

Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jambu Air (*Syzygium samangarensis*) terhadap *Enterohemorrhagic Escherichia coli* strain ATCC 35218 dan ATCC 45894 Penyebab Diare

SKRIPSI



**Gregorian Sintia Tika Dewa
31180231**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2023**

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Gregorian Sintia Tika Dewa
NIM : 31180231
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAUN JAMBU AIR (*SYZYGIUM SAMANGARANSE*) TERHADAP KELOMPOK *ENTEROHEMORRHAGIC ESHCHERICHIA COLI* STRAIN ATCC 35218 DAN ATCC 45894 PENYEBAB DIARE”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 9 Februari 2023

Yang menyatakan



(Gregorian Sintia Tika Dewa)
NIM.31180231

DUTA WACANA

Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jambu Air (*Syzygium samangarensis*) terhadap *Enterohemorrhagic Escherichia coli* strain ATCC 35218 dan ATCC 45894 Penyebab Diare

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



Gregorian Sintia Tika Dewa

31180231

DUTA WACANA

Fakultas Bioteknologi

Program Studi Biologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2023

Lembar Pengesahan Naskah Skripsi

Skripsi dengan judul:

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAUN JAMBU AIR (*SYZYGIUM SAMANGARANSE*) TERHADAP *ENTEROHEMORRHAGIC ESCHERICHIA COLI* STRAIN ATCC 35214 DAN ATCC 45894 PENYEBAB DIARE

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

GREGORIAN SINTIA TIKA DEWA

31180231




dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal 28 Januari 2023

Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Prof. Dr. Kris Herawan Timotius
(Dosen Penguji I/Ketua Tim)
2. Dr. Dhira Satwika, M. Sc.
(Dosen Pembimbing I/Anggota Tim)
3. Tri Yahya Budiarmo, S. Si, MP.
(Dosen Pembimbing II/Anggota Tim)

: 
: 
: 

Yogyakarta, 9 Februari 2023

Disahkan Oleh:

Dekan,

Ketua Program Studi,



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

NIK: 904 E146

Dwi Adityarini, S. Si., M. Biotech, M.Sc

NIK: 214 E 556

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Uji Aktivitas Daun Jambu Air (*Syzygium samangarensense*) terhadap *Enterohemorrhagic Escherichia coli* strain ATCC 35218 dan ATCC 45894 Penyebab Diare

Nama Mahasiswa : Gregorian Sintia Tika Dewa

Nomor Induk Mahasiswa : 31180231

Hari/Tanggal Ujian : Sabtu, 28 Januari 2023

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dr. Dhira Satwika, M. Sc.

Tri Yahya Budiarmo, S. Si, MP

NIK : 904 E 146

NIK: 934 E 209

Ketua Program Studi Biologi



Dwi Adityarini, S. Si., M. Biotech., M. Sc

NIK: 214 E 556

LEMBAR PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Gregorian Sintia Tika Dewa

NIM : 31180231

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jambu Air (*Syzygium samangarens*) terhadap *Enterohemorrhagic Escherichia coli* strain ATCC 35218 dan ATCC 45894 Penyebab Diare ”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 18 Januari 2023



Gregorian Sintia Tika Dewa

NIM : 31180231

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan atas segala penyertaan, berkat, dan kasih karuniaNya, sehingga skripsi dengan judul **Uji Aktivitas Daun Jambu Air (*Syzygium samangarensis*) terhadap *Enterohemorrhagic Escherichia coli* strain ATCC 35218 dan ATCC 45894 Penyebab Diare** dapat dilaksanakan dan diselesaikan dengan baik.

Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana bagi mahasiswa Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta. Skripsi ini dikerjakan dengan banyak bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Dalam penulisan skripsi ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

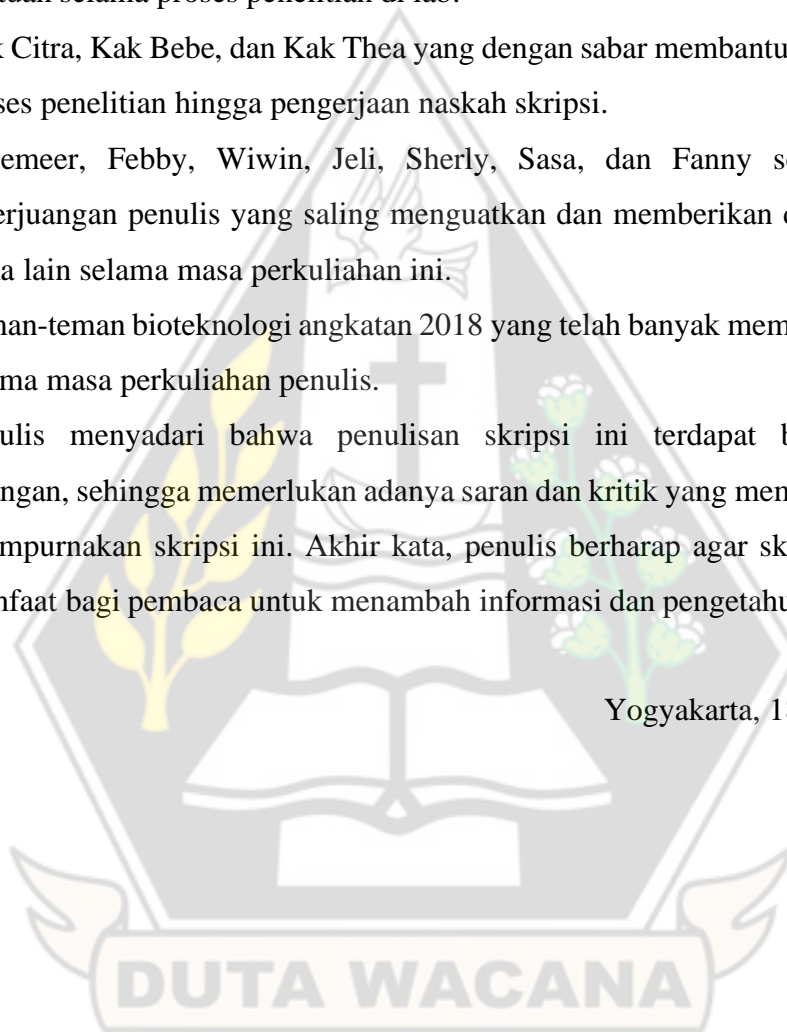
1. Tuhan Yesus Kristus yang telah menyertai penulis selama penelitian dan pengerjaan naskah skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik dan seturut kehendak-Nya.
2. Bapak Yulius Minggu Kaki dan Mama Maria Ludgardis M. Wora selaku orang tua penulis yang selalu mendoakan serta memberikan dukungan selama perjalanan hidup penulis secara khusus dalam pengerjaan skripsi ini
3. Bapak Dr. Dhira Satwika, M.Sc. dan Bapak Tri Yahya Budiarmo, S.Si, MP. selaku dosen pembimbing utama dan kedua penulis yang telah memberikan banyak bantuan dan masukan kepada penulis selama proses penelitian hingga penulisan naskah skripsi.
4. Prof. Dr. Kris Herawan Timotius selaku dosen penguji penulis yang sudah memberikan masukan dan saran kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
5. Segenap dosen, staf, dan laboran (Pak Hari, Pak Setyo, dan Kak Dewi) yang telah berpartisipasi dalam membantu penulis selama penelitian dan pengerjaan naskah skripsi.
6. Kakak Sonia Dewa, Lidwin Dewa, dan adik Nadia Dewa yang senantiasa memberikan motivasi dan bantuan selama pengerjaan skripsi.

7. Kezia Y. I dan Elva Miza Tr. selaku sahabat dan keluarga kedua penulis selama di Jogja yang telah banyak membantu sejak awal perkuliahan hingga terselesainya skripsi ini.
8. Teman-teman laboratorium bioteknologi dasar I (Febby, Pheppy, Ribka, Monic, Pat, Vio, Ezra, Yemi, Ino, dan Devi) yang telah memberikan semangat dan bantuan selama proses penelitian di lab.
9. Kak Citra, Kak Bebe, dan Kak Thea yang dengan sabar membantu penulis dalam proses penelitian hingga pengerjaan naskah skripsi.
10. Redemeer, Febby, Wiwin, Jeli, Sherly, Sasa, dan Fanny selaku sahabat seperjuangan penulis yang saling menguatkan dan memberikan dukungan satu sama lain selama masa perkuliahan ini.
11. Teman-teman bioteknologi angkatan 2018 yang telah banyak memberikan warna selama masa perkuliahan penulis.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini terdapat banyak sekali kekurangan, sehingga memerlukan adanya saran dan kritik yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca untuk menambah informasi dan pengetahuan.

Yogyakarta, 18 Januari 2023

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN JUDUL BAGIAN DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN INTEGRITAS	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Escherichia coli</i>	4
2.2 Gen <i>stx 1</i> dan <i>eae</i>	6
2.2.1 Gen <i>stx 1</i>	6
2.2.2 Gen <i>eae</i>	6
2.3 Jambu air (<i>Syzygium samangarens</i>)	7
2.3.1 Morfologi tanaman <i>Syzygium samangarens</i>	7
2.3.2 Kandungan senyawa kimia daun <i>Syzygium samangarens</i>	8
2.3.3 Karakteristik daun muda dan tua	10
BAB III METODE PENELITIAN	12

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2 Alat dan Bahan	12
3.3 Cara Kerja	12
3.3.1 Deteksi gen <i>stx</i> 1 dan <i>eae</i> dengan metode PCR	12
1. Isolasi DNA	12
2. Elektroforesis DNA	13
3. Amplifikasi DNA	14
4. Elektroforesis gen <i>stx</i> 1 dan <i>eae</i>	14
5. Sekuensing	15
3.3.2 Pengambilan dan preparasi sampel daun <i>Syzygium samangareense</i>	15
1. Pengambilan daun <i>Syzygium samangareense</i>	15
2. Preparasi daun <i>Syzygium samangareense</i>	16
3.3.3 Ekstraksi sampel daun <i>Syzygium samangareense</i>	16
3.3.4 Skrinning Fitokimia	16
3.3.5 Pembuatan seri konsentrasi	17
3.3.6 Uji aktivitas antibakteri	17
1. Resuspensi bakteri	17
2. Uji aktivitas antibakteri	17
3.3.7 Uji MIC dan MBC	18
1. Uji MIC/ <i>Minimum Inhibitory</i>	18
2. Uji MBC/ <i>Minimum Bactericidal Concentration</i>	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Deteksi gen <i>stx</i> 1 dan <i>eae</i> pada <i>E. coli</i> ATCC 35218 dan 45894	20
1. Isolasi DNA <i>E. coli</i> ATCC 35218 dan ATCC 45894	20
2. Amplifikasi DNA	21
3. Elektroforesis gen <i>stx</i> 1 dan <i>eae</i>	22
4. Sekuensing dan analisis data	23
4.2 Preparasi dan ekstraksi daun jambu air (<i>Syzygium samangareense</i>)	29
4.3 Skrinning fitokimia	30

4.4 Uji aktivitas antibakteri	34
4.5 MIC dan MBC	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	50



DAFTAR TABEL

Nomor Tabel	Judul Tabel	Halaman
2.1	Serotipe dan gen target yang digunakan mendeteksi kelompok <i>Diarrheagenic E. coli</i>	5
2.2	Kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun jambu air (<i>Syzygium samangarens</i>)	8
4.1	Pengukuran zona hambat ekstrak daun jambu air dengan pelarut etanol	21
4.1	Hasil BLAST Isolat bakteri 1 (<i>E. coli</i> ATCC 35218) dan Isolat 3 (ATCC 45894) yang Positif Terhadap Gen <i>eae</i>	24
4.2	Hasil BLAST Isolat bakteri 2 (<i>E. coli</i> ATCC 35218) dan Isolat 4 (ATCC 45894) yang Positif Terhadap Gen <i>stx 1</i>	25
4.3	Hasil GC-MS ekstrak etanol daun jambu air muda	31
4.4	Hasil GC-MS ekstrak etanol daun jambu air tua	32
4.5	Perbedaan aktivitas biologis senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol daun jambu air muda dan tua.	33
4.6	Diameter zona hambat ekstrak etanol daun jambu air muda dan tua terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 dan ATCC 45894 (mm)	35
4.7	Hasil spektrofotometri MIC ekstrak etanol daun jambu air tua terhadap <i>E. coli</i> ATCC 35218 dan ATCC 45894.	38

DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Judul Gambar	Halaman
2.1	Morfologi <i>Escherichia coli</i> yang berbentuk basil	4
2.2	Pohon Jambu Air (<i>Syzygium samanganse</i>)	7
4.1	Hasil visualisasi elektroforesis bakteri <i>E.coli</i> ATCC 35218 dan ATCC 45894	21
4.2	Hasil visualisasi elektroforesis gen <i>stx1</i> dan <i>eae</i>	22
4.3	Pohon Filogenetik Isolat bakteri 1 (<i>E. coli</i> ATCC 35218) dan Isolat 3 (ATCC 45894) yang Positif Terhadap Gen <i>eae</i>	27
4.4	Pohon Filogenetik Isolat bakteri 2 (<i>E. coli</i> ATCC 35218) dan Isolat 4 (ATCC 45894) yang Positif Terhadap Gen <i>stx1</i>	29
4.5	Kromatogram hasil GCMS ekstrak etanol daun jambu air muda	31
4.6	Kromatogram hasil GCMS ekstrak etanol daun jambu air tua	33
4.7	Hasil MBC bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	39
4.8	Hasil MBC bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 45894	39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul Lampiran	Halaman
1	Hasil blast isolat 1 (<i>E. coli</i> ATCC 35218) dan isolat 3 (<i>E. coli</i> ATCC 45894) yang positif terhadap gen <i>eae</i>	49
2	Hasil blast isolat 2 (<i>E. coli</i> ATCC 35218) dan isolat4 (<i>E. coli</i> ATCC 45894) yang positif terhadap gen <i>eae</i>	50
3	Pengambilan dan preparasi daun jambu air (<i>Syzygium samangarens</i>)	50
4	Ekstraksi daun jambu air (<i>Syzygium samangarens</i>) dengan etanol 70%	51
5	Hasil GC-MS ekstrak etanol daun jambu air (<i>Syzygium samangarens</i>) muda dan tua.	51
6	Zona hambat ekstrak etanol daun jambu air tua dan muda terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 dan ATCC 45894	52
7	Uji MIC ekstrak etanol daun jambu air tua terhadap <i>E. coli</i> ATCC 35218 dan ATCC 45894	54

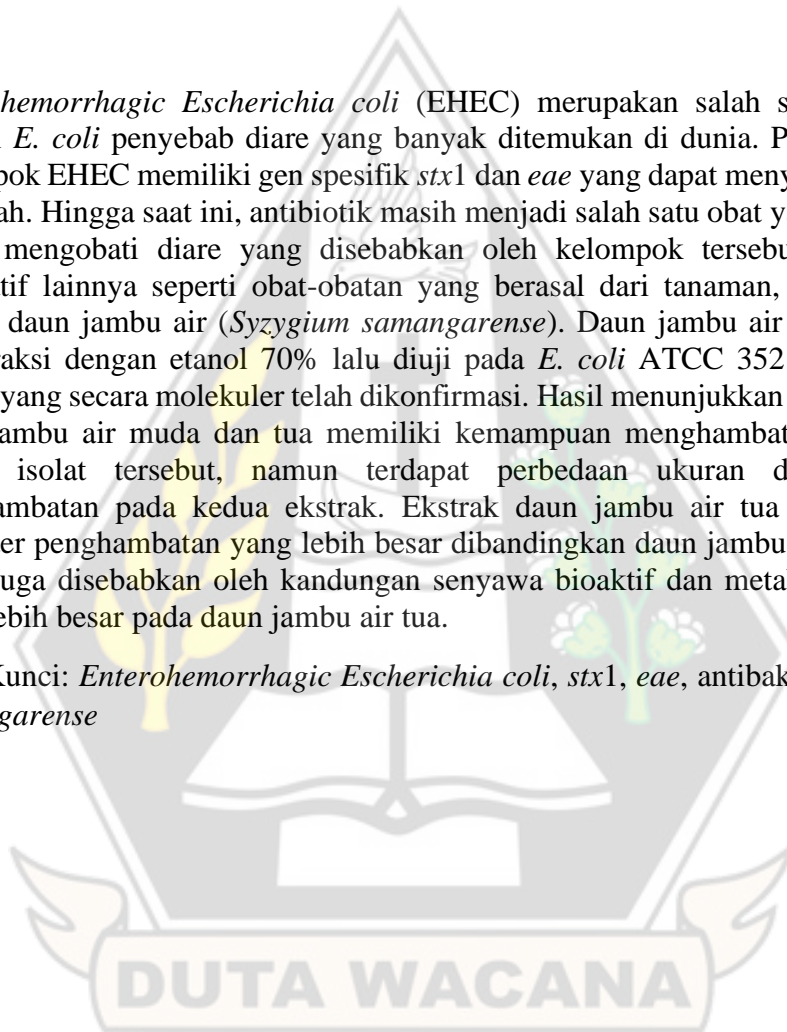
ABSTRAK

Uji Aktivitas Antibakteri Daun Jambu Air (*Syzygium samangarens*) terhadap *Enterohemorrhagic Escherichia coli* strain ATCC 35218 dan ATCC 45894 Penyebab Diare

GREGORIAN SINTIA TIKA DEWA

Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) merupakan salah satu kelompok bakteri *E. coli* penyebab diare yang banyak ditemukan di dunia. Pada umumnya kelompok EHEC memiliki gen spesifik *stx1* dan *eae* yang dapat menyebabkan diare berdarah. Hingga saat ini, antibiotik masih menjadi salah satu obat yang digunakan untuk mengobati diare yang disebabkan oleh kelompok tersebut. Diperlukan alternatif lainnya seperti obat-obatan yang berasal dari tanaman, salah satunya adalah daun jambu air (*Syzygium samangarens*). Daun jambu air tua dan muda diekstraksi dengan etanol 70% lalu diuji pada *E. coli* ATCC 35218 dan ATCC 45894 yang secara molekuler telah dikonfirmasi. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu air muda dan tua memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kedua isolat tersebut, namun terdapat perbedaan ukuran diameter zona penghambatan pada kedua ekstrak. Ekstrak daun jambu air tua menghasilkan diameter penghambatan yang lebih besar dibandingkan daun jambu air muda. Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang lebih besar pada daun jambu air tua.

Kata Kunci: *Enterohemorrhagic Escherichia coli*, *stx1*, *eae*, antibakteri, *Syzygium samangarens*



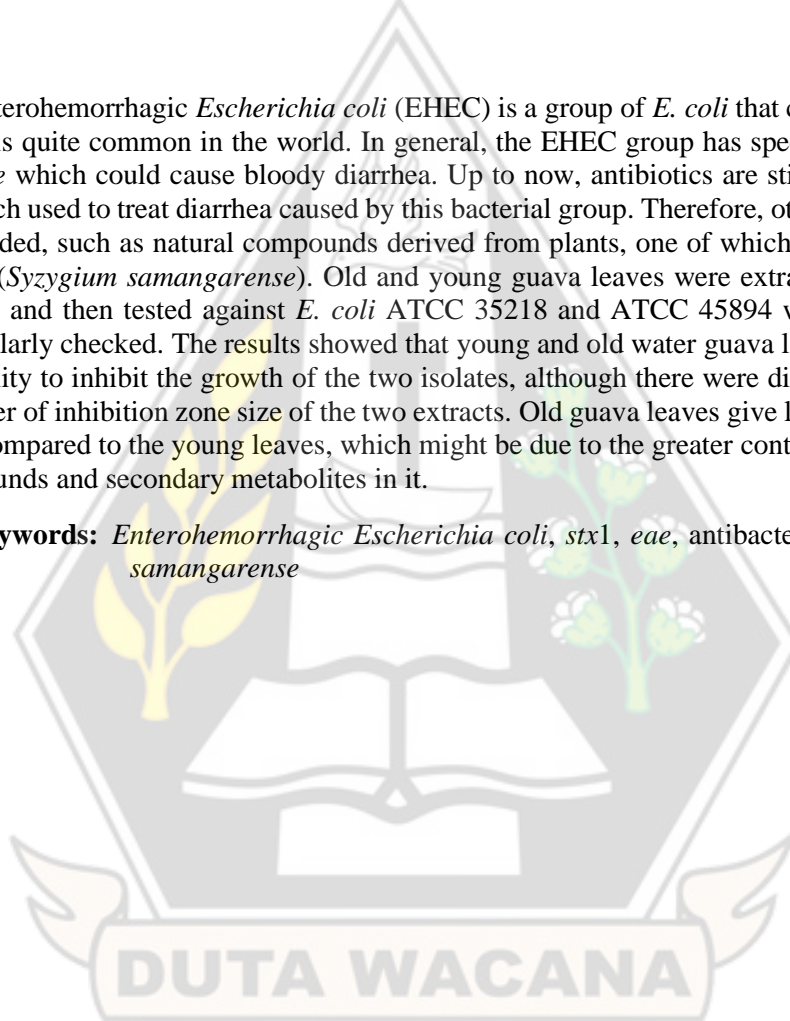
ABSTRACT

Antibacterial Activity Test of Water Apple Leaves (*Syzygium samarangense*) against Diarrhea causing Enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains ATCC 35218 and ATCC 45894

GREGORIAN SINTIA TIKA DEWA

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) is a group of *E. coli* that causes diarrhea, which is quite common in the world. In general, the EHEC group has specific genes *stx1* and *eae* which could cause bloody diarrhea. Up to now, antibiotics are still the preferred approach used to treat diarrhea caused by this bacterial group. Therefore, other alternatives are needed, such as natural compounds derived from plants, one of which is water guava leaves (*Syzygium samangarensis*). Old and young guava leaves were extracted with 70% ethanol and then tested against *E. coli* ATCC 35218 and ATCC 45894 which had been molecularly checked. The results showed that young and old water guava leaf extracts had the ability to inhibit the growth of the two isolates, although there were differences in the diameter of inhibition zone size of the two extracts. Old guava leaves give larger inhibition zone compared to the young leaves, which might be due to the greater content of bioactive compounds and secondary metabolites in it.

Keywords: *Enterohemorrhagic Escherichia coli*, *stx1*, *eae*, antibacterial, *Syzygium samangarensis*



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Escherichia coli merupakan salah satu jenis bakteri gram negatif yang dapat bersifat patogen bagi manusia jika jumlahnya meningkat pada saluran pencernaan. Bakteri ini dapat berkembangbiak pada situasi aerob dan anaerob fakultatif, selain itu bakteri ini dapat ditemukan pada makanan, minuman, dan kotoran makhluk hidup. Salah satu jenis *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan dan berujung pada diare adalah *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC). Hal tersebut dapat disebabkan karena golongan bakteri tersebut memiliki gen virulen seperti *stx1* dan *eae*. Di Indonesia, diare termasuk kedalam salah satu penyakit dengan tingkat kematian ke-13 setelah pneumonia dan TBC, pengobatan diare pada umumnya masih menggunakan antibiotik seperti *ciprofloxacin* dan *cefixime*. Antibiotik sendiri haruslah digunakan secara tepat dan sesuai, karena jika tidak akan menimbulkan masalah kesehatan lain yang lebih serius. Menurut Frieden (2013), jumlah pasien meninggal yang disebabkan oleh resistensi antibiotik mencapai 23.000 jiwa di setiap tahunnya. Berdasarkan hal tersebut, masih diperlukan agen antibiotik yang berasal dari tanaman, karena diketahui memiliki efek resistensi yang sedikit lebih rendah.

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki cukup banyak keanekaragaman hayati, seperti tanaman tingkat rendah dan tinggi. Saat ini, terdapat 8.000 jenis keanekaragaman hayati yang telah diidentifikasi, dan dari total tersebut terdapat sekitar 940 jenis tanaman yang memiliki kemampuan mengobati berbagai penyakit dan telah digunakan oleh masyarakat setempat secara turun temurun sebagai obat tradisional. Contoh tanaman yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah jambu air (*Syzygium samangarense*).

Jambu air (*Syzygium samangarense*) merupakan salah satu tanaman tingkat tinggi yang berasal dari kawasan Asia Tenggara. Tanaman ini banyak

dikenal oleh masyarakat dan dapat ditemukan di hampir seluruh wilayah Indonesia. Menurut Sunarjono (2013), angka produksi jambu air di Indonesia pernah mencapai 102.542 ton di tahun 2012. Bagian dari tanaman jambu air yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif terhadap penyakit diare adalah daunnya. Hal tersebut dikarenakan daun jambu air memiliki beberapa jenis kandungan metabolit sekunder seperti tannin, flavonoid, fenolik, dan terpenoid (Palanisamy, *et al.*, 2011). Kandungan senyawa kimia tersebut dipercaya memiliki sifat antibakteri yang dapat merusak membran sel bakteri (Rohyani, *et al.*, 2015). Daun muda dan daun tua pada tanaman memiliki morfologi dan karakteristik yang berbeda, hal tersebut berpengaruh terhadap total senyawa aktif yang terdapat di dalamnya. Pernyataan tersebut juga didukung oleh salah satu penelitian tentang daun kersen tua yang memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Menurut Angriani, *et al.*, (2019), kandungan senyawa fenolik yang terdapat dalam daun kersen tua memiliki jumlah yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan daun muda.

Penggunaan daun jambu air dalam dunia kesehatan masih terbilang cukup sedikit. Hal tersebut dikarenakan kurangnya pengetahuan dan literasi tentang manfaat dan kandungan yang terdapat dalam daun jambu air. Adapun tujuan dari penelitian yang dilakukan ini adalah untuk mengetahui pengaruh daun jambu air (*Syzygium samangarensense*) muda dan tua terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 35218 dan ATCC 45894 yang diduga dapat menyebabkan penyakit diare, sehingga nantinya pemanfaatan daun jambu air dalam dunia kesehatan dapat dilakukan dengan lebih efisien.

1.2 Rumusan Masalah

Kemampuan antibakteri daun jambu air dalhari merah (*Syzygium samangarensense*) terhadap kelompok bakteri *Escherichia coli* yang memiliki gen *stx 1* dan *eae* (EHEC) penyebab diare saat ini belum dilakukan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari daun jambu air jenis dalhari merah (*Syzygium samangareense*) terhadap kelompok *E. coli* EHEC penyebab diare.

1.4 Manfaat

1. Untuk peneliti

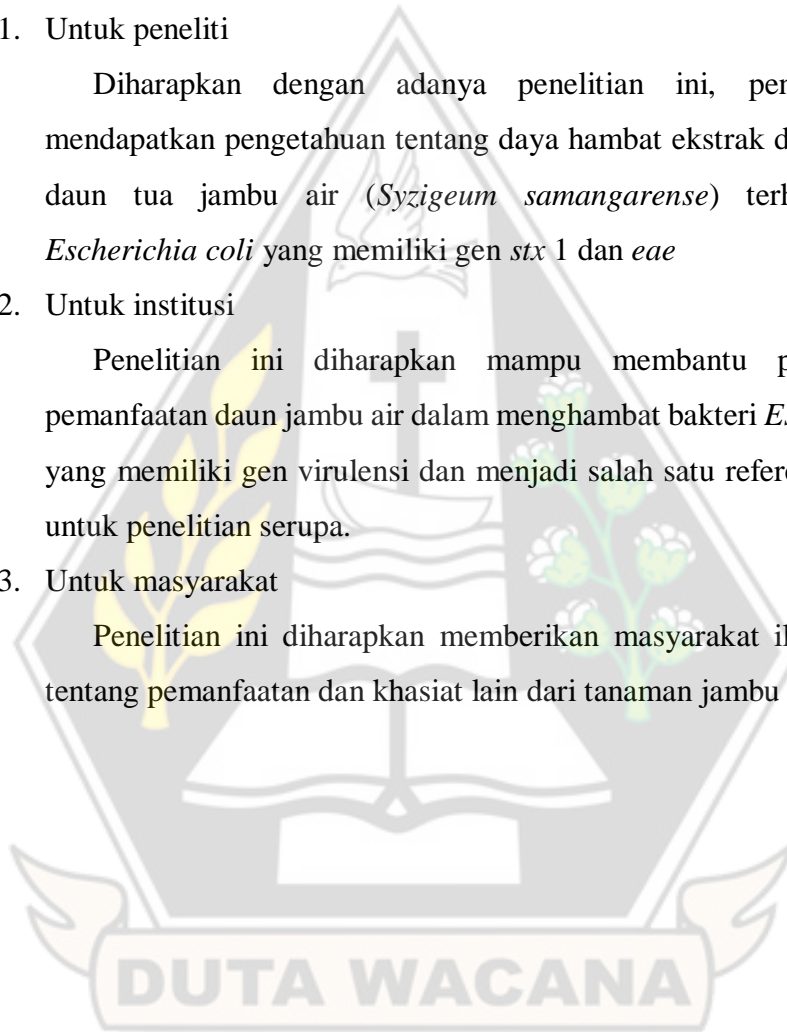
Diharapkan dengan adanya penelitian ini, peneliti mampu mendapatkan pengetahuan tentang daya hambat ekstrak daun muda dan daun tua jambu air (*Syzygium samangareense*) terhadap bakteri *Escherichia coli* yang memiliki gen *stx 1* dan *eae*

2. Untuk institusi

Penelitian ini diharapkan mampu membantu pengembangan pemanfaatan daun jambu air dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* yang memiliki gen virulensi dan menjadi salah satu referensi tambahan untuk penelitian serupa.

3. Untuk masyarakat

Penelitian ini diharapkan memberikan masyarakat ilmu tambahan tentang pemanfaatan dan khasiat lain dari tanaman jambu air.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium samangarensis*) daun muda dan tua memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan kelompok bakteri *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) strain ATCC 35218 dan ATCC 45894 yang memiliki gen *stx 1* dan *eae* penyebab diare. Dari kedua ekstrak yang digunakan, daun jambu air tua memiliki kemampuan yang sedikit lebih besar dari daun jambu air muda dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 35218 dan ATCC 45894. Hal tersebut dikarenakan kandungan senyawa bioaktif dan metabolit sekunder pada daun jambu air tua memiliki jumlah yang lebih besar dibandingkan daun jambu air muda.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang kemampuan ekstrak etanol daun jambu air tua (*Syzygium samangarensis*) dalam menghambat pertumbuhan kelompok bakteri *E. coli* penyebab diare lainnya (*Diarrheagenic Escherichia coli*) seperti ETEC (*Enterotoksigenik E. coli*), EIEC (*Enteroinvasif E. coli*), dan EAEC (*Enterogregatif E. coli*).

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N. W., Afriastini, M., & Maulida, Y. (2014). Potensi asam lemak dari mikroalga *Nannochloropsis* sp sebagai antioksidan dan antibakteri. *Proceeding Biology Education Conference*, 11(1), 149-155.
- Agustini, N. W., Kusmiati, & Handayani, D. (2017). Aktivitas antibakteri dan identifikasi senyawa kimia asam lemak dari mikroalga *Lyngbya* sp. *J. Biopropal Industri*, 8(2), 99-107.
- Andany, M. A., Freire, N. C., Filgueira, M. S., Fernandez, C. F., & Bayolo, D. M. (2019). Mitochondrial β -oxidation of Saturated Fatty Acid in Humans. *Mitchondrion J.*, 46, 73-90.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *J. Antimicrob Chem*, 48, 5-16.
- Aprilyanto, V., & Sembiring, L. (2016). *Filogenetika Molekuler : Teori dan Aplikasi*. Yogyakarta: Teori dan Aplikasi.
- Ariel, A., Bono, J. L., Irazoqui, M., Larzabal, M., da Silva, W. M., Eberhardt, M. F., Cataldi, A. (2021). Genomic Analysis of *Shiga* toxin-containing *Escherichia coli* O157:H7 Isolated from Argentina Cattle. *PLoS One*, 28(16), 1-21.
- Arivo, D., & Dwiningtyas, A. W. (2017). Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap *Escherichia coli* Penyebab Infeksi Saluran Kemih. *Med and Health Sci J.*, 4(4), 216-225.
- Attamimi, A. F., & Yuda, I. P. (2022). Aktifitas Antibakteri Terpenoid dari Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) Terhadap *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556. *Yarsi J. of Pharm*, 3(2), 76-84.
- Avis, T. J., & Belanger, R. R. (2001). Specificity and mode of action of the antifungal fatty acid cis-9-heptadecenoic acid produced by *Pseudozyma flocculosa*. *Appl Environ Microbiol*, 67, 956-960.
- Amrullah, M. A., Rantam, F. A., Raharjo, D., Tyasningsih, W., Estoepangestie, A. T. S & Tacharina, M. R. (2022). Deteksi Gen eae Sebagai Marker Strain EPEC Pada Daging Ayam yang Dijual di Beberapa Pasar Tradisional Surabaya. *J. Of Basic Med Vet*, Vol 11(1), 49-55.
- Anggriani, A. D., Pujaningsih, R. I., & Sumarsih, S. (2019). Pengaruh Perbedaan Metode Pengolahan dan Level Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Kualitas Organoleptik Tepung Ikan Rucah. *J. Sains Pet. Ind*, Vol 14(3), 282-291.

- Blanco, M., Schumacher, S., Tasara, T., Zweifel, C., Blanco, J., Dahbi, G., & Stephan, R. (2005). Serotypes, Intimin Variants and Other Virulence Factors of eae Positive *Escherichia coli* Strains Isolated From Healthy Cattle in Switzerland. Identification of a New Intimin Variant Gene (eae-n2). *BMC Microbiology*, 5(23), 23-34
- Bentacor, A., Rumi, M. V., Carbonari, C., Gerhardt, E., Larza, M., Vilte, D. A., Chinen, I. (2012). Profile of *Shiga toxin-producing Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats and genetic relationships with isolates from cattle, meat, and humans. *Vet Microbiol*, 156, 336-342.
- Bintang, M. (2018). *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Boerlin, P., McEwen, S. A., Petzold, F. B., Wilson, J. B., Johnson, R. P., & Gyles, C. L. (1999). Associations between Virulence Factors of *Shiga Toxin-Producing Escherichia coli* and Disease Human. *J. of Clinical Microbiol*, 37, 497-503.
- Bufe, T., Hennig, A., Klumpp, J., Weiss, A., Nieselt, K., & Schmidt, H. (2019). Differential transcriptome analysis of *Enterohemorrhagic Escherichia coli* strains reveals differences in response to plant-derived compounds. *BMC Microbiol*, 19, 19.
- Campbell, Reece, J. B., & Mitchel, L. G. (2003). *Biologi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Capobianco, J. A., Clark, M., Cariou, A., Leveau, A., Pierre, S., Fratamico, P., Amrstrong, C. M. (2020). Detection of *Shiga toxin-producing Escherichia coli* (STEC) In Beef Products Using Droplet Digital PCR. *Intern J. of Food Microbiol*, 319, 1-12.
- Chapman, P. A., Ellin, M., Ashton, R., & Shafique, W. (2001). Comparison of culture, PCR and immunoassays for detecting *E. coli O157* following enrichment culture and immunomagnetic separation performed on naturally contaminated raw meat products. *Intern J. of Food Microbiol*, 68(1-2), 11-20.
- Croxen, M. A., & Finlay, B. B. (2010). Molecular Mechanism of *Escherichia coli* Pathogenicity. *Nature J.*, 8, 50-62.
- DwicaHyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, T. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Peng dan Biotek*, 7(1), 15-23.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiol J.*, 4, 659-665.
- Desmeth, P. (2017). *Microbial Resources*. Belgium : Academic Press.

- Dewi, G. P., Mastra, N., & Jirna, I. N. (2018). Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Biduri Secara In Vitro. *J. Meditory*, 6(1), 1159-2338.
- Elizaquivel, P., Sanchez, G., & Aznar, R. (2013). *Real-time PCR detection of Foodborne Pathogenic Escherichia coli. Real-Time PCR in Food Science : Current Technology and Applications* . UK: Caister Academic Press.
- Fachriyah, E., Laksono, F. B., & Kusriani, D. (2014). Isolasi dan Uji Antibakteri Senyawa Terpenoid Ekstrak N-Heksana Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*). *Jurnal Kim Sains dan Apli*, 17(2), 37-42.
- Fakih, I., Thiry, D., Duprez, J.-N., Saulmont, M., Iguchi, A., Pierard, D., Mainil, J. B. (2017). Identification of *Shiga toxin-producing* (STEC) and *enteropathogenic* (EPEC) *Escherichia coli* in diarrhoeic calves and comparative genomics of O5 bovine and human STEC. *Vet Microbiol*, 16-22.
- Fang, P., Dey, M., Abe, A., & Takeda, T. (2001). Isogenic Strain of *Escherichia coli* O157:H7 That Has Lost both *Shiga Toxin 1* and *2* Genes. *Clinical and Diagnos Lab Immun*, 8(4), 711-717.
- Farhoosh, R., Golmovahhed, G. A., & Khodaparast, M. H. (2007). Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis L.*). *Food Chemistry*, 100, 231-236.
- Febriyanti, I. H. (2020). *Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun muda, daun tua, dan campuran daun gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk) budidaya terhadap bakteri Streptococcus mutans*. Sumatera Utara: Institusi Sumatera Utara.
- Fitzgerald, S. F., Lupolova, N., Shaaban, S., Dallman, T. J., Greig, D., Allison, L., Gally, D. L. (2021). Genome structural variation in *Escherichia coli* O157:H7. *Microb Genom*, 7(11), 1-18.
- Fernandez, D., M, R. E., Adelberg, G. F., Padola, N. L., Parma, A. E & Aroyo, G. H. (2009). Seasonal Variation of Shiga Toxin-Encoding genes (*stx*) and Detection of *Escherichia coli* O157 In Dairy Cattle From Argentina. *J. of App Micro*, 106(8), 1260-1267.
- Freiden, T. (2013). *Antibiotic Resistance Threats in the United States* . United states : US Departement of Health and Human Service.
- Gomes, A. T., Elias, W. P., Scaletsky, I. C., Guth, B. E. C., Rodrigues, J. F., Piazza, R., Ferreira, L. C. & Martinez, M. B. (2016). *Diarheagenic Escherichia coli* . *Soci. Brasileira Mircro J.*, 47, 3-30.
- Gaffar, S., & Sumarlin. (2020). Analisis Sekuen mtDNA COI Pari Total Biru yang Didaratkan di Tempat Pendaratan Ikan Kota Tarakan. *J. Harpodon Borneo*, 13(2), 80-89.

- Habets, A., Touzain, F., Lucas, P., Huong, N. T., Iguchi, A., Crombe, F., Thiry, D. (2022). Identification of Five Serotypes of *Enteropathogenic Escherichia coli* from Diarrheic Calves and Healthy Cattle in Belgium and Comparative Genomics with *Shigatoxigenic E. coli*. *Vet Sci J.*, 10(9), 492-503.
- Handoyo, D., & Rudiretna, A. (2000). Prinsip Umum Dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction. *J. Unitas*, 9(1), 17-29.
- Harbone, J. B., & William, C. A. (2000). Review : Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry J.*, 55, 481-504.
- Hendy, O. N., Indriyanti, R., & Gartika, M. (2020). Daya Antibakteri Asam Palmitat Bawang Putih (*Allium savitum*) Terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Padjajaran J. of Dental Resear and Stud*, 4(2), 109-114.
- Herbert, R. B. (1988). *Biosynthesis of Secondary Metabolites*. London: Chapman and hall.
- Holme, D., & Peck, H. (1998). *Analytical Biochemistry*. Harlow: Pearson Educated Limited.
- Haryati, T., Jekti, D. S., & Andayani, Y. (2015). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Air Terhadap Bakteri Isolat Klinis. *JPPIPA*, 1(2), 31-38.
- Isnaeni, D., Rasyid, U. M., & Padmalatha. (2021). Overview of Phytochemistry and Pharmacology of *Syzygium aqueum* . *IJMPPR*, 5(4), 106-111.
- Innis, M. A., Gelfand, G. H., Sninsky, J. J., & White, T. J. (1990). *PCR Protocols, A Guide To Methods And Applications*. New York: Academic Press Inc. .
- Jawetz, E., Melnick, E. A., & Adelberg, G. F. (2005). *Medical Microbiology*. San Fransisco: Univ of California Pres.
- Jekabsone, A., & Sile, I. (2019). Investigation of Antibacterial and Antiinflammatory Activities of Proanthocyanidins from *Pelargonium sidoides* DC Root Extract. *Nutrients J.*, 11, 1-18.
- Jersey, A. E., & Kaper, J. B. (1991). The eae Gene of *Enteropathogenic Escherichia coli* Encodes a 94-Kilodalton. *Infect. Immun J.*, 59(12), 4302-09.
- Kagambega, A., Martikainen, O., Lieneman, T., Siitonen, A., Traore, A. S., Barro, N. & Hauka, K. (2012). *Diarrheagenic Escherichia coli* detected by 16-plex PCR in Raw Meat and Beaf Intestines Sold at Local Markets in Ougadougou, Burkina Faso. *Int J. Food Microbial*, 153(1-2), 154-158.
- Kim, J. H., Yoo, J. G., Ham, J. S., & Oh, M. H. (2018). Direct Detection of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in Animal-derived Foods Using a Magnetic Bead-based Immunoassay. *Korean J. of Food Sci of Anim Resources*, 38(4), 727-736.

- Kositanont, U., Rugsasuk, S., Leelaporn, A., Phulsuksombati, D., Tantitanawat, S., & Naigowit, P. (2007). Detection and differentiation between pathogenic and saprophytic *Leptospira* spp. by multiplex polymerase chain reaction. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 57(2), 117-122.
- Langga, I. F., Restu, M., & Tutik, K. (2012). Optimalisasi Suhu Dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex Cofassus Reinw*) Serta Analisis Keragaman Genetik Dengan Teknik Rapd-Pcr. *J. Sains dan Tek.*, 12(3), 265-276.
- Mardiana, N. A., Murniasih, T., Rukmi, W. D., & Kusnadi, J. (2020). Potensi bakteri laut sebagai sumber antibiotik baru penghambat *Staphylococcus aureus*. *J. Tekn Pertanian*, 21, 49-56.
- Milanda, T., Lestari, K., & Tarina, N. T. (2021). Antibacterial Activity of Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) Fruit Against *Serratia marcescens* and *Staphylococcus aureus*. *IJPST*, 8(2), 76-85.
- Moorhead, S., & Hudson, J. A. (2012). *Validation of the E. coli O157 GDS method for analysis of UCFM and cooked meat samples*. New Zealand: Institute of Environmental Science & Research Limited.
- Muladno. (2002). *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Bogor: Wirausaha Muda.
- Murhadi. (2009). Senyawa dan Aktivitas Antimikroba Golongan Asam Lemak dan Esternya Dari Tanaman. *JTHP*, 14(1), 97-105.
- Mardiana, A. M., Murniasih, T., Rukmi, W. D., & Kusnadi, J. (2020). Potensi Bakteri Laut Sebagai Sumber Antibiotik Baru Penghambat *Saccharomyces aureus*. *J. Tek. Pertanian*, 21(1), 49-56.
- Moglad, E. H., Adam, O. A., Alnosh, M. M. & Altayb, H. N. (2020). Retracted: Detection of virulence genes of *Diarrheogenic Escherichia coli* strains from drinking water in Khartoum State . *J. Water and Health*, 1-8.
- Nataro, J., & Kapper, J. (1998). *Diarrheogenic Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Review*, 142-201.
- Nakamura, K., Murase, L., Sato, M. P., Toyoda, A., Itoh, T., Mainil, J. G., Lee, K. (2020). Differential dynamics and impacts of prophages and plasmids on the pangenome and virulence factor repertoires of *Shiga toxin-producing Escherichia coli* O145:H28. *Microb Genom*, 6(1), 1-13.
- Nataro, J. P., & Kaper, B. J. (1998). *Diarrheogenic Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.*, 11(2), 142-201.
- Priyanka, V. K., & Rajalakshmi, R. (2020). Phytochemical screening and in-vitro antioxidant activity analysis in leaf extract of water apple (*Syzygium aqueum (burm. F) alston*). *Intern J. of Pharmac Scien and Research*, 11(12), 6350-6357.

- Putri, S. D., Susilowati, A., & Setyaningsih, R. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kapulaga (*Amomum compactum*) Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. *Biofarmasi J.*, 14(1), 10-18.
- Palanisamy, U., Ling, L. T., Manaharan, V., Sivapalan, V., Subramaniam, T., Helme, H. & Masilamani, T. (2011). Standardized Extract of *Syzygium Aqueum* : A Safe Cosmetic Ingredient. *Intern J. of Cosmetic Sci.*, 33(3), 267-275.
- Peter, T. P., Sajini, R. J., & Sarala, A. (2011). *Syzygium Samangarensis* : A Review on Morphology, Phytochemistry & Pharmacological Aspect. *Asian J. of Biochem and Pharma*, 1, 155-163.
- Qamar, W., Mohammad, R. K., & Arafah, A. (2017). Optimization of conditions to extract high quality DNA for PCR analysis from whole blood using SDS-proteinase K method. *Saudi J. Biol Sci*, 24(7), 1456-1469.
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *ESCHERICHIA COLI : Patogenitas, Analisis, dan Kajian Resiko*. Bogor: IPB Press.
- Riley, L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D., McGee, H., Welss, J., Davis, B., Hebert, R., Olcott, E., Jhonson, L., Hargrett, N., Blake, P. & Cohen, M. L. (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New Engl. J. Med*, 308(12), 681-685.
- Rohyani, I. S., Aryanti, E., & Suropto. (2015). Kandungan Fitokimia Beberapa Jenis Tumbuhan Lokal Yang Sering Dimanfaatkan Sebagai Bahan Baku Obat di Pulau Lombok. *Pros Semnas Masy Biodiv Indon*, (pp. 388-391). Mataram.
- Rousell, C., Cordonnier, C., Galia, W., Goff, O. L., Thevenot, J., Chalancon, S., Alric, M., Sergentet, D., Leriche, F., Wiele, T. V., Livrelli, V. & Diot, S. B. (2016). Increased Effect Survival and Virulence Gene Expression Indicate an Enhanced Pathogenicity Upon Simulated Pediatric Gastrointestinal Conditions. *J. Pediatric Research*, 80, 734-743.
- Rajeswari, & Rani, S. (2015). GC-MC analysis of Phytochemical Compound in the Ethanolic Extract of Root of *Lawsonia inermis L.* *Intern J. of ChemTech Research*, 7(1), 389-399.
- Ramadhan, R., Fitria, E., & Rosdiana. (2017). Deteksi Mycobacterium Tuberculosis Dengan Pemeriksaan Mikroskopis Dan Tehnik PCR Pada Penderita Tuberkolosis Paru Di Puskesmas Darul Imarah. *J. Penelitian Kes.*, 4(2), 73-80.
- Rastina, S. M., & Wientarsih, I. (2015). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigi*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* *J. Kedokteran Hewan*, 9, 185-188.

- Rosyidah, K. (2009). Dua senyawa triterpenoid alkohol dari rimpang lengkuas merah. *J. Sains dan Terapan Kim*, 2(1), 42-47.
- Roussel, C., Cordonnier, C., Galia, W., Goff, O. L., Thevenot, J., Chalancon, S., Diot, S. B. (2016). Increased EHEC survival and virulence gene expression indicate an enhanced pathogenicity upon simulated pediatric gastrointestinal conditions. *Pediatric Research J.*, 80, 734-743.
- Samiarsih, S., Fitrianto, N., Proklamaningih, E., & Juwarno, M. J. (2020). Phytochemical Diversity and Antimicrobial Properties of Methanol Extract of Several Cultivars of *Catharanthus Roseus* Using GC-MS. *Biodiv J. of Bio Diversity*, 21(4), 1332-1344.
- Sammuchya, N., Huang, T. C., & Hsu, J. L. (2019). Determination of Phenolic Compounds, Procyanidins, and Antioxidant Activity in Processed *Coffea arabica* L. Leaves. *Foods J.*, 8(9), 389-402.
- Sangster, A., Hergert, J., Hirschi, B., Casey, R., Wagner, J., Young, E. L., & Oakeson, K. F. (2022, 12 14). *Utah Public Health Laboratory*. Retrieved from Utah Department of Health and Human Services: <https://uphl.utah.gov/>
- Setiawan, R., Teruna, H. Y., & Zamri, A. (2015). Teraktivasi sintesis dan uji toksisitas senyawa analog kalkon turunan 3'-metoksiasetofenon dengan 3,4-dimetoksibenzaldehid. *J. Photon*, 6(1), 55-60.
- Soelama, H. J., Kepel, B. J., & Siagian, K. V. (2015). Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*. *J. e-GiGi*, 3(2), 374-379.
- Sui, N., Wang, Y., Liu, S., Yang, Z., Wang, F., & Wan, S. (2018). Transcriptomic and Physiological Evidence for The Relationship Between Unsaturated Fatty Acid and Salt Stress in Peanut. *Frontiers J.*, 9, 1-12.
- Syafriana, V., Hamida, F., Nanda, E. F., Laili, N., & Putri, A. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksana dan Etanol Biji Anggur Terhadap *Staphylococcus epidermis* dan *Propionibacterium acnes*. *Prossiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi Covid-19*, 6(1), 22-30.
- Sunarjono, H. (2013). *Berkebun 26 Jenis Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sushma, M., Bhavana, A., & Padmalatha. (2021). Overview of Phytochemistry and Pharmacology of *Syzygium aqueum*. *IJMPPR*, 5(4), 106-111.
- Tehrani, M. C., Hossain, A. B., Syarief, & Boyce. (2011). Nasrulhaq Postharvest Psycho - Chemical and Mechanical Changes in Jambu Air (*Syzygium aqueum* Alston) Fruits. *Aus J. of Crop Sciences*, 5, 32-38.

- Wadley, T. D., Jenjaroepon, P., Wongsurawat, T., Ussery, D. W., & Intawat. (2019). Complete Genome and Plasmid Sequence of *Escherichia coli* Type Strain ATCC 11775. *Microbiol Resour Announ J.*, 8(9).
- Yoon, B. K., Jackman, J. A., Gonzales, E. R., & Choo, N. J. (2018). Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Theurapetic Applications. *Intern J. of Molecular Sci*, 19, 1074-1114.
- Zhang, H., & Zhou, Q. (2013). Tyrosinase inhibitory effects and antioxidative activities of saponins from *Xanthoceras sorbifolia* Nutshell. *J. PLOS ONE*, 8(8), 11-16.

