

Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri
Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam
(*Syzygium polyanthum*)

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Guna Memperoleh Gelar Sarjana Pendidikan
dalam Ilmu Pendidikan Kimia



Oleh:

Ahmad Ikhwan Habibi

NIM: 133711030

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2017

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Ahmad Ikhwan Habibi

NIM : 133711030

Jurusan : Pendidikan Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**“Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan
Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)”**

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 12 Juni 2017

Pembuat Pernyataan



Ahmad Ikhwan Habibi

NIM: 133711030



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Prof. Dr. Hamka (Kampus II) Ngaliyan Semarang
Telp.24-76433366 Fax. 50185

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)**

Nama : **Ahmad Ikhwan Habibi**

NIM : 133711030

Jurusan : Pendidikan Kimia

Telah diuji dalam sidang *munaqasyah* oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam ilmu Pendidikan Kimia.

Semarang, 19 Juni 2017

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang

Sekretaris Sidang


R. Arizal Firmansyah, M.Si

NIP.19792009121001

Penguji I,


Drs. Achmad Hasmy Hashona, MA

NIP.196403081993031002

Penguji II,


Hj. Ratih Rizqi Nirwana, S.Si, M.Pd

NIP.198104142005012003

Pembimbing I


Wirda Udaibah, M.Si

NIP.198501042009122003

Pembimbing II


R. Arizal Firmansyah, M.Si

NIP.19790819 200912 1 001


Siti Mukhlisoh Setyawati, M.Si

NIP. 19761117 200912 2

NOTA DINAS

Semarang, 18 Juni 2017

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains Dan Teknologi

UIN Walisongo

di Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)**

Nama : **Ahmad Ikhwan Habibi**

NIM : 133711030

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam Sidang Munaqasah.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Pembimbing I



R. Arizal Firmansyah, M.Si.
NIP.19790819 200912 1 001

NOTA DINAS

Semarang, 16 Juni 2017

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains Dan Teknologi

UIN Walisongo

di Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)**

Nama : **Ahmad Ikhwan Habibi**

NIM : 133711030

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam Sidang Munaqasah.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Pembimbing II



Siti Mukhlisoh Setyawati, M.Si.

NIP. 19761117 200912 2

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrahmaanirrahiim

Alhamdulillah segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayahNya kepada kita, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sanjungan Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, sang inspirator sejati menuju kabahagiaan yang hakiki.

Skripsi dengan judul “**Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)**” ini ditulis untuk memenuhi sebagian syarat guna mendapat gelar Sarjana Pendidikan pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Melalui skripsi ini penulis banyak belajar sekaligus memperoleh pengalaman-pengalaman baru secara langsung yang belum pernah diperoleh sebelumnya. Dan diharapkan pengalaman tersebut dapat bermanfaat di masa yang akan datang.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis telah banyak mendapatkan bimbingan, motivasi dan do'a dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis tidak lupa mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Ruswan, M.Ag selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang beserta stafnya.
2. R. Arizal Firmansyah, M.Si selaku Ketua Jurusan Pendidikan Kimia.
3. Ibu Siti Mukhlisoh Setyawati, M.Si dan Bapak R. Arizal Firmansyah, M.Si selaku pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya ditengah-tengah kesibukan, beliau selalu memberikan semangat serta bimbingan sampai penulisan skripsi ini selesai. Terkhusus untuk Bapak R. Arizal Firmansyah, M.Si yang selalu memberikan dukungan, arahan serta dukungan materil sehingga skripsi ini selesai.
4. Segenap dosen pengajar di lingkungan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang, terkhusus segenap dosen Pendidikan Kimia yang tiada henti memberikan pengetahuan dan ilmu pengetahuannya kepada penulis.
5. Kedua orang tua tercinta, Ibu Siti Fatriah dan Bapak Shoim yang telah memberikan dukungan, baik moral maupun materil. Keikhlasan dan ketulusan do'a yang selalu menyertai langkah perjalanan hidup penulis yang tidak akan bisa terbalaskan. Serta keluarga besar, khususnya teruntuk Saudara-saudara tercinta yang telah memberikan masukan dan dukungan selama proses belajar dan pengerjaan skripsi dan selalu menjadi penguat dan penyemangat bagi penulis.
6. Sahabat sekaligus teman seperjuangan dalam penelitian M. Najib dan Siti Nurjannah selalu menemani penelitian sampai selesai.

7. Sahabat-sahabat tercinta Ayyub, Tanjung, Ranum, Khalim, Pangah yang memberikan cerita singkat di kehidupan penulis.
8. Sahabat –sahabat terkasih Pendidikan Kimia angkatan 2013, yang memberi warna selama perjalanan di bangku kuliah.
9. Keluarga besar HMJ Pendidikan Kimia yang telah memberikan pengalaman luar biasa dalam berjuang dan memahami roda organisasi.
10. Kawan-kawan seperjuangan di PPL SMAN 1 Kendal yang selalu memberi dukungan dan motivasi
11. Keluarga besar Posko 23 KKN-MIT ke-3 UIN Walisongo Tahun 2017 yang selalu setia menyemangati
12. Pengurus Takmir Masjid Baitussalam RW 02 Kelurahan Wonosari Ngaliyan yang selalu memberi dukungan, do'a, semangat, inspirasi dan motivasi.
13. Warga RW 02 Kelurahan Wonosari yang telah banyak mengajarkan arti kehidupan
14. Semua pihak yang pernah melintas dan menghiasi hidup penulis, dan membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

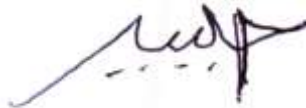
Penulis menyadari bahwa pengetahuan yang penulis miliki masih terdapat kekurangan, sehingga skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak guna perbaikan dan penyempurnaan penulisan berikutnya.

Bukanlah hal yang berlebihan apabila penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun bagi pembaca pada umumnya. Amin.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Semarang, 19 Juni 2017

Penulis

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ahmad Ikhwan Habibi', with a stylized flourish at the end.

Ahmad Ikhwan Habibi

NIM: 133711030

ABSTRAK

Judul : Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)

Penulis : Ahmad Ikhwan Habibi

NIM : 133711030

Salam atau *Syzygium polyanthum* merupakan tanaman berkhasiat obat yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki banyak aktivitas farmakologi dalam mengatasi berbagai penyakit, salah satunya adalah antibakteri. Bagian daun dan kulit batang Salam telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Tumbuhan genus *Syzygium* dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi pada bagian batang daripada daunnya. Potensi antibakteri ini dimungkinkan juga dimiliki tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*). Bahkan diperkuat dengan belum adanya penelitian tentang aktivitas antibakteri pada bagian korteks batang Salam. Oleh karena itulah dilakukan ekstraksi pada bagian korteks batang salam menggunakan pelarut n-heksan. Kandungan senyawa dalam ekstrak n-heksan selanjutnya diidentifikasi dengan uji fitokimia dan diuji aktivitas antibakterinya. Metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri adalah *disk diffusion* dan *well diffusion* pada bakteri *Bacillus subtilis* (gram positif) dan *Eschericia coli* (gram negatif) dengan pelarut aseton. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan korteks batang Salam mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid, terpenoid dan triterpenoid. Tetapi tidak mengandung kelompok senyawa flavonoid, alkaloid, fenolat, tannin dan saponin. Kemudian hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Eschericia coli* memberikan hasil tidak adanya zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri (uji negatif). Dengan demikian, dari hasil ketiga uji di atas memberikan dugaan bahwa korteks batang Salam memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri yang sangat kecil.

Kata kunci : Salam (*Syzygium polyanthum*), fitokimia,, antibakteri.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA PEMBIMBING I	iv
NOTA PEMBIMBING II	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB I : PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan dan Manfaat Penelitian	4
BAB II : LANDASAN TEORI	
A. Deskripsi Teori	6
1. Tanaman Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	6
2. Ekstraksi	10
3. Bakteri	18
4. Antibakteri	22
5. Uji Aktivitas Antibakteri	23

B. Kajian Pustaka	26
-------------------------	----

BAB III : METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan	31
B. Prosedur Kerja	34
C. Teknik Analisis Data	41

BAB IV : DESKRIPSI DAN ANALISA DATA

A. Deskripsi Data	44
B. Analisis Data	48

BAB V : PENUTUP

A. Kesimpulan	66
B. Saran	66

Daftar Pustaka

Lampiran-lampiran

DAFTAR TABEL

- Tabel 4.1** Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)
- Tabel 4.2** analisa GC-MS ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)
- Tabel 4.3** hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* metode *well diffusion*
- Tabel 4.4** hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* metode *disk diffusion*

DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1 Hasil analisa GC-MS ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

Gambar 4.2 hasil uji aktivitas antibakteri metode *well diffusion* *E. Coli* (a) dan *B. Subtillis* (b) dengan konsentrasi 0,125-1 mg/mL

Gambar 4.3 hasil uji aktivitas antibakteri metode *disk diffusion* pada *Escherichia coli* (a) dan *Bacillus subtillis* (b) dan dengan konsentrasi 5;10;15;20;25;75; 100; dan 120 mg/mL

Gambar 4.4 hasil uji aktivitas antibakteri metode disk diffusion pada *E. coli* dengan konsentrasi 0,125-1 mg/mL.

Gambar 4.5 hasil uji aktivitas antibakteri metode *disk diffusion* pada *B. subtillis* dan *E. coli* dengan rentang konsentrasi 5-120 mg/mL

Gambar 4.6 hasil uji akuades dan aseton (kontrol negatif) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtillis* dan *Escherichia coli*

Gambar 4.7 hasil uji kloramfenikol (kontrol positif) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtillis* dan *Escherichia coli*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Salam merupakan salah satu tumbuhan yang tumbuh subur di Indonesia. Salam tumbuh liar di hutan dan pegunungan, atau biasa ditanam di perkarangan dan sekitar rumah. Pohon ini dapat ditemukan di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1.400 m dpl. Tinggi pohon salam mencapai 25 m, batang bulat, permukaan licin, bertajuk rimbun dan berakar tunggang. Daun dari tanaman ini tunggal, letak berhadapan, dengan panjang tangkai daun 0,5-1 cm (Dalimartha, 2000). Tumbuhan salam banyak digunakan sebagai rempah pengharum makanan dan dikenal pula sebagai tumbuhan berkhasiat obat oleh masyarakat Indonesia. Daun salam banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati asam urat, kolesterol tinggi, tekanan darah tinggi (hipertensi), kencing manis (diabetes mellitus), sakit maag (gastritis), dan diare (Putra dkk, 2015). Hal ini dibuktikan dalam beberapa penelitian yang menyatakan bahwa tumbuhan salam memiliki beberapa aktivitas farmakologi seperti antihipertensi, antidiabetes, antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan antikanker. Aktivitas farmakologi tersebut ditimbulkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan Salam (Rizki dan Hariandja, 2015).

Penelitian tentang tumbuhan salam telah banyak dilaporkan. Murhadi dkk (2007) melaporkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun salam memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* (Murhadi dkk, 2007). Hal ini diperkuat oleh Kusuma dkk (2011) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap *Salmonella thypi* dan *Bacillus cereus*. Sedangkan uji fitokimianya dilaporkan mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, tannin, steroid, dan triterpenoid (Kusuma dkk, 2015). Sedangkan dalam penelitian yang lain dilaporkan bahwa ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki daya hambat terhadap *Methicillin Resistant Strains of Staphylococcus aureus* (Fifendy, 2014). Lain halnya dengan Putra, dkk (2015) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit batang salam menunjukkan efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Putra dkk, 2015).

Selain pada Salam, aktivitas antibakteri juga terdapat dalam genus *Syzygium* yang lain. Ekstrak air dan aseton batang, daun dan biji tumbuhan *Syzygium jambos* telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap

Staphylococcus aureus, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, dan *Vibrio cholera* (Murugan dkk, 20011). Hal ini menunjukkan bahwa bagian batang, daun dan biji sama-sama mengandung keompok senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. penelitian ini juga melaporkan bahwa ekstrak bagian batang tumbuhan *Syzygium jambos* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada bagian daunnya. Hal ini diperkuat oleh Panchavarnakili dkk (2012) yang melaporkan bahwa ekstrak metanol batang cengkeh (*Syzygium cumini*) memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan penelitian Murugan dkk, (2011) dan Panchavarnakili dkk (2012) tersebut maka dimungkinkan bagian batang salam (*Syzygium polyanthum*) khususnya bagian korteks memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi dibandingkan bagian daunnya. Hal ini yang menjadi alasan dilakukannya penelitian disamping karena adanya bakteri yang resisten terhadap antibiotik sintetik seperti *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* yang merupakan bakteri patogen penyebab keracunan dan diare (Iswara , 2015 dan Kanzil dkk, 2015) dan juga belum ada laporan penelitian antibakteri pada korteks batang Salam. Adapun

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dalam beberapa penelitian sebelumnya adalah pelarut polar (metanol, etanol dan air), sedangkan untuk pelarut nonpolar seperti n-heksan belum banyak dilakukan. Karena senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba (antibakteri, antijamur) lebih larut dalam pelarut nonpolar seperti n-heksan, maka dalam penelitian ini akan dilakukan Skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*). Aktivitas antibakteri yang dimiliki ekstrak n-heksan korteks batang salam juga diharapkan lebih efektif daripada obat antibiotik yang sudah ada. Sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang resisten terhadap antibiotik.

B. Rumusan Masalah

1. Apa saja senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak n-heksan korteks batang salam (*syzygium polyanthum*)?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan korteks batang pohon salam (*syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* secara *in vitro*?

C. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan Penelitian:

1. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang terdapat dalam ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*).
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan korteks batang pohon salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* secara in vitro.

Manfaat Penelitian:

1. Memberikan informasi mengenai manfaat batang salam bagi kesehatan.
2. Mendukung upaya pengembangan antibakteri dari bahan alam dalam bidang pangan maupun obat-obatan.
3. Mendukung penelitian dan pengembangan obat berbasis bahan alam.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Deskripsi Teori

1. Salam (*Syzygium polyanthum*)

Salam adalah tanaman yang tumbuh liar di hutan dan pegunungan, ataubiasa ditanam di perkarangan dan sekitar rumah. Pohon ini dapat ditemukan di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1.400 mdpl. Tinggi pohon salam mencapai 25 m, batang bulat, permukaan licin, bertajuk rimbun dan berakar tunggang. Daun dari tanaman ini tunggal, letak berhadapan ,dengan panjang tangkai daun 0,5-1 cm. Helaian daun berbentuk lonjong sampai elips atau bundar telur sungsang, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau muda, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, dan jika diremas berbau harum. Bunga majemuk tersusun dalam malai yang keluar dari ujung ranting, berwarna putih, dan berbau harum. Buahnya buah buni, bulat, diameter 8-9 mm, buah muda berwarna hijau, setelah masak menjadi merah gelap, rasanya agak sepat. Biji bulat, diameter sekitar 1 cm, berwarna coklat (Dalimartha, 2000).

a. Taksonomi

Salam memiliki taksonomi tumbuhan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)

Divisi : *Angiospermae*

Subdivisi : *Pinophyta*

Kelas : *Dicotyledoneae*

Bangsa : *Myrtales*

Suku : *Myrtaceae*

Marga : *Eugenia*

Jenis : *Syzygium polyanthum*

(Badan POM RI, 2008)

b. Penamaan

Tanaman salam adalah tanaman yang berasal dari Indonesia dan memiliki nama berbeda di setiap daerah. Di pulau Sumatera, salam disebut meselangan atau ubar serai. Sedangkan di pulau Jawa disebut gawok, manting, dan salam. Nama ilmiah daun salam adalah *Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp. dengan nama lain yaitu *Eugenia polyantha* Wight. dan *Eugenia lucidula* Miq. (Dalimartha, 2000).

c. Kandungan dan manfaat

Salam merupakan salah satu tumbuhan obat yang sudah banyak diteliti terutama pada bagian daunnya.

Pada tahun 2011 Liliwirianis dkk meneliti kandungan senyawa metabolit sekunder dalam daun dan batang pohon salam (*Syzygium polyanthum*) dan hasilnya yaitu terdapat senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, saponin, steroid, fenolat, dan flavonoid. Kusuma, dkk, (2011) melaporkan ekstrak etanol buah pohon salam yang telah masak mengandung saponin, karbohidrat, tanin, alkaloid, triterpenoid, dan flavonoid, sedangkan yang terkandung dalam ekstrak etanol buah mentah dan daun salam adalah karbohidrat, tanin, alkaloid, steroid, triterpenoid, dan flavonoid. Ekstrak kulit pohon salam mengandung senyawa fenolat, flavonoid, dan flavonol (Lelono, 2012). Ekstrak metanol daun salam dilaporkan oleh Ruchiyat (2013) mengandung flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan kuinon, sedangkan fraksi n-heksan dan diklorometan ekstrak metanol.

Berdasarkan beberapa penelitian, senyawa yang terkandung dalam daun salam yang dapat menjadi antibakteri adalah sebagai berikut.

1. Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, menthanol, butanol, dan aseton. Flavonoid adalah golongan terbesar dari senyawa fenol.

Senyawa fenol memiliki kemampuan antibakteri dengan cara mendenaturasi protein yang menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Cushnie & Lamb, 2011).

2. Tannin dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dan memiliki kemampuan mencegah koagulasi plasma pada *Staphylococcus aureus*.
 3. Minyak atsiri juga berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu enzim yang membantu pembentukan energi sehingga memperlambat pertumbuhan sel. Minyak atsiri dalam jumlah banyak dapat juga mendenaturasi protein (Nazzaro et al., 2013).
 4. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme alkaloid sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.
- d. Kegunaan
- Tumbuhan salam banyak digunakan sebagai rempah pengharum makanan dan dikenal pula sebagai

tumbuhan berkhasiat obat oleh masyarakat Indonesia. Daun salam sering digunakan sebagai salah satu ramuan tradisional jamu untuk mengobati penyakit diabetes. Masyarakat Medan banyak yang telah menggunakan daun salam sebagai jamu bagi penderita diabetes (Widyawati, dkk, 2015: 1701). Ekstrak metanol daun salam telah dilaporkan sebagai antioksidan (Har dan Ismail, 2012), anti bakteri (Gowri dan Vasantha, 2010) dan antidiabetes (Widyawati, dkk, 2015). Ekstrak etanol daun salam juga dapat berperan sebagai antibakteri (Kusuma, 2015; Setiawan), mampu menurunkan kadar asam urat (Sinaga, dkk, 2014) dan berpotensi sebagai obat antidiabetes (Sutrisna, dkk, 2016) dengan menurunkan kadar gula dalam darah (Studiawan dan Santosa, 2005). Minyak atsiri salam dapat digunakan sebagai antijamur (Lelono, 2012).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode

ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya.

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone, 1987). Terdapat dua cara ekstraksi menggunakan pelarut, yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi.

a. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan melalui perendaman serbuk bahan dalam larutan pengestrak. Metode ini digunakan untuk mengekstrak zat aktif yang mudah larut dalam cairan pengestrak, tidak mengembang dalam pengestrak, serta tidak mengandung benzoin.

Menurut Hargono dkk. (1986), ada beberapa variasi metode maserasi, antara lain *digesti*, maserasi melalui pengadukan kontinyu, *remaserasi*, maserasi melingkar, dan maserasi melingkar bertingkat. *Digesti* merupakan maserasi menggunakan pemanasan lemah (40-50°C). Maserasi pengadukan kontinyu merupakan

maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus-menerus, misalnya menggunakan shaker, sehingga dapat mengurangi waktu hingga menjadi 6-24 jam. Remaserasi merupakan maserasi yang dilakukan beberapa kali. Maserasi melingkar merupakan maserasi yang cairan pengekstrak selalu bergerak dan menyebar. Maserasi melingkar bertingkat merupakan maserasi yang bertujuan untuk mendapatkan pengekstrakan yang sempurna. Lama maserasi memengaruhi kualitas ekstrak yang akan diteliti. Lama maserasi pada umumnya adalah 4-10 hari. Maserasi akan lebih efektif jika dilakukan proses pengadukan secara berkala karena keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Melalui usaha ini diperoleh suatu keseimbangan konsentrasi bahan ekstraktif yang lebih cepat masuk ke dalam cairan pengekstrak.

Kelemahan metode maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000)

b. Perkolasi

Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes. Jadi, perkolasi adalah penyarian dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Alat yang digunakan untuk mengekstraksi disebut perkolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat (Sticher, 2008).

Metode perkolasi memberikan beberapa keunggulan dibandingkan metode maserasi, antara lain adanya aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan dan ruang di antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran kapiler tempat mengalir cairan penyari. Kedua hal ini meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi yang memungkinkan proses penyarian lebih sempurna.

Serbuk simplisia yang akan diperkolasi tidak langsung dimasukkan ke dalam bejana perkolator, tetapi dibasahi dan dimaserasi terlebih dahulu dengan cairan penyari. Hal ini dimaksudkan untuk memberikan kesempatan sebesar-besarnya kepada cairan penyari memasuki seluruh pori-pori dalam simplisia sehingga mempermudah penyarian selanjutnya. Untuk menentukan akhir perkolasi, dapat

dilakukan pemeriksaan zat aktif secara kualitatif pada perkolat terakhir. Untuk obat yang belum diketahui zat aktifnya, dapat dilakukan penentuan dengan cara organoleptis seperti rasa, bau, warna dan bentuknya (Sarker, 2008).

Secara umum proses perkolasi ini dilakukan pada temperatur ruang. Sedangkan parameter berhentinya penambahan pelarut adalah perkolat sudah tidak mengandung senyawa aktif lagi. Pengamatan secara fisik pada ekstraksi bahan alam terlihat pada tetesan perkolat yang sudah tidak berwarna. Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena:

- a. Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.
- b. Ruang diantara serbuk-serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

Dalam proses perkolasi biasa, perkolat yang dihasilkan tidak dalam kadar yang maksimal. Selama

cairan penyari melakukan penyarian serbuk simplisia , maka terjadi aliran melalui lapisan serbuk dari atas sampai ke bawah disertai pelarutan zat aktifnya. Proses penyaringan tersebut akan menghasilkan perkolat yang pekat pada tetesan pertama dan terakhir akan diperoleh perkolat yang encer. Untuk memperbaiki cara perkolasi tersebut dilakukan cara perkolasi bertingkat. Serbuk simplisia yang hampir tersari sempurna sebelum dibuang, disari dengan cairan penyari yang baru. Hal ini diharapkan agar serbuk simplisia tersebut dapat tersari sempurna. Sebaliknya serbuk simplisia yang baru disari dengan perkolat yang hampir jenuh, dengan demikian akan diperoleh perkolat akhir yang jernih. Perkolat dipisahkan dan dipekatkan. Cara ini cocok bila digunakan untuk perusahaan obat tradisional, termasuk perusahaan yang memproduksi sediaan galenik. Agar dioperoleh cara yang tepat, perlu dilakukan percobaan pendahuluan. Dengan percobaan tersebut dapat ditetapkan :

1. Jumlah perkolator yang diperlukan
2. Bobot serbuk simplisia untuk tiap kali perkolasi
3. Jenis cairan penyari
4. Jumlah cairan penyari untuk tiap kali perkolasi

5. Besarnya tetesan dan lain-lain.

Kelemahan dari metode perkolasi ini adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien.

Ekstraksi cara panas merupakan ekstraksi yang menggunakan suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar. Ekstraksi cara panas terdiri dari soxhlet, refluks, digesti, dekok, dan infus.

a. Soxhlet

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Uap penyari akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan penyari turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan penyari mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon (POM DEPKES RI, 2000). Kelemahan metode ini adalah kemungkinan senyawa-senyawa yang termolabil untuk terdegradasi,

karena ekstrak yang diperoleh terus menerus berada pada suhu tinggi (Mukhriani, 2014).

b. Digesti

Digesti merupakan metode ekstraksi maserasi kinetik dengan suhu di atas suhu kamar, biasanya berkisar pada suhu 40°C - 50°C (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

c. Refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam.

Ekstraksi dengan metode refluks dilakukan pada titik didih pelarut selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Proses ekstraksi biasanya dilakukan 3-5 kali pada residu pertama (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

d. Infus

Ekstraksi metode infus adalah ekstraksi yang menggunakan pelarut air pada suhu penangas air dengan bejana infus yang tercelup dalam penangas air mendidih (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

3. Bakteri

Bakteri merupakan mikrobia prokariotik uniselular, termasuk kelas Schizomycetes, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri tidak berklorofil kecuali beberapa yang bersifat fotosintetik. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Habitatnya tersebar luas di alam, dalam tanah, atmosfer (sampai + 10 km diatas bumi), di dalam lumpur, dan di laut.

Bakteri mempunyai bentuk dasar bulat, batang, dan lengkung. Bentuk bakteri juga dapat dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Bakteri dapat mengalami involusi, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan faktor makanan, suhu, dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Selain itu dapat mengalami pleomorfi, yaitu bentuk yang bermacam-macam dan teratur walaupun ditumbuhkan pada syarat

pertumbuhan yang sesuai. Umumnya bakteri berukuran 0,5-10 μ (Hidayati, 2016).

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Bacillus subtilis* sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negative.

a. *Bacillus*

Bakteri *Bacillus* merupakan mikroba flora normal pada saluran pencernaan ayam. Bakteri ini adalah organisme saprofitik, berbentuk batang, gram positif pembentuk spora non-patogen yang biasanya ditemukan dalam air, udara, debu, tanah dan sedimen. Terdapat beberapa jenis bakteri yang bersifat saprofit pada tanah, air, udara dan tumbuhan, seperti *Bacillus cereus* dan *Bacillus subtilis* (Jawetz dkk, 1986). Jenis-jenis *Bacillus* yang ditemukan pada saluran pencernaan ayam yaitu *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus firmus*, kelompok *Bacillus cereus*.

Bacillus dapat menekan cendawan atau bakteri lain dengan antibiotik, kompetisi nutrisi atau parasitisme langsung. Bakteri tersebut mempunyai siklus hidup yang kompleks meliputi : sporulasi, dormansi, perkecambahan spora, sel berbentuk

batang, berukuran $0,3-2,2 \times 1,2-7,0 \mu\text{m}$ dan mempunyai flagel peritrikus (Pelezar dan Chan, 1998 :237). *Bacillus* mempunyai daya resisten terhadap antimikroba dan dapat menghasilkan antimikroba, sehingga bakteri ini mampu bertahan di dalam saluran pencernaan. *Bacillus* resisten terhadap eritromisin, linkomisin, sefalosporin, sikloserin, kloramfenikol, tetrasiklin, streptomisin dan neomisin. Antimikroba yang dihasilkan adalah bakteriosin.

b. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri komensal yang dapat bersifat patogen, bertindak sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas diseluruh dunia (Tenailon et al., 2010). Berdasarkan taksonominya *E. coli* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*
Divisio : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Esherichia coli*.

(Todar, 2008)

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif yang menjadi anggota flora normal pada usus manusia.

Bakteri ini memiliki bentuk batang dan pendek (*coccobacillus*) dengan ukuran 0,4- 0,7 μm . *Escherichia coli* termasuk kedalam famili *Enterobacteriaceae* yang memiliki sifat mikroaerofilik (Warsa, 1994).

Escherichia coli berkembang baik pada agar MacConkey. Koloni bakteri ini berbentuk sirkular, konveks, dan halus dengan tepi yang tegas. Bakteri ini melakukan fermentasi glukosa, sering disertai produksi gas, katalase positif, oksidase negatif, dan mereduksi nitrat menjadi nitrit. Bakteri *Escherichia coli* menunjukkan respon positif pada tes indol, lisin dekarboksilase, dan fermentasi manitol, serta menghasilkan gas dari glukosa (Brookset al., 2013). Manifestasi klinik infeksi oleh *Escherichia coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Brookset al., 2013).

Pada bakteri *Escherichia coli* dilakukan uji biokimiawi TSIA dan sitrat, untuk membedakan antara bakteri *Escherichia coli* dengan *Pseudomonas aeruginosa*. Sebab secara mikroskopis, bakteri ini mempunyai bentuk dan warna yang sama sehingga perlu dilakukan uji biokimiawi untuk membedakannya. TSIA (triple sugar iron agar) adalah

agar yang berisi beberapa nutrisi. Pada bakteri *Escherichia coli*, bakteri ini akan memfermentasikan gula sehingga menghasilkan asam dan akan menghasilkan warna kuning. Berbeda dengan bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* akan menimbulkan asam jika diberi sitrat (Jawetz dkk., 2012)

4. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971). Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Ganiswara, 1995).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat,

penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteriostatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu menghambat sintesis dinding sel mikrobia, merusak keutuhan dinding sel mikrobia, menghambat sintesis protein sel mikrobia, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel mikrobia (Sulistyo, 1971).

5. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Disc diffusion test atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10⁵-10⁸ CFU/mL (Hermawan dkk., 2007).

a. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikrobia dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan medium cair atau padat. Kemudian medium diinokulasi bakteri uji dan dieramkan (Jawetz dkk., 2005). Tahap akhir metode ini, dilarutkan antimikrobia dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan microdilution plate (Jawetz dkk., 2005). Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz dkk., 2005).

b. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor

fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz dkk., 2005).

Menurut Jawetz dkk. (2005), ada beberapa cara pada metode difusi ini,

1. *Kirby-Bauer*

Cara Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji sensitivitas bakteri yang dilakukan dengan membuat suspensi bakteri pada medium Brain Heart Infusion (BHI) cair dari koloni pertumbuhan kuman 24 jam, selanjutnya disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair (diinkubasi 4-8 jam pada suhu 37°C) (Jawetz dkk., 2005). Hasil inkubasi bakteri diencerkan sampai sesuai dengan standar konsentrasi kuman. Suspensi bakteri diuji sensitivitas dengan meratakan suspensi bakteri tersebut pada permukaan medium agar. Piringan antibiotik diletakkan di atas medium tersebut dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam (Jawetz dkk., 2005).

2. Cara sumuran

Suspensi bakteri diratakan pada medium agar, kemudian agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Larutan antibiotik yang digunakan diteteskan ke dalam sumuran. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Dibaca hasilnya, seperti pada cara Kirby-Bauer (Jawetz dkk., 2005).

3. Cara Pour Plate

Setelah dibuat suspensi kuman dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar, lalu diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5% dengan suhu 50°C (Jawetz dkk., 2005). Suspensi kuman tersebut dibuat homogen dan dituang pada medium agar Mueller Hinton. Setelah beku, kemudian dipasang disk antibiotik (diinkubasi 15-20 jam pada suhu 37°C dibaca dan disesuaikan dengan standar masing-masing antibiotik (Jawetz dkk., 2005).

B. Kajian Pustaka

Tumbuhan salam merupakan salah satu tumbuhan obat yang dikenal lama oleh masyarakat. Penelitian mengenai kandungan dan manfaat tumbuhan salam juga sudah banyak dilakukan terutama pada bagian daunnya. Murhadi dkk

(2007) melaporkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun salam memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi dibandingkan ekstrak daun pandan terutama terhadap *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter hambat berturut-turut 6,3 mm/mg dan 6,5 mm/mg, dan ekstrak tidak menunjukkan daya hambat yang positif terhadap *Escherichia coli* (Murhadi dkk, 2007). Hal ini diperkuat oleh Kusuma dkk (2011) yang melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) menggunakan metode disk difusi menunjukkan bahwa ekstrak daun salam memiliki aktivitas yang baik sebagai antibakteri terutama untuk *Salmonella thypi* dan *Bacillus cereus* dengan diameter zona hambat sebesar 11 mm pada konsentrasi ekstrak 80 µg/µL. Kemampuan daun salam sebagai antibakteri melalui mekanisme reaksi penghambatan sintesis dinding sel. Sedangkan uji fitokimianya dilaporkan mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, tannin, steroid, dan triterpenoid. Adapun saponin menunjukkan hasil negatif (Kusuma dkk, 2015). Sedangkan dalam penelitian yang lain dilaporkan bahwa ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki daya hambat terhadap *Methicillin Resistant Strains of Staphylococcus aureus* (Fifendy, 2014). Lain halnya dengan Putra, dkk (2015) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit batang salam

menunjukkan efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri sebesar 12 mm, 13,67 mm, 12,33 mm dan 9 mm sedangkan pada konsentrasi yang sama untuk *Escherichia coli* tidak terlihat adanya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri (Putra dkk, 2015).

Aktivitas antibakteri juga terdapat dalam genus *Syzygium* yang lain. Ekstrak air dan aseton batang, daun dan biji tumbuhan *Syzygium jambos* telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Vibrio cholera*. Aktivitas antibakteri tertinggi terutama pada ekstrak aseton batang *Syzygium jambos* dibandingkan dengan ekstrak daun dan biji *Syzygium jambos* dengan pelarut air (Murugan dkk, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa bagian daun, batang dan biji sama-sama mengandung keompok senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. penelitian ini juga melaporkan bahwa ekstrak bagian batang tumbuhan *Syzygium jambos* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada bagian daunnya. Hal ini diperkuat oleh Panchavarnakili dkk (2012) yang melaporkan bahwa ekstrak metanol, etanol dan air batang cengkeh (*Syzygium cumini*)

memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri tertinggi terdapat dalam ekstrak metanol dengan diameter zona hambat sebesar 14 mm pada *Escherichia coli* dan 15 mm pada *Bacillus subtilis* dengan metode uji *well diffusion*. Berdasarkan penelitian Murugan dkk, (2011) dan Panchavarnakili dkk (2012) tersebut maka dimungkinkan bagian korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi dibandingkan bagian daunnya. Hal ini diperkuat dengan belum adanya penelitian yang melaporkan tentang aktivitas antibakteri dari ekstrak korteks batang salam. Adapun pencarian zat kimia dari tumbuhan sebagai zat antibakteri sangat penting karena penggunaan antibiotik sintetik menimbulkan permasalahan baru yaitu munculnya bakteri yang resisten serta dapat mematikan tidak hanya bakteri patogen tetapi juga bakteri yang baik bagi tubuh. Salah satu bakteri yang resisten terhadap antibiotik adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang resisten terhadap antibiotik jenis metrodinazole (Iswara , 2015). Bakteri lain yang resisten terhadap antibiotik adalah *Bacillus subtilis*. Kanzil dkk (2015) telah melaporkan bahwa *Bacillus subtilis* adalah bakteri gram positif yang resisten terhadap eritromisin (Kanzil dkk, 2015).

Uraian aktivitas antibakteri pada genus *Syzygium* di atas terutama hasil penelitian Murugan dkk, (2011) dan Panchavarnakili dkk (2012) tentang aktivitas antibakteri tumbuhan genus *syzygium* yang tinggi pada bagian korteksnya, maka hal ini yang menjadi alasan dilakukannya penelitian disamping karena adanya bakteri yang resisten terhadap antibiotik sintetis. Dengan demikian ekstrak n-heksan korteks batang salam dimungkinkan mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri yang dimiliki ekstrak n-heksan korteks batang salam juga diharapkan lebih efektif daripada obat antibiotik yang sudah ada. Sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang resisten terhadap antibiotik.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dibagi dalam beberapa tahap yaitu:

a. Pembuatan simplisia

Dalam pembuatan simplisia digunakan pisau untuk memotong batang salam dan menyerut bagian korteksnya. Selanjutnya dipakai blender untuk menyerbukkan batang salam menjadi serbuk simplisia.

b. Maserasi

Simplisia korteks batang salam ditimbang dengan neraca analitik. Kemudian digunakan toples kaca yang mampu menampung 500 gram simplisia untuk direndam dengan pelarut n-heksan.

c. Evaporasi

Ekstrak (maserat) korteks batang salam dievaporasi menggunakan *Vacum Rotary Evaporator* (Heidolp) untuk menguapkan pelarut dalam maserat.

d. Uji Fitokimia

Pipet tetes digunakan untuk mengambil dan memindahkan bahan cair/larutan. Kemudian dimasukkan tabung reaksi untuk mereaksikan larutan atau bahan yang digunakan

e. Uji Antibakteri

Dalam uji antibakteri digunakan alat sebagai berikut:

1. Jarum ose digunakan untuk menanam mikroba dengan cara goresan streak.
2. Mikropipet untuk memindahkan larutan yang akan digunakan dengan ketelitian yang tinggi
3. Pinset sebagai alat penjepit bahan-bahan yang digunakan
4. Cawan petri untuk tempat media yang akan digunakan untuk menumbuhkan mikroba
5. Vortex mixer untuk menghomogenkan suspensi larutan dalam tabung reaksi
6. Autoklaf digunakan untuk sterilisasi alat/bahan/media
7. Bunsen untuk mensterilkan alat dan sebagai sumber panas
8. inkubator untuk inkubasi media yang telah ditanami mikroba penggaris dan alat analisa GC-MS

untuk menganalisa senyawa yang terkandung dalam ekstrak.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

a. Korteks batang salam

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah Korteks batang tanaman salam (*Syzygium polyanthum*) dari Kelurahan Wonosari Kecamatan Ngaliyan Kota Semarang, Provinsi Jawa Tengah.

b. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam maserasi adalah n-heksan dan serbuk simplisia korteks batang salam.

c. Bahan Skrining Fitokimia

Bahan-bahan yang digunakan dalam skrining fitokimia adalah pereaksi dragendorf, pereaksi mayer, pereaksi bouchardat, serbuk seng, asam oksalat, akuades, gelatin, natrium klorida, natrium karbonat, asam sulfat, asetat anhidrat, serbuk magnesium, asam klorida, etanol, besi(III) klorida, natrium hidroksida, bismuth nitrat, natrium bikarbonat, kloroform dan merkuri(II) klorida.

d. Bahan Uji Antibakteri

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji antibakteri adalah aseton, ekstrak n-heksan korteks batang salam, media *Nutrien Agar* (NA), biakan bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6051 dan *Escherichia coli* ATCC 35218, akuades steril, kloramfenikol, dan kertas saring.

B. Prosedur Kerja

1. Proses persiapan dan pengujian sampel

Proses persiapan dan pengujian sampel dalam penelitian ini diawali dengan proses persiapan simplisia untuk maserasi. Hasil maserasi kemudian diuapkan pelarutnya dan dipekatkan hingga membentuk gel/pasta dengan *Vacum Rotary Evaporator*. Ekstrak kental yang didapatkan dari evaporasi dilakukan penapisan fitokimia, serta analisa GC-MS dan diuji aktivitas antibakterinya.

Adapun rincian Proses persiapan dan pengujian sampel dalam penelitian ini adalah:

1. Persiapan Simplisia

Batang tanaman salam dengan diameter 5 cm diambil kulit luarnya dan dipotong-potong. Korteks batang salam diserut dengan pisau dan dikeringkan dengan diangin-anginkan dalam suhu ruangan. Korteks batang yang kering diperkecil ukurannya

dengan dipotong-potong lalu dikeringkan kembali dengan diangin-anginkan dalam ruangan. Potongan korteks batang diserbukkan dengan *blender*. Serbuk simplisia korteks batang salam yang dihasilkan diangin-anginkan dalam ruangan hingga kering. simplisia dibuat serbuk dengan tujuan untuk membuka sel-sel dalam koreks batang salam, sehingga seyawa bisa lebih mudah terekstrak.

2. Maserasi

Delapan ratus gram serbuk simplisia korteks batang salam ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam toples kaca. Kemudian ditambahkan pelarut n-heksan hingga merendam semua serbuk simplisia (2,5 L). Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam. Kemudian disaring menggunakan kertas saring hingga semua pelarut terambil. Selanjutnya dimaserasi kembali hingga maserat yang dihasilkan jernih. Semua maserat yang didapatkan ditampung dalam wadah dan disimpan ditempat sejuk dan kering(Saraswaty, 2010).

3. Evaporasi

Maserat yang telah didapatkan dievaporasi dengan *vacuum rotary evaporator* Heidolph pada suhu 40°C

dengan kecepatan putaran 40 rpm. Evaporasi menghasilkan ekstrak kental dalam bentuk gel/pasta yang nantinya digunakan dalam uji selanjutnya.

4. Skrinning Fitokimia

a. Alkaloid

Ekstrak n-heksan korteks batang salam ditambahkan 3 ml HCl 2N kemudian diaduk secara kuat. Disaring sehingga diperoleh filtrat (Tukiran, 2016). Uji alkaloid dilakukan dengan tiga pereaksi, yaitu pereaksi bouchardat, mayer, dan dragendorf.

Satu mililiter filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi bouchardat. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan coklat hitam. 1 ml filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer. Jika terbentuk endapan putih atau pucat yang larut dalam metanol maka positif mengandung alkaloid. 1 ml filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendorf. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan jingga coklat (Departemen Kesehatan RI, 1995 dalam Murni, 2012).

b. Fenol

Satu milligram ekstrak dilarutkan dalam etanol dan ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Hasil

positif ditandai dengan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam (Harborne, 1987; Tukiran dkk, 2016).

c. Flavonoid

Dua mililiter larutan ekstrak dalam etanol mendidih ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau hitam pekat (Harbourne, 1987 dalam Fitriandiny, 2012:32).

d. Saponin

Sepuluh milligram dalam 1 ml etanol ditambahkan beberapa tetes NaHCO_3 . Campuran dikocok secara menyeluruh selama 3 menit. Jika terbentuk buih seperti sarang lebah maka menunjukkan adanya saponin dalam sampel (Gowri dan Vasantha, 2010).

e. Tanin

Sepuluh miligram ekstrak ditambahkan 3 ml etanol. Lalu dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit kemudian disaring. Untuk mengetahui adanya tanin dilakukan dengan dua pereaksi, yaitu pereaksi FeCl_3 dan gelatin. Ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1 % beberapa tetes dalam filtrat.

Adanya tanin ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman (Rasyidi, dkk, 2015).

f. Triterpenoid

Dua mililiter ekstrak dalam etanol ditambahkan 1 ml asetat anhidrat dan 1 ml asam sulfat pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan warna ungu, jingga, atau kuning (Harborne, 1987).

g. Steroid

Dua puluh miligram ekstrak dilarutkan dalam 1 ml kloroform lalu disaring. Kemudian ditambahkan asam sulfat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna coklat (Samudra, 2014).

h. Terpenoid

Sepuluh miligram ekstrak ditambahkan dengan 2 ml kloroform dan 1 ml H_2SO_4 . Jika teramati warna coklat kemerahan maka menunjukkan adanya terpenoid (Gowri dan Vasantha, 2010).

5. Uji Aktivitas Antibakteri (metode CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*)

a. Pembuatan media

Medium yang digunakan dalam pertumbuhan bakteri dengan menggunakan *Nutrient Agar* (NA) dengan komposisi Serbuk NA 20 gram (mengandung ekstrak daging sapi, pepton, dan agar-agar) dan aquades 1000 mL.

b. Preparasi ekstrak uji dan penentuan pelarut

Preparasi ekstrak uji dilakukan dengan cara menentukan pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak uji. Pelarut yang digunakan yaitu dimetil sulfoksida (DMSO) 5% (Chandrasekaran & Venkatesalu, 2014). Jika tidak bisa larut maka digunakan DMSO 10% (Prabhakaran dkk, 2011). Apabila belum bisa larut maka digunakan aseton (Djoukeng, 2005). Sampel ekstrak n-heksane ditimbang sebanyak 1000 mg (1 g) dan dilarutkan dalam 5 ml aseton (konsentrasi 200 mg/ml) sebagai larutan stok. Kemudian diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 0,125, 0,25, 0,50, 0,75, 100 dan 120 mg/mL.

c. Uji Antibakteri Metode *disk diffusion*

Mula-mula diambil 1 ml kultur sel (umur 24-48 jam) dimasukkan ke dalam petridish steril,

kemudian di tuang media NA hangat (belum memadat). Dibiarkan memadat. Selanjutnya disiapkan kertas cakram (papr disk) steril dengan diameter 0,8 mm.

Kertas cakram dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang telah berisi sampel dengan berbagai variasi konsentrasi. Sebagai kontrol digunakan kontrol akuades; kontrol pelarut (aseton) dan kontrol positif chloramphenicol). Cakram diserapkan pada sampel dengan cara merendamnya dalam sampel selama 2 menit, kemudian diambil menggunakan penjepit steril dan di sentuhkan ke dinding tabung eppendorf guna meniriskan larutan yang menempel pada cakram. Cakram secara aseptis diletakkan pada permukaan media yang telah berisi kultur uji (*Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*). Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Diamati adanya pembentukan zona bening disekitar cakram dan diukur dengan jangka sorong.

d. Uji Antibakteri Metode *well diffusion*

Pada metode ini digunakan bilayer. Layer yang dasar adalah agar yang di tuang ke dalam petri dan

dibiarkan memadat, selanjutnya diletakkan ring sumuran dan dituang dengan media berisi kultur bakteri uji. Setelah memadat ambil ring-nya dan masukkan sample dengan berbagai konsentrasi pada sumuran (well). Kemampuan penghambatan ditunjukkan dengan adanya zona hambat disekeliling sumuran.

2. Tempat dan Waktu Penelitian

Proses persiapan simplisia, maserasi, skrinning fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang. Proses evaporasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang. Uji antibakteri dilakukan di Laboratorium terpadu Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta. Sedangkan Analisa GC-MS dilakukan di laboratorium terpadu Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. Waktu Penelitian ini berlangsung dari Mei 2016 hingga Maret 2017.

C. Teknik Analisis Data

1. Ekstraksi

Ekstrak yang didapatkan Pada proses ekstraksi dihitung massanya setelah evaporasi. Adapun perhitungan rendemen ekstrak yang didapatkan sebagai berikut:

$$= \frac{\text{massa ekstrak (g)}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\%$$

2. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan kelompok senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak secara kualitatif. Hasil skrining fitokimia menunjukkan hasil positif (+) ditandai dengan perubahan warna atau terbentuknya endapan atau terbentuknya busa setelah penambahan reagen pada ekstrak uji. Sedangkan hasil negatif (-) ditandai dengan tidak adanya perubahan warna atau terbentuknya endapan atau terbentuknya busa setelah penambahan reagen pada ekstrak uji.

3. Pengukuran Aktivitas Antibakteri

Aktivitas penghambatan ekstrak n-heksan korteks batang Salam terhadap bakteri patogen yaitu *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* diukur dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar ekstrak dengan menggunakan jangka sorong. Uji aktivitas

antibakteri ekstrak uji dilakukan pada konsentrasi 0,125 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,75 mg/mL, 100mg/mL dan 120 mg/mL yang dilarutkan dengan pelarut aseton. Aquades dan aseton digunakan sebagai kontrol negatif dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Besar kecilnya aktivitas antibakteri diukur dari besar kecilnya diameter zona bening yang terbentuk. Menurut Davis dan Stout (1971), kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut:

1. Lemah, jika diameter zona hambat sebara 5mm atau kurang.
2. Sedang, jika diameter zona hambat sebesar 6-10 mm.
3. Kuat, jika diameter zona hambat sebesar 11-20 mm.
4. Sangat kuat, jika diameter zona hambat lebih dari 20mm (Davis dan Stout dalam Rastina dkk, 2015).

BAB IV

DESKRIPSI DAN ANALISA DATA

A. Deskripsi Data

1. Ekstraksi

Ekstrak kental yang dihasilkan dari proses maserasi dengan pelarut n-heksan dan evaporasi sebesar 1,21 gram dengan rendemen sebesar 0,15%.

2. Skrining fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) disajikan dalam table 4.1 berikut:

Tabel 4.1 Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

Jenis senyawa	Hasil (+/-)
Flavonoid	-
Alkaloid	-
Fenol	-
Saponin	-
Steroid	+
Terpenoid	+
Triterpenoid	+

Keterangan : (+) = mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) = tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan table 4.1 diketahui ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid, terpenoid dan triterpenoid. Uji ini merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder dalam tanaman.

3. Aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan dua metode yaitu *disc diffusion* (*Paper disc*) dan *well diffusion*, dan menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif. Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya diameter zona bening yang terbentuk disekitar ekstrak uji. Hasil pengukuran aktivitas antibakteri disajikan dalam table 4.3 dan 4.4.

Tabel 4.3 hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* metode well diffusion

Konsentrasi (mg/ml)	Diameter zona (mm)	
	metode well diff	
	<i>E. coli</i> ATCC 35218	<i>B. subtilis</i> ATCC 6051
0.125	-	-
0.25	-	-
0.5	-	-
0.75	-	-
1	-	-
5	-	-
10	-	-
15	-	-
20	-	-
25	-	-
75	-	-
100	-	-
120	-	-
Kloramfenikol	2.843	2.534
Aseton	-	-
Akuadest	-	-

keterangan * tidak dilakukan pengujian

- tidak membentuk zona jernih

Table 4.4 hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* metode *disk diffusion*

Konsentrasi (mg/ml)	Diameter zona (mm)	
	metode disk diff	
	<i>E. coli</i> ATCC 35218	<i>B. subtilis</i> ATCC 6051
0.125	-	*
0.25	-	*
0.5	-	*
0.75	-	*
1	-	*
5	-	-
10	-	-
15	-	-
20	-	-
25	-	-
75	-	*
100	-	-
120	-	*
Chloramphenicol (0,2 mg/mL)	*	2.5
Aseton	-	-
Akuadest	-	-

keterangan * tidak dilakukan pengujian

- tidak membentuk zona jernih

B. Analisa Data

1. Deskripsi Hasil Ekstraksi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang salam. Bagian batang yang digunakan adalah korteks salam yang dipisahkan dari kulit batang, xylem dan floem. Serbuk simplisia kering yang didapatkan adalah sebanyak 800 gram. Simplisia ini dimaserasi dengan 2,5 L. n-heksan yang telah didestilasi. Setelah difiltrasi maserat kemudian diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* (Heidolph).

Proses ekstraksi simplisia korteks batang salam dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut n-heksan tanpa pemanasan dengan tujuan agar senyawa-senyawa yang sensitif terhadap suhu tidak menguap. Penggunaan n-heksan sebagai pelarut dikarenakan tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk mengekstrak senyawa golongan steroid, terpenoid dan triterpenoid yang larut dalam pelarut nonpolar (seperti n-heksan) yang berpotensi sebagai antibakteri. Pada saat maserasi berlangsung pelarut berdifusi ke dalam sampel dan melarutkan senyawa-senyawa yang mempunyai kepolaran yang sama dengan pelarut sesuai prinsip *like*

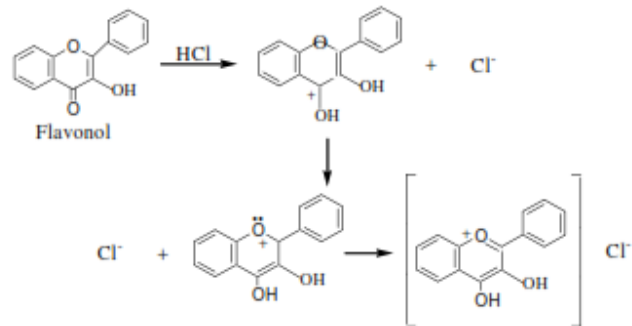
dissolved like. Penghalusan sampel menjadi serbuk (simplisia) bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan sehingga meningkatkan proses ekstraksi dan mempercepat waktu maserasi (Ncube dkk, 2008). Ekstrak (maserat) yang didapatkan kemudian di evaporasi dengan *vacuum rotary evaporator* (Heidolph) untuk menghilangkan pelarut yang masih bercampur dengan ekstrak. Ekstrak Kental berbentuk pasta yang diperoleh berwarna coklat sebanyak 1, 21 gram dengan rendemen 0,15 %. Kecilnya hasil rendemen kemungkinan disebabkan oleh sampel yang digunakan adalah bagian korteks batang salam yang keras sehingga proses ekstraksi dengan cara maserasi kurang efektif.

2. Hasil Skrining fitokimia

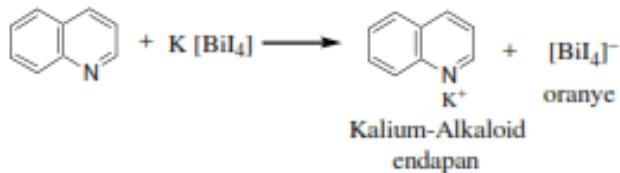
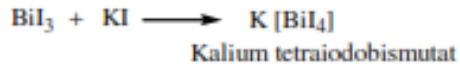
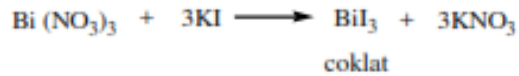
Hasil skrining fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (tabel 4.1) menunjukkan hasil positif terhadap senyawa metabolit sekunder golongan steroid, terpenoid dan triterpenoid. Sedangkan senyawa golongan flavonoid, alkaloid, fenol, tanin dan saponin menunjukkan hasil negatif.

Uji flavonoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam etanol mendidih kemudian ditambah FeCl_3 . Sampel tidak menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid, karena tidak terbentuk warna hijau atau hitam pekat

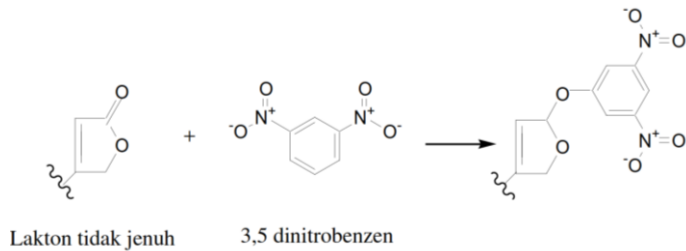
setelah penambahan FeCl_3 . hal ini dikarenakan senyawa golongan flavonoid ini lebih larut dalam pelarut polar seperti metanol (Ncube dkk, 2008). Adapun reaksi kimia yang terjadi sebagai berikut (uji positif):



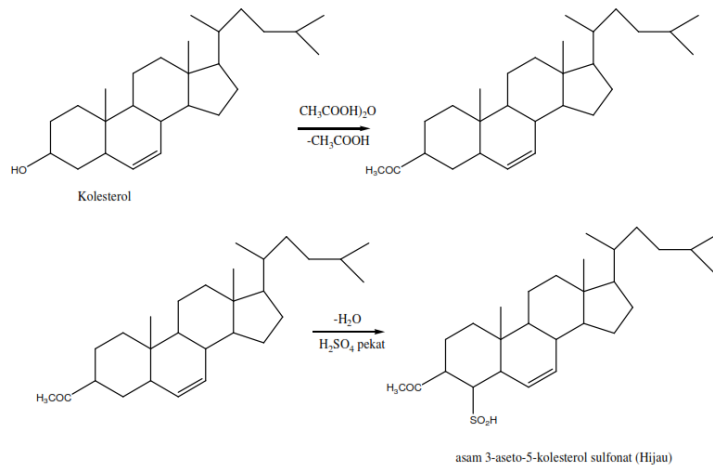
Uji alkaloid menunjukkan hasil negatif dengan tidak terbentuknya endapan jingga setelah direaksikan dengan pereaksi Dragendorff. Senyawa alkaloid bereaksi dengan pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) menghasilkan endapan jingga hingga merah kecokelatan. Pada reaksi ini terjadi penggantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Haryati dkk, 2015). Adapun reaksi kimia yang terjadi sebagai berikut (uji positif):



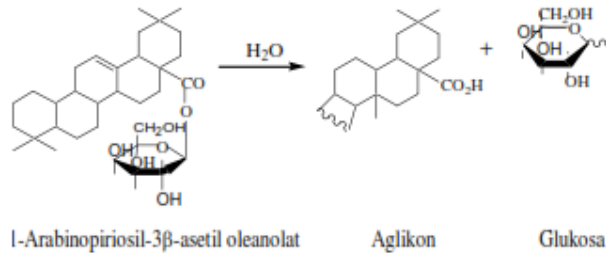
Pada uji fenol, ekstrak dilarutkan dalam air dan direaksikan dengan FeCl_3 1% menunjukkan hasil negatif dengan tidak adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Fenolik bereaksi dengan FeCl_3 1% membentuk warna merah, ungu, biru atau hitam yang pekat karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ aromatis [Haryati dkk 2015]. Kompleks berwarna yang terbentuk diduga sebagai besi (III) heksafenolat. Ion Fe^{3+} mengalami hibridisasi orbital d^2sp^3 sehingga ion Fe^{3+} ($4s^03d^5$) memiliki 6 orbital kosong yang diisi oleh pendonor pasangan elektron, yaitu atom oksigen pada senyawa fenolik yang memiliki pasangan electron bebas [Marliana dan Saleh, 2011]. Adapun reaksi kimia yang terjadi sebagai berikut (uji positif):



Uji steroid dan triterpenoid menggunakan metode Liebermann-bouchard, ekstrak dilarutkan dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann-bouchard (asam asetat anhidrat- H_2SO_4) menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi merah kecoklatan untuk steroid dan coklat-ungu untuk triterpenoid. Reaksi triterpenoid dengan pereaksi Liebermann (asam asetat anhidrat- H_2SO_4) menghasilkan warna merah-ungu sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 [Marliana dan Saleh, 2011].



Uji saponin tidak menunjukkan hasil positif karena buih yang terbentuk setelah pengocokan tidak bertahan lama, hanya bertahan beberapa detik. Saponin memiliki glikosil sebagai gugus polar serta gugus steroid atau triterpenoid sebagai gugus nonpolar sehingga bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan air. Pada struktur misel gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa (Sangi dkk, 2008). Adapun reaksi kimia yang terjadi sebagai berikut: Adapun reaksi kimia yang terjadi sebagai berikut (uji positif):



Hasil uji fitokimia ini dikomparasikan dengan penelitian sebelumnya pada tumbuhan dengan genus yang sama yaitu *Syzygium* yang diekstrak dengan pelarut n-heksan. Hasilnya bahwa ekstrak n-heksan korteks batang Salam (*Syzygium polyanthum*) dan ekstrak fraksi n-heksan daun tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium*) sama-sama mengandung senyawa golongan triterpenoid sebagai mana yang telah dilaporkan Haryati dkk (2015). Senyawa golongan terpenoid memiliki potensi antibakteri seperti yang dilaporkan oleh Djoukeng dkk, (2005). Dengan demikian, golongan terpenoid dalam ekstrak n-heksan korteks batang Salam juga dimungkinkan berpotensi sebagai antibakteri.

3. Hasil Uji Hambat aktivitas antibakteri
 - a. Preparasi sampel

Preparasi ekstrak sampel dilakukan dengan melarutkan sedikit ekstrak kedalam DMSO 5% untuk mengetahui kelarutannya (Chandrasekaran dan Venkatesalu, 2004). Akan tetapi ekstrak tidak dapat larut, hal ini mungkin dikarenakan konsentrasi DMSO kurang tinggi. Kemudian ekstrak dilarutkan dalam DMSO 10% (Prabhakaran, 2011). Namun ekstrak masih belum bisa larut. Hal ini mungkin dikarenakan perbedaan kepolaran antara ekstrak dan DMSO. Selanjutnya ekstrak dilarutkan dalam aseton (Djoukeng, 2005), dan ekstrak dapat larut, sehingga aseton digunakan untuk melarutkan ekstrak sampel. Kemudian dibuat larutan stok dengan konsentrasi 200 mg/mL yang selanjutnya diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 0,125; 0,25; 0,5; 1; 5; 10; 15; 20; 25; 50; 75; 100; dan 120 mg/mL.

Adapun media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri adalah nutrien agar (NA), karena NA adalah media yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Sedangkan uji aktivitas antibakteri dilakukan pada bakteri *Bacillus subtilis* sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif, karena kedua bakteri ini adalah bakteri yang umum mengontaminasi makanan

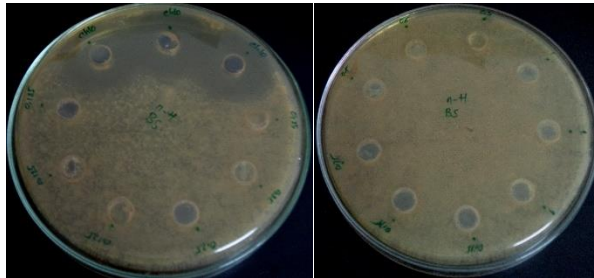
sehingga menyebabkan keracunan dan infeksi (Setiawan dan Martioso). Kemudian untuk pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu *disk diffusion* dan *well diffusion*, karena metode ini adalah metode uji antimikroba yang umum digunakan, sederhana dan tidak membutuhkan biaya yang mahal (Balouri, 2016).

b. Deskripsi hasil uji hambat dengan Metode *well diffusion*

Uji antibakteri dimulai dengan metode *well diffusion* pada konsentrasi ekstrak sebesar 0,125; 0,25; 0,50; 0,75; dan 1 mg/mL pada bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Hasil uji metode *disk diffusion* (tabel 4.3) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,125 – 1 mg/mL tidak terbentuk zona bening di sekitar ekstrak (gambar 4.1). Hal ini diduga karena konsentrasi ekstrak uji kurang besar.



(a)



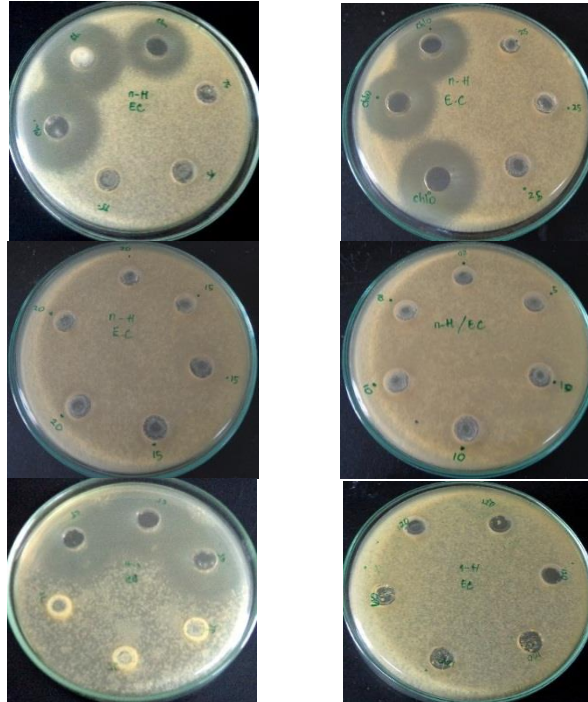
(b)

Gambar 4.2 hasil uji aktivitas antibakteri metode *well diffusion* *E. Coli* (a) dan *B. Subtilis* (b) dengan konsentrasi 0,125-1 mg/mL.

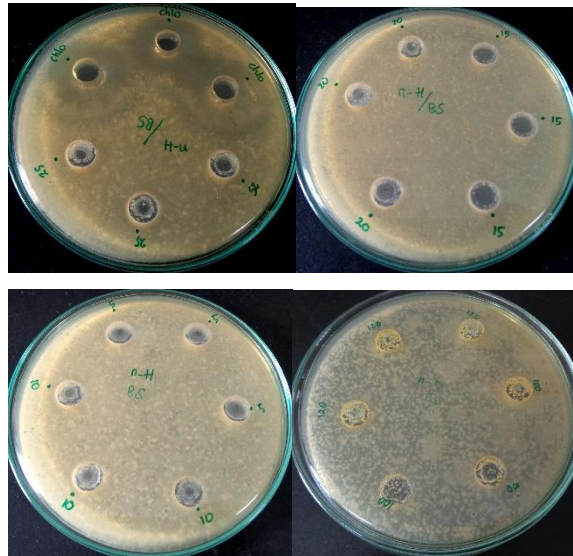
Gambar 4.2 menunjukkan bahwa zona bening disekitar ekstrak uji tidak terbentuk dan bakteri dapat tumbuh secara merata disekitar ekstrak uji. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak uji pada konsentrasi 0,125-1 mg/mL tidak menunjukkan aktivitas anti bakteri. Adapun zona bening yang terbentuk pada gambar 4.2 adalah zona bening dari kloramfenikol (kontrol positif)

Kemudian dilakukan peningkatan konsentrasi ekstrak uji menjadi 5; 10; 15; 20; 25; 75; 100 dan 125 mg/mL. Ternyata pada konsentrasi 5-100 mg/mL ekstrak uji juga tidak menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Hal ini ditunjukkan

dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar ekstrak uji (gambar 4.3)



(a)



(b)

Gambar 4.2 hasil uji aktivitas antibakteri metode *disk diffusion* pada *Escherichia coli* (a) dan *Bacillus subtilis* (b) dan dengan konsentrasi 5;10;15;20;25;75; 100; dan 120 mg/mL

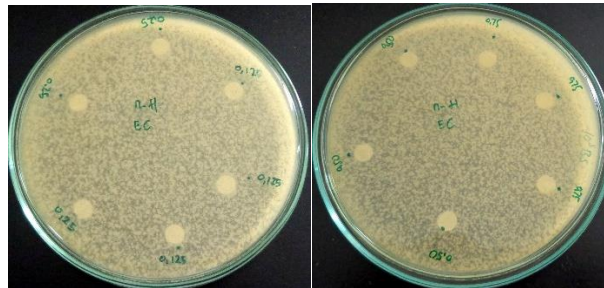
Gambar 4.3 menunjukkan bahwa ekstrak uji pada konsentrasi 5-120 mg/mL tidak menunjukkan aktivitas anti bakteri, karena zona bening disekitar ekstrak uji tidak terbentuk dan bakteri dapat tumbuh secara merata disekitar ekstrak uji (Jawetz dkk, 1986).

Adapun zona bening yang terbentuk pada gambar 4.3 adalah zona bening dari kloramfenikol (kontrol positif).

Hasil ini menunjukkan informasi bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak n-heksan korteks batang salam (table 4.1) yaitu senyawa terpenoid dan triterpenoid belum mampu menunjukkan aktivitas antibakteri karena kemungkinan kadarnya sangat kecil. Kemudian uji aktivitas antibakteri dilanjutkan dengan metode yang kedua yaitu *disk diffusion* untuk membandingkan mengkonfirmasi hasil uji aktivitas antibakteri metode *well diffusion*.

c. Deskripsi hasil uji hambat dengan *disk diffusion*

Uji aktivitas antibakteri dengan metode *well diffusion* dimulai pada konsentrasi ekstrak uji sebesar 0,125; 0,25; 0,50;0,75; dan 1 mg/mL pada bakteri *Escherichia coli*. Hasil pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa ekstrak uji pada konsentrasi 0,125;0,25;0,50; 0,75 dan 1 mg/mL tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, artinya tidak ada zona bening yang terbentuk disekitar ekstrak uji (gambar 4.4). sehingga uji aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* tidak dilakukan.

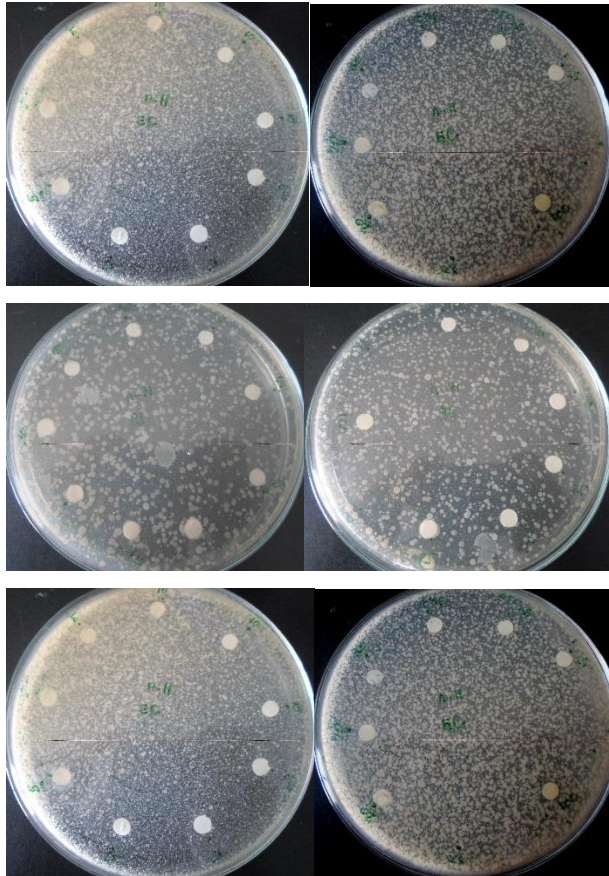


Gambar 4.4 hasil uji aktivitas antibakteri metode disk diffusion pada *E. coli* dengan konsentrasi 0,125-1 mg/mL.

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa ekstrak uji pada konsentrasi 0,125-1 mg/mL tidak menunjukkan aktivitas anti bakteri terhadap *Escherichia coli*. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya zona bening disekitar ekstrak uji yang terbentuk (Jawetz dkk, 1986). sehingga bakteri dapat tumbuh secara merata disekitar ekstrak uji.

Konsentrasi ekstrak uji ditingkatkan untuk uji selanjutnya. Ekstrak uji dengan konsentrasi 5; 10; 15; 20; 25; 75; 100; dan 120 mg/mL diujikan terhadap bakteri *E. coli*, sedangkan bakteri *B. Subtillis* diuji dengan konsentrasi ekstrak uji sebesar 5; 10; 15; 20; 25; dan 100 mg/m. Ternyata pada rentang konsentrasi ekstrak uji sebesar 5-100 mg/mL juga tidak terbentuk zona bening disekitar ekstrak uji (gambar 4.5) yang

menunjukkan bahwa tidak ada penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis*.

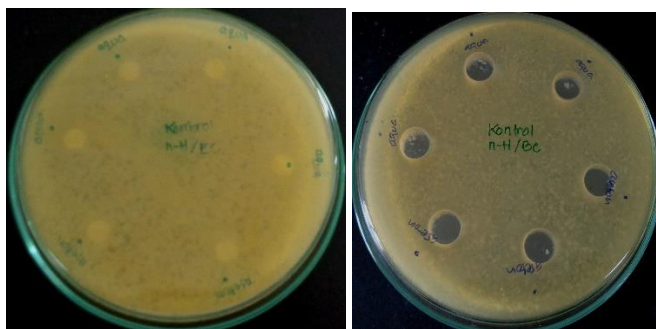


Gambar 4.5 hasil uji aktivitas antibakteri metode *disk diffusion* pada *B. subtilis* dan *E. coli* dengan rentang konsentrasi 5-120 mg/mL

Gambar 4.5 menunjukkan bahwa ekstrak uji pada konsentrasi 5-120 mg/mL tidak menunjukkan aktivitas

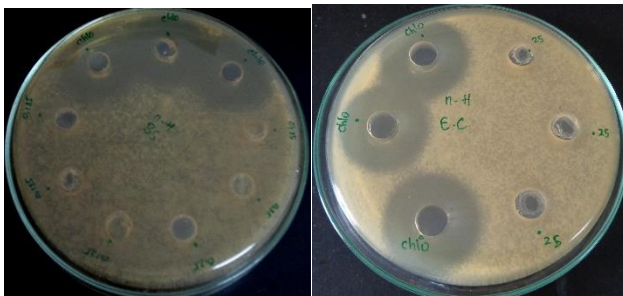
anti bakteri terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*, karena zona bening disekitar ekstrak uji tidak terbentuk dan bakteri dapat tumbuh secara merata disekitar ekstrak uji (Jawetz dkk, 1986).

Selanjutnya dilakukan perbandingan uji aktivitas antibakteri terhadap pelarut ekstrak uji yaitu aseton dan pelarut media yaitu aquades sebagai kontrol negatif. Tabel 4.3 menunjukkan bahwa aseton tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *B. Subtillis* dan *E.coli* yang menunjukkan bahwa pelarut ekstrak uji sudah sesuai karena tidak berpengaruh terhadap bakteri (Djoukeng dkk, 2005). Begitu juga dengan aquades yang juga tidak menunjukkan aktivitas penghambatan bakteri yang berarti bahwa aquades cocok untuk menjadi pelarut media NA karena bakteri dapat tumbuh dengan baik (gambar 4.6).



Gambar 4.6 hasil uji akuades dan aseton (kontrol negatif) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

Adapun untuk uji positif aktivitas antibakteri digunakan obat kloramfenikol yang merupakan obat sintetis antibakteri (Haryati dkk, 2015). Uji aktivitas antibakteri kloramfenikol (kontrol positif) menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya zona hambat disekitar ekstrak uji sebesar 2,843 mm pada *E.coli* dan 2,534 mm pada *B. Subtillis* dengan metode *well diffusion* dan zona hambat sebesar 2,5 mm pada *B. Subtillis* dengan metode *disk diffusion*(gambar 4.7).



Gambar 4.7 hasil uji kloramfenikol (kontrol positif) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan uraian diatas dapat diketahui bahwa ekstrak n-heksan korteks batang salam mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid, terpenoid dan triterpenoid. Setelah dilakukan analisis GC-MS kelompok senyawa terpenoid dan triterpenoid yang sebelumnya dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri,

tidak terdeteksi. Hasil ini diperkuat dengan uji aktivitas antibakteri menunjukkan hasil yang negatif. Dengan demikian, ekstrak n-heksan korteks batang Salam mengandung senyawa golongan terpenoid dan triterpenoid yang kadarnya sangat kecil sehingga potensi aktivitas antibakteri yang dimiliki juga kecil.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak n-heksan korteks batang salam dan potensinya sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak n-heksan korteks batang salam mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid, terpenoid dan triterpenoid.
2. Uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan korteks batang salam menunjukkan hasil negatif dengan tidak adanya zona hambat pada pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, karena kandungan senyawa triterpenoid yang berpotensi sebagai antibakteri sangat kecil.

B. Saran

Penelitian yang sudah dilakukan ini merupakan sebuah penelitian awal yang bisa dikembangkan pada penelitian selanjutnya. Saran yang kami berikan untuk penelitian berikutnya yaitu:

1. Proses ekstraksi apabila menggunakan maserasi sebaiknya disertai dengan pengadukan secara kontinyu agar senyawa yang terelstrak lebih banyak.
2. Metode Ekstraksi yang dilakukan dapat menggunakan soxhletasi agar ekstrak lebih banyak. Hal ini dikarenakan bentuk korteks lebih keras, tetapi perlu dipertimbangkan waktu dan suhu soxhletasi untuk menghindari kerusakan senyawa yang diekstrak.
3. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sebaiknya menggunakan pelarut yang polar (etanol/metanol), kemudian dilanjutkan dengan proses fraksinasi dengan pelarut yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Abok, J. I. dan C. Manulu. 2017. *TLC Analysis and GC-MS Profiling of Hexane Extract of Syzygium guineense Leaf*. *American Chemical Science Journal*. 16 (3): 1-6.
- Affandi, Moh Fauzan. 2012. *Informasi Singkat Benih (Syzygium polyanthum)*. Direktorat Bina Perbenihan Tanaman Hutan.
- Balouiri, M., Moulay Sadiki dan Saad Koraichi Ibensouda. 2016. *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review*. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6. 71-79.
- Bobbarala, Varaprasad. 2012. *Antimicrobial Agents*. Croatia: Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka. Available at www.intechopen.com
- BPOM RI. 2008. *Acuan Sediaan Herbal Edisi Pertama Volume Keempat*. 1-78..
- Chandrasekaran, M. & V. Venkatesalu. 2014. *Antibacterial and Antifungal Activity of Syzygium jambolanum Seeds*. *Journal of Ethnopharmacology* .91. 105-108.
- Cowan, Marjorie Murphy. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Review*. 12(4).

- Cushnie, T.P. Tim., dan Andrew J. Lamb. 2005. *Antimicrobial activity of Flavonoids. Int. Jour. Of Antimicrobial Agents.* 343-356
- Dalimartha, Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia.* Bogor: Trobus Agriwidya.
- Dirjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Djoukeng, J.D., dkk. 2005. *Antibacterial triterpenes from Syzygium guinense (Myrtaceae). Journal of ethnopharmacology* 101: 283-286.
- Gowry, S. Shyamala dan K. Vasantha. 2010. *Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Syzygium cumini (L.) Myrtaceae Leaves Extracts. International Journal of Pharmtech Research.* 2 (2): 1569-1573.
- Hadacek, F. dan Greger, H. 2000. *Testing of Antifungal Natural Product: Methodologies, Comparability of Results and Assay Choice. Phytochemical Analysis* 11, 137-147.
- Har, Lee Wei dan Intan Safinar Ismail. 2012. *Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoids of Syzygium polyanthum (Wight) Walp Leaves. International Journal of Medicinal Arom. Plants.* 2 (2): 219-228.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentu Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB Bandung.
- Hargono D. 1986. *Sediaan Gelanik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta
- Haryati, Nur Aini, Chairul Saleh, Erwin. 2015. *Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (Syzygium mytilifolium Walp) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. *J. Kimia Mulawarman*. 13 (1): 35-39
- Herbie, Tandi. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat: 226 Tumbuhan Obat untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: Octopus.
- Iswara, Arya. 2015. *Pola Sensitivitas Escherichia coli terhadap Antibiotik Metrodinazole*. *The 2nd University research colloquium*. 273-277
- Jawetz, Ernest. 1986. *Mikrobiologi Kedokteran edisi 20*. EGC; Jakarta
- Kanzil, Terence., Fatimawali., dan aaltje Manampiring. 2015. *Uji Resistensi Bakteri Bacillus sp yang diisolasi dari Plak Gigi terhadap Merkuri dan Eritromisin*. *Jurnal e-Biomedik* 3(1): 80-83

- Kusuma, Irian Wijaya, Harlinda Kuspradini, Enos Tangke Arung, Farida Aryani, Yu-Hong Min, Jin-Sook Kim, Yong-Ung Kim. 2011. *Biological Activity and Phytochemical of Three Indonesian Medicinal Plants, Murraya koenigii, Syzygium polyanthum, and Zingiber purpurea*
- Lelono, Raden Athur Ario. 2012. *Potential Antioxidative and Antifungal Activities from Eugenia polyantha* Wight. *Widyariset. Widyariset*. 15(2): 437-446.
- Liliwirianis N, Nor Lailatul Wahidah Musa, Wan Zuraida Wan Mohd Zain, Jamaluddin Kassim dan Syaikh Abdul Karim. 2011. *Preliminary Studies on Phytochemical Screening of Ulam and Fruit from Malaysia. E-Journal of Chemistry*. 8 (S1): S285-S288.
- Magaldi S., S. Mata-Essayag, C. Hartung de Capriles, et al. 2004. *Well diffusion for antifungal susceptibility testing, Int. J. Infect. Dis.* 8. 39–45.
- Malik, Abd dan Aktsar Roskiana Ahmad. 2013. *Antidiarrheal Activity of Etanolic Extract of Bay Leaves (Syzygium polyanthum (Wighht.)Walp.)*. *Int. Res. J. Pharm.* 4(4).
- Marliana, S. D., Saleh C. 2011. *Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil*

asetat, dan Metanol dari Buah Labu Air (Lagenari Siceraria (Morliana) Standl. J. Kimia Mulawarman. 8(2): 39-63

Mukhriani. 2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan 7(2).*

Murhadi, Suharyoso AS, dan Susilawati. 2007. *Aktivitas antibakteri Ekstrak Daun Salam (Syzygium polyanthum) dan Daun Pandan (Pandanus amaryllifolius). Jurnal Teknologi dan Industri Pangan 18(1).*

Murugan, S., P. Uma Devi, N. Kannika Parameswari dan K. R. Mani. 2011. *Antimicrobial activity of Syzygium jambos Against Selected Human Pathogens. Int. Journl. of Pharm. and Pharmaceut. Science. 3(2): 44-47*

Nazzaro, Filomena., Florinda fratianni., Laura de Martini., Raffaele Coppola., Vincenzo De Feo. 2013. *Effect of Essential oils on Pathogenic Bacteria. Pharmaceutical. 6. 1451-1474*

Ncube, NS, Afolayan AJ, Okoh AI. 2008. *Assesment Technique of Antimicrobial Properties of Natural Compound of Plant Origin: Current Methods and Future Trends. African Journal of Biotechnology. 7 (12): 1797-1806*

- Sarker, D. Satyajit. Zahid Latid., Alexander I. Gray. 2008. *Natural Product Isolation second Edition*. United States of America: ANSI. Available at www.humanapres.com
- Sticher, Otto. 2008. *Natural Product Isolation. Nat. Prod. Report*. 25:517-554
- Panchavarnakili, N., S. Tamil Selvi, D. Pavai, A. Pannerselvam, dan M. Prabakaran. 2012. *Antimicrobial Studies and Phytochemical Screening of Stem Bark in Syzygium cumini (L.) and Lannea coromentalis Houtt (Merr)*. *Asian Jour. Of Pln. Sci. Resrch*. 2 (2): 89-94
- Prabhakaran, Shylaja, K.M. Gothandam & Karthikeyan Sivashanmugam. 2011. *Phytochemical and Antimicrobial Properties of Syzygium cumini an Ethanomedicinal Plant of Javadhu Hills. Research in Pharmacy* 1(1). 22-23
- Pratiwi, S.T., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Rastina., Mirnawati Sudarwanto., dan Ietje Wientarsih. 2015. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (Murraya koenigi) Terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli dan Pseudomonas sp. Jurnal Kedokteran Hewan*. 9(2): 185-188.
- Rizki, Muhammad Ikhwan dan Ester Magdalena Hariandja. 2015. *Review: Aktivitas Farmakologi, Senyawa Aktif dan*

Mekanisme Kerja Daun Salam (Syzygium polyanthum). Prosiding Seminar Nasional & Workshop “Perkembangan Terkini Sains Farmasi & Klinik 5”.

Ruchiyat. 2013. *Analisis Fisikokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Daun Salam (Syzygium polyanthum [Wight] Walp.) Asal Jawa Barat. Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* 4(2): 68-84.

Safriani, Novi, Normalina Arpi, & Novia Mehra Erfiza. 2015. *Potency of Curry (Murayya koeniigi) and Salam Leaves (Eugenia polyanthha) Leaves as Natural Antioxidant Sources. Pakistan Journal of Nutrition.* 14 (3): 131-135.

Samudra, Arum. 2014. *Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum Wight) dari Tiga Tempat Tumbuh di Indonesia.* Skripsi. Jakarta: Fakultas Kesehatan dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.

Saraswaty, Vienna. 2010. *Alpha Glucosidase Inhibitory Activity from Syzygium Sp. Jurnal Teknologi Indonesia.* 33 (1): 33-37.

Sardjono, S. 1999. *Syzygium polyantum.* Prosea 13: Spices. De Guzman, C.C. and Siemonsma, J.S. (Eds.). Backhuys Publisher, Leiden, The Netherlands. P. 218-219.

- Sinaga, Agnes Filadelfia, Widdhi Boddhi, dan Widya Astuti Lolo. 2014. *Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum (Wight.) Walp) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus novergicus L.) yang diinduksi Potasium Oksonat. Pharmacon.* 3 (2): 2302-2493.
- Suarsana, I Nyoman, A.A. Ngurah Anom Kumbara dan I Ketut Satriawan. 2015. *Tanaman Obat Sembuhkan Penyakit untuk Sehat.* Bali: Lembaga Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Udayana.
- Sumana, Agus & Agustin Wulan SD. 2009. *Kemampuan Air Rebusan Daun Salam (Eugenia polyantha) dalam Menurunkan Jumlah Koloni Bakteri Steptococcus sp. Majalah Farmasi Indonesia.* 20(3). 112-117.
- Sungkar, S., Ismid, I.S., Sjarifuddin, P.K., & Susanto, I. 2008. *Parasitologi Kedokteran, Edisi Keempat.* Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sutrisna, EM, Ika Trisharyanti, Rima Munawaroh, & Suprpto. 2016. *Antioxidant and Antidiabetic Activity of 70% Ethanolic Extract of Syzygium polyanthum (Wight) Leaf from Indonesia. International Journal of Researching Ayurveda Pharm.* 7 (2): 214-216.

- Tiwari, Phrasant, Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gupreet Kaur, Harleen Kaur. *Phytochemical Screening and Extraction: A Review. J. Etnopharmacol.* 50:53-59
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2002. *Taksonomi Tumbuhan (spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tukiran, Andika Pramudya, Wardana, Ela Nurlaila, Ayu Mei Santi, dan Nurul Hidayati. 2016. *Analisis Awal Fitokimia pada Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Syzygium (Myrtaceae)*. Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Workshop. Surabaya 17 Nopember 2016.
- Vignesh, Rajamanickam, Puhazhendhi Puhazhelvan, Mani Sangeethkumar, Jothiramshekar Saranya, Palanisami Eganathan & Puthiyapurayil Sujanapal. 2013. *GC-MS Analysis, Antimicrobial, Scavenging Ability and Cytotoxic Activity of Leaves of Syzygium calophyllifolium Walp. Jurnal of Biologically Active Products from Nature.* 3(2). 121-129.
- Widyawati, Tri, Willy Winardi Purnawan, Item Justin Atangwho, Nor Adlin Yusoff, Mariam Ahmad, dan Mohd. Zaini Asmawi. 2015. *Anti-diabetic Activity of Syzygium polyanthum (Wight.) Leaf Extract, The Most Commonly Use Herb Among Diabetic Patients in Medan, North Sumatera, Indonesia.*

International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 6 (4): 2320-5148.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

LAMPIRAN-LAMPIRAN

1. PERHITUNGAN HASIL RENDEMEN EKSTRAK

Adapun perhitungan rendemen ekstrak yang didapatkan sebagai berikut:

$$= \frac{\text{massa ekstrak (g)}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,21 \text{ g}}{800 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 0,15\%$$

2. Prosedur Kerja

