur | - | Secukupnya |

| | | |
|----------------|---|------------|
| 17. Kain kassa | - | Secukupnya |
| 18. Kapas | - | Secukupnya |

3.3. Cara.Kerja

3.3.1. Persiapan Alat

Peralatan gelas laboratorium seperti gelas kimia, erlenmeyer, kaca arloji, batang pengaduk dan cawan petri di sterilisasi terlebih dahulu menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit atau bisa juga menggunakan *Dry Sterilisator*. Prinsip kerja dari alat *Dry Sterilisator* yaitu melakukan pemanasan dengan elemen pemanas yang dapat meradiasikan gelombang inframerah dengan frekuensi tinggi. Hal ini bertujuan untuk mensterilkan alat yang akan digunakan dan membunuh mikroorganisme maupun bakteri penyebab kontaminasi.

3.3.2. Pembuatan Media Kultur (Suhartati & Virgianti, 2015)

1. Disiapkan media kultur meliputi *Trypticase Soy Broth* (TSB), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (AN) dan *Eosin Methilen Blue* (EMB)
2. Ditimbang media berbentuk serbuk (TSB : 3 gram; MHA : 3,04 gram; AN : 2,8 gram; dan EMB : 3,75 gram) dilarutkan dalam *aquadest* 100 mL,
3. Dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil sesekali diaduk sampai semua bahan larut,
4. Media kultur TSB yang sudah dipanaskan, dipipet ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL dan tutup menggunakan sumbatan,
5. *Autoclave* pada suhu 121°C tekanan 1,2 atm selama 15 menit,

6. Setelah selesai di *autoclave*, erlenmeyer yang berisi media kultur didinginkan pada suhu ruang sampai hangat kuku (40-50°C),
7. Media kultur yang sudah hangat kuku dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 7-10 mL pada *laminar air flow*,
8. Cawan petri yang berisi media kultur dibiarkan hingga mengeras kemudian dibungkus menggunakan plastik *wrap* dan kertas payung.
(Lampiran 3, gambar L.3.5)

3.3.3. Sediaan Susu Kefir

Susu kefir yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu susu kefir sapi *homemade* dengan merk X yang diproduksi pada Kota Tasikmalaya (gambar L.3.1). Komposisi dari susu kefir ini yaitu susu sapi segar yang difermentasi dengan biji kefir (*kefir grains*).

3.3.4. Pembuatan Infusum Daun Jambu Biji (Dewi, 2021)

1. Daun jambu biji yang masih muda (lima lembar daun dari ujung tangkai atau pucuk) dicuci dan dipotong – potong hingga kecil,
2. Daun jambu tersebut dikeringkan pada suhu kamar, yang terlindung dari sinar matahari langsung,
3. Daun jambu biji tersebut ditimbang sebanyak 100 gram,
4. Daun jambu biji ditumbuk hingga halus, kemudian masukkan ke dalam gelas kimia 500 mL,
5. Ditambahkan *aquadest* 100 mL lalu panaskan di atas *hot plate* hingga terbentuk infusum,

6. Daun yang sudah di rebus disaring menggunakan kertas saring, agar terpisah antara infusum dan daunnya.

(Lampiran 3, gambar L.3.2)

3.3.5. Variasi Konsentrasi

Infusum daun jambu biji di kombinasikan dengan susu kefir. Variasi konsentrasi yang dibuat yaitu perbandingan antara susu kefir dan infusum daun jambu biji menggunakan 6 variasi konsentrasi dengan total volume 1 mL (1000 μ L) yang terlampir pada tabel.3.3 dan lampiran 2 sebagai berikut :

Tabel.3.3. Variasi Konsentrasi

| Variasi | Kefir (%) | Daun Jambu (%) |
|---------|-----------|----------------|
| A | 100 | 0 |
| B | 80 | 20 |
| C | 60 | 40 |
| D | 40 | 60 |
| E | 20 | 80 |
| F | 0 | 100 |

Kontrol negatif : *Aquadest*

Kontrol positif : Antibiotik *cloramphenicol*

3.3.6. Pembuatan Larutan Standar 1 Mc Farland (Nadiarti, *et al.*, 2015)

1. Dipipet BaCl_2 1% sebanyak 0,1 mL,
2. Ditambahkan 9,9 mL H_2SO_4 1% ,
3. Kemudian disimpan di tempat yang terhindar dari cahaya matahari langsung.

(Lampiran 3, gambar L.3.4)]

3.3.7. Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli* (Handayani, et al., 2017)

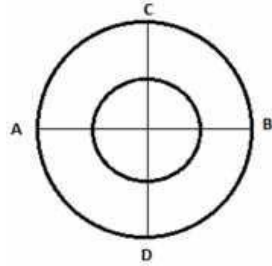
1. Dipipet 10 mL NaCl 0,9% steril ke dalam tabung reaksi steril,
 2. Suspensi dibuat dari beberapa koloni yang diambil dari media NA (Natrium Agar),
 3. Dicampurkan pada tabung reaksi sampai kekeruhan sama dengan 1 Mc Farland (dibandingkan).
- (Lampiran 3, gambar L.3.6)

3.3.8. Uji Aktivitas Antibakteri (Dewi, 2021)

1. Suspensi bakteri *E. coli* dipipet sebanyak 100 µL masukkan ke dalam MHA dan diratakan menggunakan batang L,
2. Dilubangi media dengan menggunakan tabung durham steril,
3. Dipipet 20 µL variasi konsentrasi yang sudah dibuat dan dimasukkan ke dalam sumuran (Kontrol negatif menggunakan *aquadest* dan kontrol positif menggunakan antibiotik *cloramphenicol*),
4. Diberi identitas pada setiap media (variasi konsentrasi dan tanggal pembuatan),
5. Media ditutup dengan menggunakan plastik wrap dan bungkus menggunakan kertas payung,
6. Media tersebut di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam,
7. Setelah itu, amati zona hambat yang terbentuk dan diukur menggunakan penggaris.

(Lampiran 3, gambar L.3.7)

Menurut Audies (2015) cara pengukuran zona hambat dapat dilihat pada gambar 3.1 berikut ini :



Keterangan :
Pengukuran I = AB
Pengukuran II = CD

Perhitungan Zona Hambat :
$$\frac{\text{Pengukuran I} + \text{Pengukuran II}}{2}$$

Gambar. 3.1 Cara Pengukuran Zona Hambat
(Sumber : Audies, 2015)

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menguji aktivitas dari susu kefir, infusum daun jambu biji dan kombinasi keduanya. Susu kefir yang digunakan pada penelitian ini merupakan susu kefir yang di produksi secara rumahan (*homemade*) di daerah Tasikmalaya. Penentuan sampel pada penelitian ini berdasarkan jumlah pembelian terbanyak susu kefir pada dua *e-commers* di kota Tasikmalaya.

Daun jambu biji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu lima helai dari ujung dan diperoleh dari pekarangan rumah di daerah Tasikmalaya. Daun jambu biji yang diujikan berupa sediaan infusum. Pembuatan infusum dari daun jambu biji bertujuan untuk menguji daya hambat infusum tersebut terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan di kombinasikan dengan susu kefir.

Menurut Vinderola *et al* (2005) dan Mobarack *et al* (2009) susu kefir dan infusum daun jambu sama – sama memiliki kandungan sebagai antibakteri. Waluyo (2004) menjelaskan definisi antibakteri atau antimikroba adalah zat kimia yang diturunkan/dibentuk dan diproduksi oleh mikroorganisme yang memiliki kemampuan walaupun dalam jumlah kecil untuk menghambat aktivitas mikroorganisme lain. Senyawa antimikroba dapat bersifat bakteristatik, bakterisida, dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

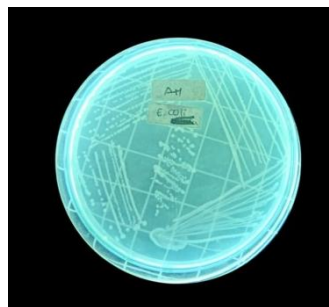
Bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu *E. coli*. Sebelum digunakan pada penelitian, bakteri tersebut telah dilakukan uji konfirmasi dengan mengkultur pada media *Eosin Methilen Blue Agar* (EMB). Media EMB digunakan untuk uji konfirmasi karena media ini termasuk ke dalam media selektif dan *diferential* untuk bakteri *E. coli*. Hasil yang diperoleh yaitu terbentuknya koloni berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, berwarna hijau metalik seperti pada gambar 4.1. Koloni hijau metalik yang tumbuh dalam

media EMB dapat dianggap sebagai *E. coli*. Bakteri ini membentuk koloni logam karena reaksi bakteri dengan metilen biru (Prawesthirini *et al.*, 2009).



Gambar 4.1 Hasil kultur bakteri *E. coli* pada media EMB

Peremajaan bakteri uji dilakukan dengan cara mengambil koloni dari media TSB (penyubur) maupun langsung dari koloni pada media EMB dan di kultur pada media NA dengan menggunakan ose. Pada media AN didapatkan hasil koloni berbentuk bulat, berwarna putih, diameter 1-2 mm yang dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar.4.2. Hasil kultur bakteri *E. coli* pada media NA

Setelah dilakukan peremajaan pada bakteri uji di media NA. Beberapa koloni yang terbentuk di ambil untuk dibuat suspensi bakteri dan dihomogenkan pada NaCl steril sebanyak 10 mL. Pada gambar 4.3 suspensi yang telah dibuat, dibandingkan dengan standar yaitu 1 Mc Farland. Menurut Arimbi (2017) larutan 1 Mc Farland biasanya digunakan untuk membandingkan kekeruhan kultur bakteri dalam media cair dengan densitas $3,0 \times 10^8$ CFU/mL. Standar ini membentuk dasar untuk percobaan pada studi kerentanan antimikroba dan hasil kultur bakteri. Homogenkan standard

Mc Farland dengan baik sebelum digunakan dan tabung harus ditutup rapat untuk mencegah penguapan.



Gambar 4.3 Membandingkan suspensi yang dibuat dengan 1 Mc Farland (Tabung reaksi (a) Suspensi bakteri *E. coli* dan (b) Standar 1 Mc Farland)

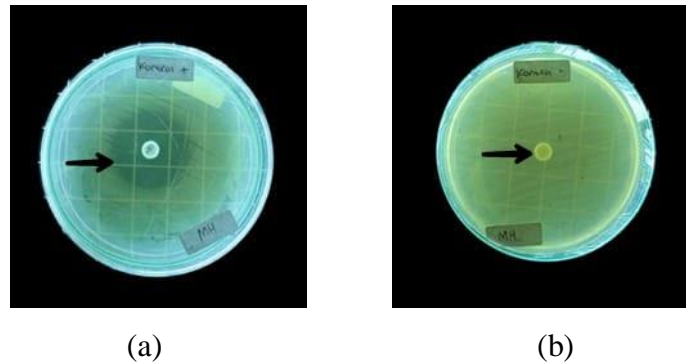
Penelitian ini menggunakan 6 variasi konsentrasi (tabel 3.3) dengan metode sumuran. Didapatkan hasil penelitian berupa zona hambat yang terbentuk dari beberapa variasi konsentrasi kombinasi antara susu kefir dengan infusum daun jambu (gambar L.3.8). Perhitungan diameter awal terlampir pada lampiran 2 dan tabel.4.1. menunjukkan hasil diameter akhir zona.hambat pada enam variasi konsentrasi dan kontrol positif maupun negatif.

Tabel.4.1 Diameter Akhir Zona.Hambat Pada 6 Variasi Konsentrasi

| ULANGAN | DIAMETER AKHIR (mm) | | | | | | KONTROL | |
|-------------|---------------------|---|---|-----|-----|----|---------|---------|
| | A | B | C | D | E | F | NEGATIF | POSITIF |
| Ke - 1 | 5 | 4 | 5 | 4 | 3 | 8 | 0 | 24 |
| Ke - 2 | 3 | 6 | 5 | 3 | 4 | 12 | 0 | 26 |
| Rata - Rata | 4 | 5 | 5 | 3,5 | 3,5 | 10 | 0 | 25 |

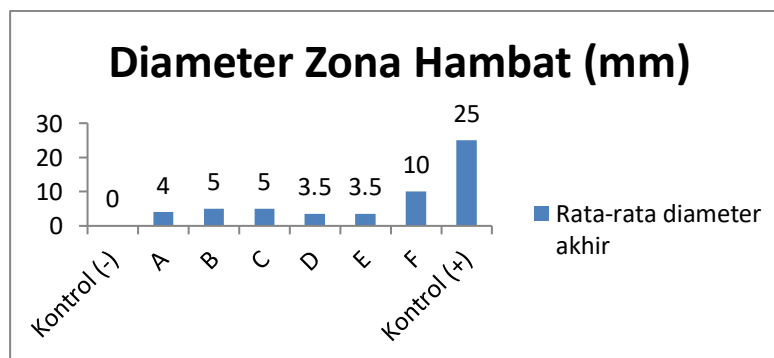
Diameter akhir berdasarkan tabel 4.1 merupakan hasil dari perhitungan zona hambat seperti pada gambar 3.1 yang sudah dikurangi dengan diameter sumuran. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu antibiotik *cloramphenicol*, rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 25 mm seperti yang dapat dilihat pada gambar 4.4 (a). Hal

ini menunjukkan bahwa antibiotik tersebut sensitif menurut CLSI (tabel 2.3) terhadap bakteri uji yang digunakan, yaitu *E. coli*. Pada kontrol negatif tidak didapatkan zona hambat seperti yang dapat dilihat pada gambar 4.4 (b) karena *aquadest* steril tidak mempunyai kandungan antibakteri.



Gambar 4.4. Diameter zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif (a) dan kontrol negatif (b)

Klasifikasi respon menghambat pertumbuhan bakteri dilihat berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk. Menurut Lewis (2005) penyebab terbentuk hambatan adalah karena adanya senyawa yang mengganggu integritas membran sel, menghambat kerja enzim, menghambat sintesis protein dan asam nukleat, serta menghambat sintesis dinding sel. Gambar 4.5 memperlihatkan grafik dari rata – rata diameter akhir zona hambat yang terbentuk. Menurut Jannata *et al.* (2014) pada tabel 4.2. respon pertumbuhan variasi F termasuk ke dalam respon yang kuat, variasi B dan C termasuk ke dalam variasi sedang, dan variasi A, D dan E termasuk ke dalam variasi lemah.



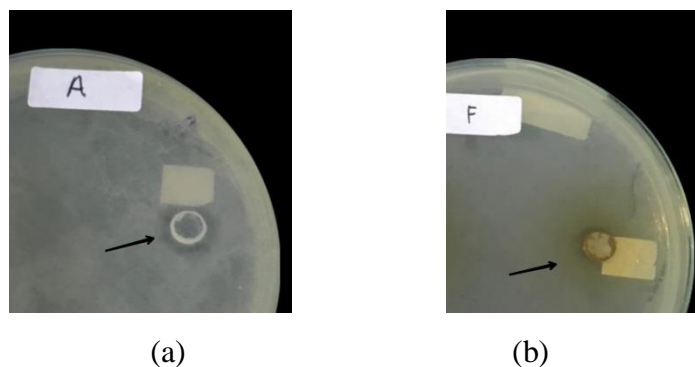
Gambar.4.5 Grafik Diameter Rata – Rata Zona. Hambat

Tabel 4.2. Klasifikasi Diameter Zona Hambat dan Respon Hambat
Pertumbuhan Bakteri

| DIAMETER ZONA HAMBAT | RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN |
|----------------------|-----------------------------|
| ≥ 20 mm | Sangat kuat |
| 10-20 mm | Kuat |
| 5-10 mm | Sedang |
| ≤ 5 mm | Lemah |

Sumber : Jannata *et al.*, (2014)

Variasi A (susu kefir) dan variasi F (infusum daun jambu biji) memiliki sifat antibakteri yang berbeda. Perbedaan sifat antibakteri ini terlihat dari warna dan ada tidaknya koloni pada zona hambat yang terbentuk. Sifat antibakteri pada susu kefir yaitu *bakteriosidal*, zona hambat yang terbentuk tampak bening dan tidak terdapat koloni bakteri uji yang tumbuh (gambar 4.6.a). Sedangkan sifat antibakteri infusum daun jambu biji yaitu *bakteriostatik*, zona hambat yang terbentuk tidak jernih dan masih terdapat koloni bakteri uji namun, berukuran lebih kecil dan jarang (gambar 4.6.b). Menurut Madigan (2000) pengertian *bakteriosidal* yaitu memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel sedangkan, *bakteriostatik* memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak membunuh.



Gambar 4.6 Warna zona hambat susu kefir bening (a) dan infusum daun jambu biji tidak jernih (kecoklatan) (b)

Kandungan antibakteri pada susu kefir yaitu berada pada beberapa jenis bakteri probiotik yang nantinya akan membunuh atau melemahkan bakteri patogen. Menurut Safitri & Swarastuti (2013) Komposisi butir kefir (*kefir grain*) bervariasi, sehingga produk akhir kefir dapat memiliki aroma yang berbeda. Jenis mikroorganisme yang terkandung dalam biji kefir antara lain *Lactococcus acidophilus*, *L. kefir*, *L. kefirgranum*, *L. parakefia*, dan terlibat dalam pembentukan asam laktat dari laktosa. *Lactobacillus kefiranofaciens* sebagai pembentuk lendir (*kefir grain matrix*). Ini membentuk diasetil dari asam sitrat *Leuconostoc* dan kefir *Candida*, kemudian etanol dan karbon dioksida dari laktosa. Sedangkan kandungan antibakteri pada daun jambu biji diantaranya tanin, flavonoid dan saponin (Gaitedi & Ngadiani, 2014).

Salah satu senyawa aktif yang terdapat pada jambu biji adalah tanin. Tanin merupakan komponen utama daun jambu biji karena kandungan taninnya lebih tinggi dari pada kandungan senyawanya. Menurut Ajizah (2004), tanin memiliki efek antibakteri melalui pengendapan protein. Efek antibakteri tanin meliputi reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan gangguan atau inaktivasi fungsi materi genetik.

Menurut Gaitedi & Ngadiani (2014), flavonoid bersifat lipofilik dan dapat merusak membran sel bakteri. Senyawa tanin, pada gilirannya, diyakini terkait dengan kemampuannya untuk menonaktifkan adhesi mikroba, enzim, dan transportasi protein di dalam membran sel. Selain itu, terpen atau terpenoid diketahui efektif melawan bakteri, jamur, virus, dan protozoa.

Saponin mengerahkan efek antibakteri mereka dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri dan menyebabkan lisis sel bakteri. Oleh karena itu, mekanisme kerja saponin termasuk dalam golongan antibakteri, yaitu menghambat permeabilitas membran sel mikroba, merusak membran sel dan menyebabkan terlepasnya berbagai komponen penting (Kurniawati, 2006).

Berdasarkan rumusan masalah yang terdapat pada penelitian ini, tidak didapatkan hasil yang sinergis pada kombinasi antara susu kefir dan infusum daun jambu biji. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.1 dan gambar 4.5 mengenai grafik rata – rata diameter zona hambat pada beberapa variasi yang telah diuji, tidak ada peningkatan zona hambat yang signifikan pada variasi kombinasi. Pengaruh tidak didapatkan hasil yang sinergis pada penelitian ini bisa terjadi karena adanya kandungan senyawa aktif dari infusum daun jambu biji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri probiotik pada susu kefir sehingga melemahkan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kombinasi antara susu kefir dengan infusum daun jambu biji tidak bersifat sinergis dalam menghambat bakteri uji *E. coli*.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang akan penulis sampaikan kepada peneliti yang lain yaitu :

- a. Dapat mencoba mengganti infusum daun jambu biji dengan infusum tanaman tradisional yang lain.
- b. Dapat mengganti bakteri yang diujikan dengan bakteri patogen yang lain.
- c. Dapat mengubah variasi konsentrasi kombinasi dengan variasi konsentrasi yang lain.
- d. Dapat melakukan uji penelitian lanjutan yang berkaitan dengan hubungan antara aktivitas susu kefir dengan senyawa aktif antibakteri.