

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SALAM  
(*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) TERHADAP  
BAKTERI *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**



**Oleh:  
Qurrotun Faizah  
NIM. 17040081**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SALAM  
(*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) TERHADAP  
BAKTERI *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

Untuk memenuhi persyaratan  
memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh:  
**Qurrotun Faizah**  
NIM. 17040081

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
2021**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr.

Soebandi

Jember, 08 Oktober 2021

Pembimbing 1



**Dr. Moch. Wildan, A.Per.Pen.,M.Pd.,MM.**

**NIDN. 4021046801**

Pembimbing II



**apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm**

**NIDN. 0703028901**

**HALAMAN PENGESAHAN**

Tugas akhir yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum (wight.) walp.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*” telah diuji dan disahkan oleh Program Studi Farmasi pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 13 Oktober 2021

Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji  
Ketua,

Dra. Ratna Suparwati, M.Kes  
NIDN. 0707125301

Penguji I,



Dr. Moch. Wildan, A.Per.Pen., M.Pd., MM  
NIDN. 4021046801

Penguji II,



apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm  
NIDN. 0703028901

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas dr. Soebandi,



Hella Meldy Tursina, S.Kep.,Ns.,M.Kep  
NIDN. 0706109104

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-NYA, serta kepada junjungan nabi besar muhammad SAW yang selalu menginspirasi penulis.
2. Dr. Moch. Wildan, A.Per.Pen., M.Pd., MM. Selaku pembimbing I dan apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan pikiran serta kesabaran dalam memberikan bimbingan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. Dra. Ratna Suparwati, M.Kes. selaku penguji yang telah banyak memberikan bantuan, saran, waktu dan juga perhatiannya dalam menulis skripsi ini.
4. Seluruh dosen prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi atas segala ilmu dan juga pengalaman yang telah diberikan.
5. Abah, umi, kakak-kakak saya, serta keluarga besar yang selalu memberikan doa, kasih sayang, nasihat, dan juga pengorbanan yang senantiasa memberikan kekuatan kepada saya.
6. Bapak dan ibu guru TK Mikhrojul Ulum Pocangan, MI Mikhrojul Ulum Pocangan, SMPN 03 Sukowono, SMA Nurul Jadin Paiton, serta dosen-dosen Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi, dan semua yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat.
7. Sahabat saya yang menemani saya dalam keadaan susah dan senang dari awal masuk kuliah grup “eat sleep repeat” (Novia, Deswita, Ma’rifah, Trishya).
8. Teman seperjuanganku Layla, Ainun, Rifqah dalam mengerjakan penelitian Antibakteri.
9. Keluarga besar 17B Farmasi yang telah menemani saya selama menempuh pendidikan Farmasi di Universitas dr. Soebandi.

10. *Last but not least, I wanna thank me, for believing in me, for doing all this hard work, for having no days off, for never quitting for just being me at all times.*

### **MOTTO**

”Berusahalah untuk tidak menjadi orang yang berhasil, tapi berusahalah untuk menjadi manusia yang berguna”

*Albert Eistein*

“Nilai akhir dari proses pendidikan, sejatinya terekapitulasi dari keberhasilannya menciptakan perubahan pada dirinya dan lingkungan. Itulah fungsi daripada pendidikan yang sesungguhnya”

*Lenang Manggala*

“Saya datang, saya bimbingan, saya ujian, saya revisi dan saya menang”

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Qurrotun Faizah

NIM : 17040081

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil penelitian orang lain.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Jember, 05 Oktober 2021

Yang menyatakan



Qurrotun Faizah

NIM. 17040081

## **SKRIPSI**

### **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

Oleh:

**Qurrotun Faizah**

**NIM. 17040081**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Moch. Wildan, A.Per.Pen., M.Pd., MM.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm

## ABSTRAK

Faizah, Qurrotun\*. Wildan, Moch\*\*. Fauziah, DinaTrianggaluh\*\*\*.2021.

**uji aktivitas antibakteri ekstrak daun salam (*syzygium polyanthum (wight.) walp.*) terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*.** Skripsi. Program Studi Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Penyakit infeksi saluran pencernaan penyebab diare merupakan penyakit yang terjadi pada saluran pencernaan. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan yaitu *Escherichia Coli*. Daun Salam mengandung beberapa senyawa yang bersifat antibakteri seperti flavonoid dan tannin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.*) terhadap bakteri yang umumnya menginfeksi saluran pencernaan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Jenis penelitian ini eskperimental dengan metode ekstraksi yang digunakan adalah perkolasi dan sokhletasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Sempel penelitian ini adalah ekstrak etanol daun salam dengan pengenceran konsentrasi 50% dan 100%. Adapun kontrol positif yang digunakan yaitu *levofloxacin* dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Uji daya hambat menggunakan metode difusi cakram dengan diameter 6 mm.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa daun salam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona hambat. Pada bakteri *Escherichia coli* memberikan zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 10,805 mm sedangkan pada kontrol *levofloxacin* 14,895 mm. Untuk bakteri memberikan zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100% yaitu 7,605 mm, sedangkan pada kontrol *levofloxacin* 14,715 mm.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.*) memiliki aktivitas antibakteri karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Daun salam (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.*), *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

\* Peneliti

\*\* Pembimbing 1

\*\*\* Pembimbing 2

## ABSTRACT

Faizah, Qurrotun\*. Wildan, Moch\*\*. Fauziah, Dina Trianggaluh\*\*\*. 2021.  
**antibacterial activity test of bay leaf extract (*syzygium polyanthum (wight.) walp.*) against *Escherichia colibacteria* and *Staphylococcus aureus*.** Essay.  
University Pharmacy Study Program dr. Soebandi.

Infectious diseases of the digestive tract that cause diarrhea are diseases that occur in the digestive tract. One of the causes of infectious diseases is bacteria. The bacterium that causes digestive tract infections is *Escherichia Coli*. Salam leaves contain several compounds that are antibacterial such as flavonoids and tannins. This study aims to determine the antibacterial activity of the ethanolic extract of bay leaf (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.*) against bacteria that commonly infect the digestive tract, namely *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

This type of research is experimental with the extraction method used is percolation and soxhletation using 70% ethanol as a solvent. The sample of this research was the ethanolic extract of bay leaves with dilution concentrations of 50% and 100%. The positive control used was *levofloxacin* and the negative control used 10% DMSO. The inhibition test used the disc diffusion method with a diameter of 6 mm.

The results of reaserch showed that bay leaf has antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* which is characterized by the presence of an inhibition zone. *Escherichia coli* gave the highest inhibition zone at a concentration of 100% with a diameter of 10,805 mm inhibition zone, while in control levofloxacin 14,895 mm. For bacteria, the highest inhibition zone was at 100% concentration, which was 7,605 mm, while for levofloxacin control it was 14,715 mm.

It can be concluded that the ethanolic extract of bay leaf (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.*) has antibacterial activity because it can inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: Bay leaf (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.*), *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

\* Researcher

\*\* Supervisor 1

\*\*\* Supervisor 2

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Tugas Akhir ini dapat terselesaikan. Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dengan judul **“Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum (wight.) walp.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*”**.

Penyusunan dapat terlaksana dengan baik berkat dukungan dan bimbingan dari banyak pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Hella Meldy Tursina, S. Kep., Ns., M. Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. apt. Dhina Ayu Susanti., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
4. Dr. Moch. Wildan, A. Per. Pen. M. Pd., MM. Selaku pembimbing I dan penguji I atas bimbingannya selama ini
5. apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm selaku pembimbing II dan penguji II atas bimbingannya selama ini
6. Dra. Ratna Suparwati, M.Kes. selaku Ketua Penguji untuk segala masukan, kritik dan saran hingga skripsi tersusun

Penulis menyadari skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan di masa mendatang.

Jember, 05 Oktober 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	
<b>HALAMAN JUDUL DALAM</b> .....	<b>i</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>v</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.4.1 Bagi Peneliti .....	4
1.4.2 Bagi Institusi .....	4
1.4.3 Bagi Masyarakat .....	5
1.5 Keaslian Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>

2.1 Uraian Tumbuhan .....	7
2.1.1 Habitat dan Morfologi .....	8
2.1.2 Kandungan Kimia.....	9
2.1.3 Manfaat .....	9
2.2 Ekstraksi.....	10
2.2.1 Macam Ekstraksi .....	11
2.3 Antibakteri.....	17
2.4 Uraian Bakteri.....	17
2.4.1 Bakteri <i>Escherichia Coli</i> .....	18
2.4.2 Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	19
2.5 Metode Pengujian Antibakteri.....	21
2.5.1 Metode Difusi.....	21
2.5.2 Metode Dilusi.....	23
<b>BAB III KERANGKA KONSEP .....</b>	<b>25</b>
3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	25
3.2 Hipotesis Penelitian .....	26
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
4.1 Desain Penelitian .....	27
4.2 Populasi dan Sampel .....	27
4.2.1 Populasi .....	27
4.2.2 Sampel .....	27
4.3 Tempat Penelitian .....	27
4.4 Waktu Penelitian .....	27
4.5 Varibel dan Definisi Operasional .....	28
4.6 Pengumpulan Data.....	29
4.6.1 Alat dan Bahan .....	29
4.6.2 Pengumpulan Sampel .....	30
4.6.3 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Salam.....	30
4.6.4 Identifikasi Simplisia .....	31
4.6.5 Pembuatan Ekstrak Daun Salam .....	31
4.6.6 Uji Skrinning Fitokimia .....	32

4.6.7	Sterilisasi Alat .....	33
4.6.8	Pembuatan Dan Sterilisasi Media Uji.....	34
4.6.9	Pembuatan Kontrol Negatif dan Positif.....	34
4.6.10	Preparasi dan Uji Antibakteri.....	35
4.7	Pengolahan Analisis Data .....	36
4.7.1	Pengolahan Data.....	36
4.7.2	Analisis Data .....	36
<b>BAB V</b>	<b>HASIL.....</b>	<b>37</b>
5.1	Hasil Determinasi Tanaman Daun Salam .....	37
5.2	Hasil Ekstraksi Daun Salam .....	37
5.3	Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Salam .....	38
5.4	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	39
<b>BAB VI</b>	<b>PEMBAHASAN.....</b>	<b>41</b>
<b>BAB VII</b>	<b>PENUTUP .....</b>	<b>53</b>
7.1	Kesimpulan.....	53
7.2	Saran.....	53
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>.....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN</b>	<b>.....</b>	

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 4.1 Variabel dan Devinisi Opersioanal.....	28
Tabel 5.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Salam.....	38
Tabel 5.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	39

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Tanaman Daun Salam.....	7
Gambar 2. Daun Salam.....	9
Gambar 3. Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	18
Gambar 4. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Standar Operasional Prosedur (SOP) Pembuatan Ekstrak Daun Salam Dengan Metode Sokletasi .....	57
Lampiran 2. Standar Operasional Prosedur (SOP) Pembuatan Ekstrak Daun Salam Dengan Metode Perkolasi .....	59
Lampiran 3. Standar Operasional Prosedur (SOP) Pembuatan Uji Antibakteri....	61
Lampiran 4. Determinasi Tanaman Daun Salam .....	65
Lampiran 5. Perhitungan .....	66
Lampiran 6. Pengukuran Zona Hambat .....	69
Lampiran 7. Hasil Uji Statistik .....	70
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian .....	74
Lampiran 9. Halaman Riwayat Hidup .....	82

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit diare merupakan salah satu penyebab utama kematian balita di negara berkembang termasuk Indonesia. Diare diartikan sebagai buang air encer lebih dari empat kali sehari, baik disertai lendir dan darah maupun tidak. Diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, virus dan parasit. Penyebab diare terbanyak kedua setelah rotavirus adalah infeksi karena bakteri *Escherichia coli*. Di negara Indonesia, diare merupakan masalah kesehatan masyarakat karena morbiditas dan mortalitasnya yang tinggi (Zakia Bakri, dkk. 2015).

Antibiotik digunakan untuk mencegah dan mengobati suatu infeksi bakteri. Meningkatnya prevalensi penggunaan antibiotik yang tidak rasional pada anak merupakan salah satu penyebab terjadinya resistensi, efek samping dan toksisitas yang meningkat, serta biaya pengobatan yang meningkat. Oleh karena itu, dalam penatalaksanaan diare yang rasional diharapkan dapat memberikan dampak positif, seperti mengurangi mortalitas, morbiditas, kerugian ekonomi, serta mengurangi terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Fenny Hasanah, 2018). Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung dalam tanaman obat. Salah satu tanaman yang sering digunakan masyarakat yaitu daun salam *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.

*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp. atau yang dikenal dengan nama daun salam merupakan salah satu spesies dari *Myrtaceae* yang digunakan sebagai bumbu masak maupun obat terutama di daerah Asia Tenggara seperti Malaysia dan Indonesia. Tanaman ini berkhasiat sebagai bumbu masak, menambah aroma, memberi warna, maupun meningkatkan cita rasa makanan (Silalahi, 2017). Daun salam memiliki khasiat yang besar untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti hipertensi, diabetes, asam urat, diare dan maag. Selain itu daun salam juga dapat digunakan sebagai terapi *Reccurent Aphous Stomatitis* (RAS) (Aini, Effendy and Widjiastuti, 2016).

Senyawa metabolit sekunder dalam daun salam antara lain flavonoid, tanin, minyak atsiri, saponin, alkaloida, dan polifenol. Kandungan flavonoid, tanin dan minyak atsiri pada daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri, dengan cara mengkoagulasi protein yang akhirnya dapat mengganggu permeabilitas membran sel dan menyebabkan inaktivasi fungsi genetik bakteri (Aini, Effendy and Widjiastuti, 2016).

Penggunaan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dimana *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek, tumbuh baik pada *Mac Conkey agar* (MCA) dengan koloni berbentuk bulat dan cembung bersifat memfermentasikan laktosa (Hidayati *et al.*, 2016). Penyakit yang biasanya disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* adalah diare (Febrina, Riris and Silaban, 2017). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, fakultatif anaerob, tidak membentuk

spora, dan tidak bergerak (Rahmi *et al.*, 2015). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi (Septiani, Dewi and Wijayanti, 2017). Pada penelitian ini digunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* untuk mengetahui respon bakteri gram positif dan negatif terhadap antibakteri dari ekstrak daun salam.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat aktif dari suatu padatan maupun cairan dengan bantuan pelarut tertentu yang sesuai. Pemilihan pelarut dilakukan untuk memisahkan atau mengekstrak substansi yang diinginkan (Prayudo, Novian and Antaresti, 2015). Senyawa flavonoid bersifat polar sehingga dibutuhkan pelarut yang bersifat polar. Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama. Pelarut yang termasuk dalam pelarut polar yaitu etanol, metanol, aseton dan air (Verdiana, Widarta and Permana, 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) terhadap aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diekstraksi menggunakan sokhletasi dan perkolasi.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

2. Pada konsentrasi berapa ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa ekstrak daun salam memberikan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*?

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### 1.4.1 Bagi Peneliti

Melalui penelitian ini, peneliti mendapat pengetahuan tambahan bahwa ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*.

#### 1.4.2 Bagi Institusi

Melalui penelitian ini, dapat dilakukan penelitian lebih lanjut pada daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) menggunakan metode ekstraksi yang lain.

### 1.4.3 Bagi Masyarakat

Melalui penelitian ini masyarakat dapat memperoleh informasi tambahan bahwa daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) memiliki kandungan antibakteri yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*

## 1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 keaslian penelitian

Nama Penulis	Tahun Terbit	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
Nunung Hasanah	2015	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUNSALAM	Metode maserasi + pelarut alkohol 70% . Disimpulkan bahwa senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun salam menyebabkan lebih dari 50% DPPH mengalami penurunan karakter radikal bebas lebih besar dari Vitamin C yaitu IC50=7.587
Eka EllyTrisnawati, dan Rudi Kartika	2020	KEMAMPUAN EKSTRAK METANOL DAUN SALAM ( <i>Syzygium polyanthum</i> )DALA M MENGHAMBAT PERTUMBUHAN <i>Staphylococcus aureus</i> DAN <i>Salmonella typhi</i>	Metode maserasi + pelarut metanol. Disimpulkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak metanol daun salam terhadap bakteri <i>staphylococcus aureus</i> sebesar 0,1% dan terhadap <i>salmonella typhy</i> sebesar 1-2%
Verawati, Dedi Nofiandi, Petmawati.	2017	PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP KADAR FENOLAT TOTAL DAN AKTIVITAS	Metode maserasi, perkolasi, dan sokletasi + pelarut etanol, Disimpulkan bahwa metode perkolasi mendapatkan hasil randemen ekstrak dan

		ANTIOKSIDAN DAUN SALAM ( <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.)	kadar fenolat tertinggi dan metode maserasi menghasilkan aktivitas antioksidan paling baik.
Ernawati Syahrudin Kaseng, Nurul Muhlishah, Shasmita Irawan.	2016	UJI DAYA HAMBAT TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI UJI <i>Staphylococcus aureus</i> DAN <i>Escherichia coli</i> EKSTRAK ETANOL DAUN MANGROVE <i>Rhizophora mucronata</i> DAN EFEK ANTIDIABETIKN YA PADA MENCIT YANG DIINDUKSI ALOKSAN	Metode maserasi + pelarut etanpl 96%. Disimpulkan bahwaekstrak etanol <i>Rhizopora mucronata</i> positif mengandung senyawa bioaktif Flavonoid ditandai dengan ekstrak berwarna hijau kecoklatan setelah direaksikan dengan FeCl <sub>3</sub> 1% dan ekstrak <i>Rhizopora mucronata</i> tidak mampu menghambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Uraian Tanaman

*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp. Atau yang biasa dikenal dengan sebutan daun salam memiliki nama ilmiah lain, yaitu *Eugenia polyantha* Wight. dan *E. Lucidula* Miq. Daun salam merupakan daun yang berasal dari Indonesia. Daun salam mempunyai nama daerah yang berbeda-beda seperti ubar serai (Sumatra); masalengan (Melayu); gowok (Jawa); salam (Sunda, Madura); manting (Jawa) (Gholib, 2015).



Gambar 1. Tanaman daun salam

#### Klasifikasi Tanaman

Kerajaan : Plantae  
Devisi : Spermatophyta  
Anak Devisi : Angiospermae  
Kelas : Discotiledonae  
Anak Kelas : Dialtpetalae

Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: <i>Syzygium</i>
Jenis	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp. (Yulianti, 2012)

#### 2.1.1 Habitat dan Morfologi

*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. dapat tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 1800 m di atas permukaan laut dan tersebar mulai dari Birma sampai Pulau Jawa. *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp. memiliki ciri-ciri antara lain: pohon dengan tinggi mencapai 30 meter, dengan diameter batang dapat mencapai hingga 60 cm. Memiliki daun tunggal dengan tata letak berhadapan (*opposite*), permukaan daun glabrous. Panjang tangkai daun berbentuk 12 mm, dengan helaian daun berbentuk oblong *elliptical* (memanjang) hingga lanset dengan ukuran 5-16 cm x 2,5-7 cm (Silalahi, 2017).

Apabila diremas daunnya berbau harum. Pembungaan berbentuk panicle dengan panjang 2-8 cm, biasanya muncul disebelah bawah daun, namun kadang-kadang muncul diketiak daun (*axilaris*). Bunga sesil, beraroma, dan berwarna putih. Kaliks berbentuk mangkuk (*cup*) dengan panjang 4 mm terdiri dari 4 lobus yang persisten, petal 4 yang bersifat bebas dengan panjang 2,5-3,5 cm berwarna putih. Stamen tersusun dari 4 kelompok yang berukuran sekitar 3 mm yang berwarna orange-kuning. Buah merupakan buah berry yang memiliki 1 biji dengan diameter buah hingga 1 mm berwarna merah hingga kehitaman ketika buah matang (Silalahi, 2017).

### 2.1.2 Kandungan Kimia

Daun salam mengandung flavonoid, minyak atsiri, seskuiterpen, triterpenoid, fenol, steroid, sitral, lakton, saponin, karbohidrat, selenium. Vitamin yang terkandung dalam daun salam, seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E berfungsi sebagai antioksidan. Daun salam juga mengandung saponin, tannin dan niacin yang berkhasiat untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Daun salam diperkirakan mengandung essential oil sekitar 17%, dengan kandungan utama eugenol dan *methyl chavicol* (Silalahi, 2017).

### 2.1.3 Manfaat



Gambar 2. Daun salam (Gholib, 2015)

Daun salam (*syzigium polyanthum*) memiliki manfaat salah satunya sebagai pelengkap bumbu dapur untuk menambahkan cita rasa, aroma dan daya simpan pada suatu masakan. Kulit pohonnya juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pewarna untuk anyaman bambu atau jala, dan buahnya juga dapat dikonsumsi. Dari segi kesehatan, daun salam berfungsi untuk

mengobati kolesesterol tinggi, hipertensi, kencing manis dan diare (Tammi *et al.*, 2018).

Daun salam mempunyai daya antibakteri patogen. Minyak essential yang terdapat didalam daun salam mengandung sitral, tanin, eugenol dan flavonoida yang memiliki aktifitas sebagai antioksidan yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. dan memiliki peran penting untuk mempertahankan mutu produk pangan dari berbagai kerusakan seperti perubahan nilai gizi dari makanan, perubahan warna dan aroma dari makanan. Ekstrak etanol dari daun salam berfungsi sebagai antibakteri. Ekstrak etanol daun salam lebih efektif sebagai antibakteri dibandingkan ekstrak etanol yang diekstraksi dengan pelarut lainnya (Tantri Yulianti, 2011).

## **2.2 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam suatu bagian tanaman obat. Proses ekstraksi pada dasarnya merupakan proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat dalam simplisia ke dalam suatu pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya akan berdifusi masuk kedalam pelarut. Proses ini akan terus berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif antara di dalam sel dengan konsentrasi zat aktif di

luar sel. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia dan zat aktif yang terdapat di dalam simplisia (Marjoni, 2016).

### 2.2.1 Macam Ekstraksi

#### 1. Cara Dingin

##### a) Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin yaitu “macarate” yang artinya berarti merendam, sehingga suatu maserasi dapat diartikan sebagai suatu sediaan cair yang dibuat dengan cara merendam pelarut bahan nabati menggunakan pelarut bukan air atau seperti etanol selama waktu tertentu. Prinsip kerja maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Maserasi biasanya dilakukan pada suhu antara 15-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat aktif yang dikehendaki larut.

Menurut Farmakope Indonesia, pelarut yang dapat digunakan pada maserasi adalah air, etanol, etano-air, atau eter. Keuntungan dari metode maserasi yaitu peralatan yang digunakan sangat sederhana, teknik pengerjaannya mudah dan biaya operasionalnya relatif rendah. Kerugian dari metode maserasi yaitu pelarut yang digunakan cukup banyak, memerlukan waktu yang lama, proses penyarian kurang sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50% (Marjoni, 2016).

## b) Perkolasi

Perkolasi adalah suatu cara penyarian yang dapat dilakukan dengan cara mengalirkan pelarut melalui serbuk simplisia yang telah terlebih dahulu dibasahi. Prinsip dari perkolasi adalah penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara mengalirkan suatu pelarut melalui simplisia yang telah dibasahi terlebih dahulu selama waktu tertentu, lalu ditempatkan dalam suatu wadah berbentuk silinder yang sebelumnya diberi sekat berpori dibagian bawahnya. Pelarut dialirkan dengan cara vertikal yaitu dari atas ke bawah melalui serbuk simplisia dan pelarut akan melarutkan zat aktif yang terdapat didalam sel-sel simplisia yang dilaluinya sampai dengan mencapai keadaan jenuh.

Faktor yang dapat mempengaruhi proses perkolasi yaitu Gaya berat, Daya larut zat aktif, Kekentalan cairan, Tegangan permukaan, Difusi, Tekanan osmosis, Daya adesi, Daya kapiler dan Daya geseran (friksi). Keuntungan dari metode perkolasi yaitu sampel selalu dialiri pelarut yang baru, tidak memerlukan langkah tambahan, tidak memerlukan panas sehingga teknik perkolasi ini sangat cocok untuk simplisia yang sifatnya termolabil, pelarut dialirkan melewati sampel sehingga proses penyariannya lebih sempurna. Kerugian dari metode perkolasi yaitu membutuhkan pelarut yang cukup banyak, memakan waktu yang cukup lama, kontak antara sampel dengan pelarut tidak merata dan terbatas,

pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien (Marjoni, 2016).

Macam-macam modifikasi perkolasi:

#### 1) Perkolasi Biasa

Simplisia dengan derajat kehalusan tertentu direndam menggunakan pelarut, lalu dimasukkan kedalam perkolator dan diperkolasi sampai didapat perkolat dengan jumlah tertentu.

#### 2) Perkolasi Bertingkat (Reperkolasi)

Reperkolasi merupakan suatu cara perkolasi biasa, namun pada metode ini digunakan beberapa buah perkolator. Simplisia dibagi-bagi dalam beberapa bagian dan setiap bagian diekstraksi secara tersendiri dalam tiap-tiap perkolator. Reperkolasi hanya digunakan untuk pembuatan ekstrak-ekstrak cair simplisia dengan zat khasiat yang tidak tahan atau rusak oleh pemanasan.

#### 3) Perkolasi Bertingkat

Metode ini digunakan untuk memperbaiki cara perkolasi biasa. Serbuk simplisia yang hampir tersari sempurna, sebelum dibuang, disari dengan penyari yang baru. Diharapkan serbuk simplisia dapat tersari dengan sempurna. Perkolat bertingkat ini cocok digunakan untuk tumbuhan obat tradisional.

#### 4) Perkolasi Dengan Tekanan

Modifikasi ini digunakan untuk simplisia yang sangat halus, sehingga tidak bisa diekstraksi dengan cara perkolasi biasa.

Pada metode ini perkolator ditambahkan alat penghisap yang disebut dengan diakolator agar perkolat bisa turun kebawah (Marjoni, 2016).

## 2. Cara Panas

### a) Soxhletasi

Soxhletasi adalah proses pemisahan dari suatu komponen yang terdapat dalam bahan padat dengan cara penyarian berulang-ulang dengan menggunakan suatu pelarut tertentu. Soxhletasi umumnya menggunakan suatu pelarut yang dapat mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa kimia yang terdapat pada bahan tetapi tidak melarutkan zat padat yang tidak diinginkan. Uap yang ditimbulkan akibat pemanasan dengan adanya pendingin balik, secara kontinyu akan membasahi sampel. Secara teratur pelarut akan masuk kembali ke dalam labu soxhlet membawa senyawa kimia yang akan diisolasi hasil tetesan lama-lama akan merendam sampel.

Dalam soxhletasi pelarut berfungsi untuk melarutkan senyawa yang akan diekstraksi. Pelarut tersebut akan menguap dengan adanya pemanasan, uap panas pelarut dengan adanya kondensor, akan mengembun dan jatuh mengenai material padat, sehingga senyawa yang terkandung dalam material padat tersebut akan larut bersama pelarut tersebut. Syarat pelarut yang digunakan harus mudah menguap contohnya: n-heksan; eter; petroleum eter; metil klorida dan alkohol, titik didih rendah, pelarut dapat terpisah cepat

setelah pengocokan, sifat sesuai dengan senyawa yang akan diisolasi, polar atau non polar.

Keuntungan metode soxhletasi yaitu:

- 1) Waktu yang digunakan lebih efisien.
- 2) Proses soxhletasi berlangsung cepat.
- 3) Pelarut yang digunakan lebih sedikit dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi.
- 4) Jumlah sampel yang digunakan sedikit, dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung.
- 5) Pelarut yang digunakan tidak akan habis, karena selalu didinginkan dengan adanya kondensor dan dapat digunakan lagi setelah hasil isolasi dipisahkan.
- 6) Tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung. Kelemahan metode soxhletasi yaitu pelarut yang digunakan memiliki titik didih yang rendah sehingga mudah menguap, tidak cocok untuk tumbuhan yang mudah rusak dengan adanya pemanasan, terjadinya proses penguraian akibat proses daur ulang pelarut (Marjoni, 2016).

#### b) Destilasi

Destilasi adalah metode pemisahan zat cair dari campurannya berdasarkan perbedaan titik didih dan zat tersebut. Titik didih untuk destilasi berkisar antara 40-150°C. Prinsip dasar destilasi

adalah perbedaan titik didih yang cukup jauh dari zat-zat cair dalam campuran zat cair, sehingga zat memiliki titik didih yang lebih rendah akan menguap terlebih dahulu.

Tujuan dari destilasi adalah untuk memurnikan suatu zat cair pada titik didihnya serta untuk memisahkan cairan tersebut dari zat lain dengan berdasarkan titik didihnya. Keuntungan dari metode destilasi adalah peralatan yang digunakan lebih sederhana dan juga penggunaannya yang lebih mudah. Sedangkan kelemahannya adalah destilasi hanya bisa dilakukan untuk komponen yang mempunyai titik didih yang stabil (Marjoni, 2016)

#### c) Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif stabil dengan adanya prinsip pendingin balik. Pada metode ini hanya digunakan pada bahan yang tahan terhadap panas. Keuntungan dari metode refluks yaitu dapat melarutkan zat aktif pada bahan yang teksturnya kasar, namun kerugiannya butuh volume pelarut yang banyak (Nantsir, 2019).

#### d) Infus

Infus merupakan metode ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 96-98°C selama 15-20 menit. Keuntungan dari metode ekstraksi infus adalah peralatan yang digunakan sederhana dan

dapat mencari simplisia dengan pelarut air dalam waktu singkat (Novi, 2017).

e) Dekok

Dekok merupakan metode ekstraksi seperti infus namun waktunya lebih lama dan pada temperatur titik didih air 100 °C (Natsir, 2019).

### **2.3 Antibakteri**

Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang dapat mengganggu dari pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Mekanisme kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, menghambat sintesis protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta merubah molekul protein dan asam nukleat. Pemakaian suatu antibakteri yang berlebihan juga dapat menyebabkan mikroba yang awalnya sensitif terhadap antibiotik menjadi resisten (Lisnawati dan Tria, 2020).

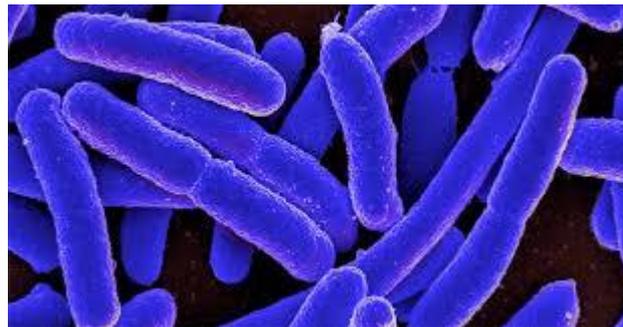
### **2.4 Uraian Bakteri**

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak mempunyai selubung inti) akan tetapi bakteri memiliki informasi genetik berupa DNA yang berbentuk sirkuler, dan bisa disebut *necloid* (Holderman *et al.*, 2017).

### 2.4.1 Bakteri *Escherichia Choli*

#### 1. Klasifikasi Bakteri

Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>E. Coli</i> (Murwani, 2017)



Gambar 3. *Escherichia coli*

#### 2. Morfologi dan Karakteristik

*Escherichia choli* adalah bakteri gram negatif, bersifat anaerob fakultatif, berbentuk batang berukuran dengan panjang sekitar 20  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,25  $\mu\text{m}$ , volume sel 0,6-0,7  $\mu\text{m}$ , tidak membentuk spora, dan motil flagella peritrikus *Escherichia choli* mempunyai bentuk antigen permukaan: O antigen, dan merupakan bagian dari lapisan LPS; H antigen: flagellin; K antigen: kapsula. *Escherichia choli* sering diemukan dalam inestinum bagian bawah dari hotpes berdarah

(endoterm). Sebagian besar *Escherichia coli* tidak berbahaya, tetapi beberapa serotipe dapat menyebabkan keracunan makanan yang serius pada hospesnya. Strain yang tidak berbahaya karena merupakan flora normal dalam usus, dan menguntungkan hospesnya dikarenakan dapat memproduksi vitamin K, dan mencegah suatu kolonisasi bakteri patogen pada intestinum (Murwani, 2017).

*Escherichia coli* bersifat fakultatif anaerob, dimana apabila tersedia O<sub>2</sub> memproduksi ATP melalui respirasi dan apabila tidak tersedia O<sub>2</sub> *Escherichia coli* dapat hidup dengan berbagai jenis substrat, dan apabila kondisi anaerob menggunakannya untuk fermentasi (*mixed-acid fermentation*) menghasilkan laktat, suksinat, ethanol, asetat, CO<sub>2</sub>. pertumbuhan *Escherichia coli* optimum pada suhu 37°C, tetapi pada beberapa strain dapat melakukan multiplikasi pada suhu 49°C. *Escherichia coli* mampu melakukan transfer DNA melalui konjugasi bakterial atau transduksi, sehingga mampu menyebarkan material genetik secara horizontal dalam suatu populasi (Murwani, 2017).

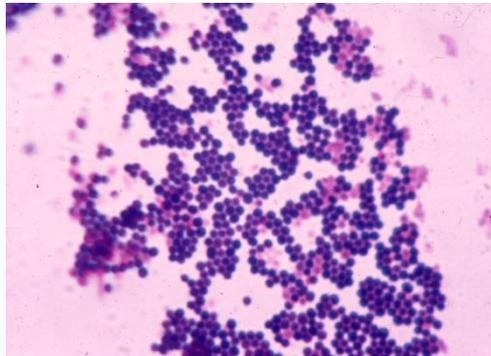
## 2.4.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

### 1. Kasifikasi

Devisio	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Micrococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Lisnawati dan Prayoga, 2020).



Gambar 4. *Staphylococcus aureus*

## 2. Morfologi dan Karakteristik

*Staphylococcus* berasal dari kata “*staphyle*” yang berarti untaian buah anggur dan “*coccus*” yang berarti bakteri yang memiliki morfologi berbentuk bulat dengan ukuran diameter 0,75-1,25  $\mu\text{m}$ . *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, bersifat patogen dengan sel yang berbentuk seperti peluru serta dapat bertahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi misalnya NaCl 10%. Hasil dari pewarnaan yang berasal dari perbenihan padat akan memperlihatkan susunan bakteri yang bergerombol seperti anggur, sedangkan yang berasal dari perbenihan cair akan terlihat bentukan seperti kuman yang lepas sendiri-sendiri, pendek atau berpasangan yang pada umumnya lebih dari empat rantai sel (Lisnawati dan Tria, 2020).

Untuk pembiakan *staphylococcus aureus* dalam keadaan yang anaerobik maka diperlukan suhu yang optimal antara suhu 28-38°C atau sekitar 35°C. pH optimal untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 7,0-7,5°C. Pada keadaan mati bakteri ini masih dapat menghasilkan enterotoksin misal pada makanan yang telah membusuk. *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit melalui kerja toksin tanpa memperhatikan infeksi infasif (Lisnawati dan Prayoga, 2020).

## **2.5 Metode Pengujian Antibakteri**

Pada pengujian antibakteri ini dilakukan untuk mengukur respon populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Kegunaan dari uji antibakteri yaitu diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat dua macam pokok metode pengujian antibakteri terhadap kemampuan kepekaan bakteri patogen yaitu metode difusi dan dilusi (Pratiwi, 2008). Adapun macam-macam metode pengujian tersebut sebagai berikut:

### **2.5.1 Metode Difusi**

#### **1. Metode *Disc Diffusion* (tes Kibry & Bauer)**

Metode ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan

pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar.

## 2. E-test

Metode E-test ini digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media Agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada media area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media Agar.

## 3. *Dith-plate Technique*

Pada media ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media Agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

## 4. *Cup-plate Technique*

Metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media Agar yang telah ditanam dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

## 5. *Gradient-plate Technique*

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media Agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media Agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antibakteri berdifusi dan permukaan mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan pertumbuhan hasil goresan.

### 2.5.2 Metode Dilusi

#### 1. Metode Dilusi Cair / *Broth Dilution Test (Serial Dilution)*

Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration* atau kadar hambat minimum, KHM) dan MBC (*Minimum bactericidal concentration* atau kadar bunuh minimum, KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibakteri,

dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

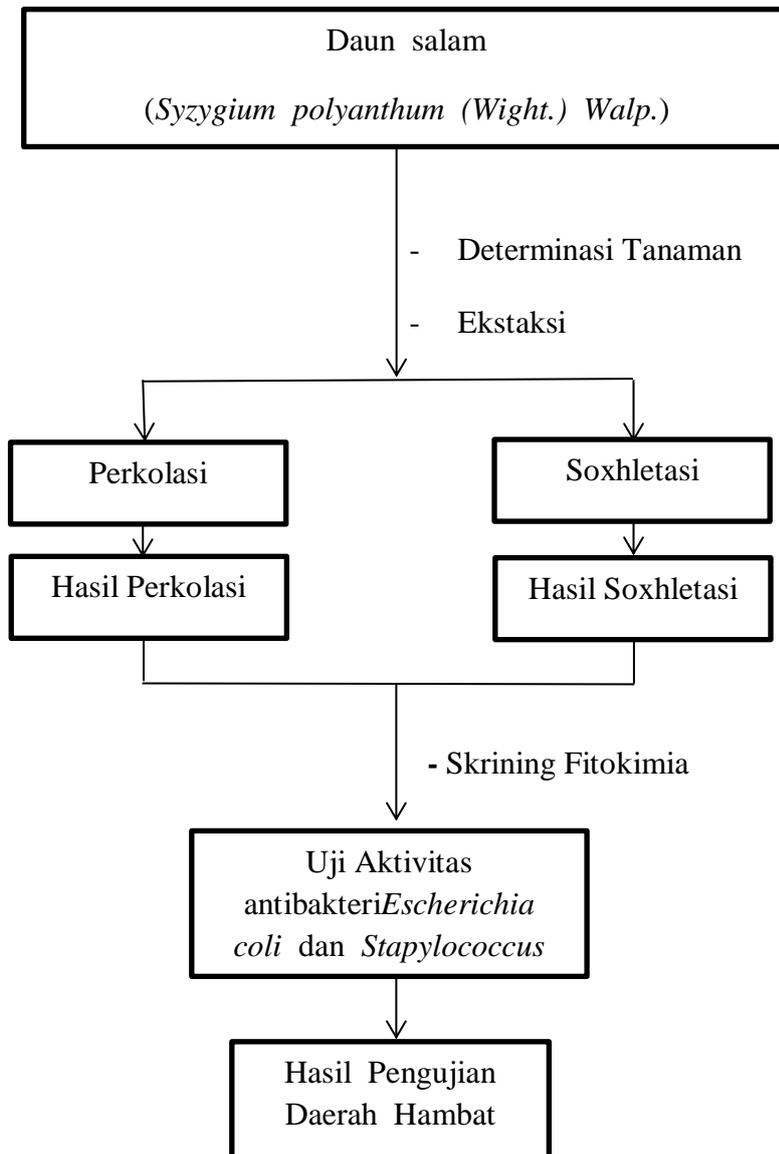
## 2. Metode Dilusi Padat / Solid Dilution Test

Metode ini serupa dengan dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji (Pratiwi, 2008).

## BAB III

### KERANGKA KONSEP

#### 3.1 Kerangka Konsep penelitian



Gambar 3.1

### 3.2 Hipotesis Penelitian

H<sub>0</sub> = Ekstrak Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

H<sub>a</sub> = Ekstrak Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan secara *experimental* yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) menggunakan metode soxhletasi dan perkolasi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*.

#### **4.2 Populasi dan Sampel**

##### 4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.).

##### 4.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) yang diambil dari Desa Pocangan Kecamatan Sukowono Kabupaten Jember.

#### **4.3 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

#### **4.4 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli sampai September 2021.

#### 4.5 Variabel dan Definisi Operasional

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel independen dan variabel dependen, adapun penjelasannya sebagai berikut:

1. Variabel independen/variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen/terikat. Variabel bebas/independen pada penelitian ini ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.).
2. Variabel terikat/variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat, karena adanya variabel bebas/variabel independen. Variabel terikat pada penelitian ini aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*.

**Tabel 4.1**

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Ekstrak etanol daun salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp.)	Ekstrak etanol daun salam adalah sediaan yang dibuat dengan mengekstraksi daun salam dengan metode sokhletasi dan perkolasi menggunakan pelarut etanol 70% lalu	Mengukur % randemen	Neraca analitik	Ekstrak kental etanol 70 % daun salam	Rasio (mg)

		diuapkan				
2.	Aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun salam terhadap bakteri <i>Escherichia choli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang diukur diameter zona hambatnya	Mengukur area jernih disekitar piringan	Jangka sorong	Terbentuknya daerah hambat di sekitar <i>paper disc</i>	Rasio (mm)

#### 4.6 Pengumpulan Data

Pengumpulan data adalah suatu proses pendekatan pada subjek dan proses pengumpulan karakteristik subjek yang diperlukan dalam suatu penelitian. Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah data primer yaitu data yang diperoleh secara langsung dengan empat kali pengulangan dari sumber penelitian.

##### 4.6.1 Alat dan Bahan

###### 1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah soxhletator, perkolator, *rotary evaporator*, tabung reaksi, rak tabung, cawan petridist, mikro pipet, pipet ukur, kawat ose, gelas ukur, kertas saring, autoclave, jangka sorong, inkubator, timbangan analitik, jangka sorong, kamera digital, oven, blender, lampu pijar, kertas cakram, *rotary evaporator*, gelas ukur, kertas saring, aluminium foil, beaker glass, pipiet tetes, mikro pipet,

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.), etanol 70%, aquades, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), pereaksi dragendrof, pereaksi Liberman Burchard (asam asetat glalsial), asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), asam sulfat pekat, serbuk magnesium (Mg),  $FeCl_3$ ,  $HCL_3$ , DMSO 1%, kultur murni bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*.

### 4.6.2 Pengumpulan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan tumbuhan dari daerah lain. Sampel yang diambil yaitu daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, sampel yang digunakan diambil dari desa Pocangan Sukowono Jember.

### 4.6.3 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Salam

Sebanyak 2,5 kg daun salam dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Daun salam yang sudah bersih kemudian dirajang kasar setelah itu dikeringkan dengan cara penjemuran kurang lebih selama 7 hari. Daun salam yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk. Proses penyerbukan simplisia daun salam dilakukan dengan menggunakan alat blender sampai mencapai derajat kehalusan tertentu. Penyerbukan simplisia bertujuan untuk memperbesar luas permukaan antara cairan penyari dengan serbuk.

#### 4.6.4 Identifikasi Simplisia

##### 1. Determinasi Tanaman

Determinasi Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dilakukan dengan menunjukkan tanaman daun salam meliputi daun dan batang kemudian menetapkan kebenarannya sesuai ciri-ciri morfologinya. Determinasi dilakukan di Fakultas Sains Dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

#### 4.6.5 Pembuatan Ekstrak Daun Salam

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode soxletasi dan perkolasi, adapun langkah kerjanya sebagai berikut:

##### 1. Metode Ekstraksi Sokhletasi

Timbang sampel daun salam yang dirajang halus sebanyak 200 gram lalu dibungkus dengan kertas saring, ikat dengan benang dimasukkan kedalam tabung sokhlet. labu didih diisi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 mL, pemanas dinyalakan pada suhu 50°C (melihat suhu terkecil yang memadai) dan proses ekstraksi akan berjalan yang dilakukan sampai 7 siklus selama 4 jam atau sampai cairan tidak berwarna. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Metode sokletasi yaitu menggunakan bahan baku dan pelarut dengan rasio 1:10.

## 2. Metode Ekstraksi Dengan Perkolasi

Timbang 200 mg serbuk daun salam yang sudah dirajang halus lalu masukkan ke dalam alat perkolator dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 mL dengan rasio 1:10. Perkolasi dilakukan dengan alat perkolator selama 2 X 24 jam, dilakukan pada suhu ruang. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan menjadi ekstrak kental dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

### 4.6.6 Uji Skirining Fitokimia

#### 1. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak etanol daun salam sebanyak 1 gram ditambahkan 5 tetes asam sulfat 2N, kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi *dragendorff* cara pembuatan reagen *dragendorff* yaitu sebanyak 8 gram KI dilarutkan dalam 20 mL aquades, sedangkan pada bagian yang lain dilarutkan 0,85 gram bismut subnitrat dalam 10 mL asam asetat glasial dan 40 mL aquades. Kedua larutan ini kemudian dicampurkan. Larutan disimpan dalam botol berwarna coklat. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna jingga sampai merah coklat (Wilapangga, dkk, 2018).

#### 2. Uji Tannin

Sebanyak 1 gram sampel dididihkan selama 3 menit dalam 10 mL air suling lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan

sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III). Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin (Laoli, 2018).

### 3. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan air panas dan dikocok kuat. Adanya buih menunjukkan adanya saponin (Ramyashree et al., 2012 didalam Mengkido, dkk. 2019).

### 4. Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak etanol daun salam sebanyak 1 gram ditambahkan asam asetat glasial sebanyak 10 tetes. Larutan dikocok secara perlahan, kemudian ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 1-3 tetes. Jika terbentuk warna ungu merah yang berubah menjadi biru ungu atau biru kehijauan menunjukkan adanya steroid/triterpenoid (Wilapangga, dkk, 2018).

### 5. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak etanol daun salam sebanyak 1 gram ditambah dengan serbuk Mg 0,1 gram. Kemudian ditambahkan HCL pekat sebanyak 3 tetes. Uji flavonoid positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah (Wilapangga, dkk, 2018).

#### 4.6.7 Sterilisasi Alat Pengujian Aktivitas Antibakteri

Sebelum melakukan pembuatan media dan pengujian Antibakteri alat-alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat non gelas

disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, sedangkan alat-alat gelas disterilkan dengan oven suhu 160-170°C selama 1 jam. Media, kawat ose dan pinset menggunakan api bunsen (Laoli, 2018).

#### 4.6.8 Pembuatan Dan Sterilisasi Media Uji

Media yang digunakan yaitu media *Nutrient Agar* (NA). Medium *Nutrient Agar* (NA) dengan spatula atau sendok yang telah di sediakan ditimbang sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 250 ml aquadest, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* sampai bahan larut sempurna. Pengadukan dilakukan dengan memasukkan magnetik stirer ke dalam larutan. Larutan dipanaskan hingga berwarna kuning jernih kemudian dituang ke dalam erlenmeyer yang telah disterilkan. Selanjutnya, media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril dituang kedalam cawan petri, setelah memadat media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### 4.6.9 Pembuatan Konsentrasi Sampel, Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif

Timbang ekstrak konsentrasi 50% dengan melarutkan 2 gram ekstrak kental ke dalam 5 mL DMSO, untuk konsentrasi 100% dilarutkan 4 gram ekstrak kental kedalam 5 mL DMSO. Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan DMSO 10% dalam aquades dengan cara 10 mL DMSO dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambahkan akuades sampai volumenya 100 mL (Asifa, dkk. 2014). Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu antibiotik *levofloxacin* 5µg/disc dengan cara memasukkan 0,5 gram dilarutkan kedalam aquades DMSO 5 mL lalu

diambil 100  $\mu$ L. Hal ini memacu pada penelitian yang dilakukan oleh Khinanty (2015).

#### 4.6.10 Preparasi dan Uji Aktifitas Antibakteri

Tahapan preparasi uji bakteri yang dilakukan meliputi peremajaan bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* yang dilakukan dengan masing-masing diambil satu ose kemudian diinokulasi dengan cara digoreskan pada medium nutrient agar (NA). Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Mehingko, 2013). Selanjutnya pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* dilakukan dengan cara mengambil 1 ose koloni dari media nutrient agar ke tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl fisiologis hingga diperoleh kekeruhan sama dengan kekeruhan standart *Mc Farland* (Nurhayati, 2020).

Pengujian daya hambat ekstrak etanol daun salam dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*paper disc*) berdiameter 6 mm dengan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* karena metode ini merupakan metode sederhana yang mudah dan cepat untuk pengujian aktivitas antibakteri, uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan empat kali pengulangan (AS Hidayati, dkk. 2017).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menuangkan Natrium Agar (NA) kedalam cawan petri sampai memadat kemudian mengambil suspensi bakteri masing-masing sebanyak 100 $\mu$ L. Kemudian masukkan ekstrak daun salam dengan masing-masing konsentrasi 50%, 100% dan kontrol positif *Levofloxacin* dan kontrol negatif DMSO dan diberi tanda kemudian

diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sampai muncul daerah zona hambat dengan melihat zona bening disekitar media. Kemudian hitung zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

#### **4.7 Pengolahan Dan Analisis Data**

##### 4.7.1 Pengolahan Data

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menghitung diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diukur dalam satuan mm. Zona hambat adalah zona bening pada daerah sekeliling *paper disc* yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diukur menggunakan jangka sorong.

##### 4.7.2 Analisis Data

Untuk mengetahui perbedaan jumlah bakteri, dan data yang diperoleh diolah menggunakan bantuan komputer menggunakan program SPSS data tersebut dianalisis dengan uji Statistik One Way Anova (ANOVA) untuk melihat adanya perbedaan diameter daya hambat pertumbuhan bakteri pada media.

## **BAB V**

### **HASIL**

#### **4.7 Hasil Determinasi Tanaman Daun Salam**

Determinasi tanaman adalah suatu teknik untuk melihat suatu tanaman berdasarkan morfologi tanaman tersebut. Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Fakultas Sains Dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dapat diperoleh kepastian bahwa yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp) dengan surat identifikasi yang dilihat pada lampiran 1.

#### **4.8 Hasil Ekstraksi Daun Salam**

##### **4.8.9 Hasil Ekstraksi Sokhletasi**

Simplisia kering daun salam ditimbang sebanyak 200 gram diekstraksi menggunakan metode Sokhletasi dengan 2000 mL etanol 70% dilakukan selama 7 siklus selama 4 jam dan dipisahkan untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan mempunyai karakter berwarna hitam kecoklatan yang berbau khas. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 30,3 gram sehingga diperoleh rendemen ekstrak kental sebesar 15,15%.

##### **4.8.10 Hasil Ekstraksi Perkolasi**

Simplisia kering daun salam ditimbang sebanyak 200 gram diekstraksi menggunakan metode perkolasi dengan 2000 mL etanol 70% dan dipisahkan untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan mempunyai karakter berwarna hitam

kecoklatan yang berbau khas. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 14,31 gram sehingga diperoleh randemen ekstrak kental sebesar 7,17%.

#### 4.9 Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Salam

Uji skrining fitokimia dilakukan guna mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun salam. Hasil skrining fitokimia yang sudah dilakukan dapat dilihat pada tabel 5.2

Tabel 5.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.)

Golongan Senyawa	Pereaksi	Pengamatan	Hasil	
			Sokhletasi	Perkolasi
Alkaloid	Asam sulfat+ reagen Dragendrof	Endapan berwarna jingga sampai merah coklat	(+) Terbentuk endapan berwarna jingga	(+) Terbentuk endapan berwarna jingga)
Tannin	FeCl <sub>3</sub>	Biru kehitaman atau hijau kehitaman	(+) Terbentuk warna biru kehitaman	(+) Terbentuk warna biru kehitaman
Saponin	Air panas dan kocok kuat	Terdapat buih	(+) Terbentuk buih	(+) Terbentuk buih
Steroid	Asam asetat + asam sulfat pekat	Ungu merah yang berubah menjadi Biru ungu atau biru kehijauan	(+) Terbentuk warna menjadi biru kehijauan	(+) Terbentuk warna menjadi biru kehijauan
Flavonoid	Serbuk Mg + HCL pekat	Berubah warna menjadi merah	(-) Tidak terdapat perubahan warna	(+) Terbentuk warna menjadi merah

Keterangan:

(+) : Hasil Positif

(-) : Hasil Negatif

#### 4.10 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan guna mengetahui apakah daun salam memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri yang sudah dilakukan dapat dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.).

Bakteri Uji	Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)							
		Sokhletasi				Perkolasi			
		K(+)	K(-)	K 50%	K 100%	K(+)	K(-)	K 50%	K 100%
<i>Eschericia coli</i>	R1	14,405	0	6,615	9,535	14,205	0	2,215	7,425
	R2	14,485	0	6,645	10,335	14,595	0	2,425	7,755
	R3	14,895	0	6,775	10,595	14,665	0	2,055	7,525
	R4	14,365	0	6,745	10,805	14,535	0	2,695	7,755
Rata-rata		14,5375	0	6,695	10,3175	0,58681	0	2,3475	7,615
SD		0.186458	0	0.077028	0.55596	0.203715	0	0.276812	0.166733

Bakteri Uji	Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)							
		Sokhletasi				Perkolasi			
		K(+)	K(-)	K 50%	K 100%	K(+)	K(-)	K 50%	K 100%
<i>Staphylococcus Aureus</i>	R1	14,715	0	2,385	7,605	14,495	0	2,435	7,455
	R2	14,495	0	2,325	7,115	12,435	0	2,585	7,555
	R3	14,275	0	2,595	7,275	14,315	0	2,785	7,565
	R4	14,595	0	2,855	7,465	13,925	0	2,965	7,645
Rata-rata		14,52	0	0,120833	7,365	13,7925	0	2,6925	7,555
SD		0.186458	0	0.239792	0.214631	0.935748	0	0.231427	0.077889

Keterangan : K+ = Kontrol positif (*Levofloxacin*)

K- = Kontrol negatif (DMSO)

Hasil zona hambat selanjutnya diuji statistik dengan uji parametik one way ANOVA dengan bantuan soft ware program komputer SPSS versi 2.0. terlebih dahulu diuji normlitasnya dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui distribusi data, hasil uji normalitas memperlihatkan bahwa data terdistribusi normal dengan hasil signifikan  $P > 0,05$ . Dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan uji Levene untuk mengetahui data homogen atau tidak, hasil uji homogen memperlihatkan bahwa data tidak terdistribusi homogen dengan hasil signifikan  $< 0,05$ . Jadi saya melanjutkan uji non parametrik *Kruskal Wallis*, diperoleh nilai signifikan *Kruskal Walsil*  $p = 0,000$  berarti kurang dari 0,05 artinya terdapat perbedaan aktivitas bakteri setiap kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* yaitu uji *Duncan*. Berdasarkan analisis statistik kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat dan tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 50%, tetapi terdapat perbedaan bermakna pada konsentrasi 100% dan kontrol positif, dimana perlakuan ekstrak daun salam dengan konsentrasi 100% baik metode ekstraksi sokhletasi dan metode ekstraksi dengan perkolasi menunjukkan zona hambat lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 50% secara signifikan ( $p = 0,328$ ). Data dapat dilihat pada lampiran 7.

## **BAB VI**

### **PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas daun salam terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan dua metode ekstraksi sokhletasi dan perkolasi, dan dengan perbedaan konsentrasi 50% dan 100%. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun salam yang didapatkan dari Desa Pocangan Kecamatan Sukowono Kabupaten Jember. Sebelum dilakukan penelitian, sampel yang digunakan dilakukan uji determinasi terlebih dahulu yang bertujuan untuk Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk membuktikan bahwa jenis tanaman yang digunakan dalam penelitian sesuai dengan yang dimaksudkan, sehingga tidak ada kesalahan dalam pengambilan sampel. Kebenaran penggunaan tanaman dalam penelitian merupakan syarat penting dalam penelitian untuk menjamin bahwa tanaman tersebut benar-benar spesies tanaman yang digunakan bukan spesies tanaman yang lain. Hasil keputusan yang diambil dari laboratorium di Fakultas Sains Dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta diambil pernyataan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Salam (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.*

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun salam yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua. Sebelum dilakukan proses ekstraksi daun salam yang sudah dipetik terlebih dahulu disortasi basah. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan-bahan asing lainnya

dari simplisia, kemudian dicuci dengan menggunakan air yang mengalir yang bersih dan mengalir. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Setelah proses pencucian dilakukan proses pengeringan dengan cara dijemur dibawah matahari secara tidak langsung dengan menggunakan penutup kain. Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dikarenakan air yang masih tersisa dalam simplisia dapat menimbulkan tumbuhnya kapang dan mikroorganisme lainnya. Simplisia daun salam kemudian dihaluskan menggunakan blender. Tujuan dihaluskan untuk memperluas partikel karena semakin luas ukuran partikel maka semakin banyak permukaan yang kontak dengan cairan penyari sehingga senyawa akan tersari maksimal. Sampel serbuk yang sudah dihaluskan, selanjutnya diekstraksi dengan metode sokhletasi dan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan pelarut etanol 70% dilakukan karena pelarut etanol 70% merupakan pelarut yang universal yang mampu menarik senyawa yang bersifat polar hingga non polar, etanol dengan kadar diatas 20% dapat menghambat pertumbuhan kapang dan bakteri (Ambaro, dkk).

Metode ekastraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan cara sokhletasi dan perkolasi dengan perbandingan pelarut masing-masing 1:10 yaitu 100 gram sampel dan 2000 mL pelarut, pemilihan ekstraksi dengan cara sokhletasi karena metode sokhletasi lebih efektif dan efisien dibanding dengan metode lain, cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit

dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat (Ilham syah, 2015). Pada proses sokhletasi, simplisia daun salam sebanyak 200 gram diekstraksi dengan etanol 70% sebanyak 2000 mL. Kemudian ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C, dimana merupakan suhu dibawah titik didih etanol yang bertujuan agar pemanasan dibawah titik didih pelarut dapat melindungi senyawa yang terkandung dalam pelarut, dan didapatkan ekstrak kental gram dengan randemen ekstrak sebanyak 30,3 gram sehingga diperoleh randemen ekstrak kental sebesar 15,15% (Ilham syah dkk, 2015).

Pemilihan metode ekstraksi perkolasi pada penelitian ini dikarenakan metode perkolasi dapat menyari lebih sempurna dibandingkan metode maserasi namun membutuhkan pelarut yang lebih banyak dan waktunya lama (Verawati dkk, 2017). Pada proses perkolasi, simplisia daun salam sebanyak 200 gram dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 mL, kemudian masukkan kedalam alat perkolator dan mengatur kecepatan menetes dengan kecepatan 1 mL permenit. Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C, dimana merupakan suhu dibawah titik didih etanol yang bertujuan agar pemanasan dibawah titik didih pelarut dapat melindungi senyawa yang terkandung dalam pelarut, dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 14,31 gram sehingga diperoleh randemen ekstrak kental sebesar 7,17%.

Hasil ekstraksi selanjutnya dilakukan identifikasi metabolit sekunder dimana bertujuan untuk memastikan kembali bahwa senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam daun salam tidak hilang pada saat melakukan proses penyaringan dan penguapan. Dari hasil penelitian ekstraksi daun salam dengan menggunakan metode ekstraksi sokhletasi dapat dibuktikan adanya golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tannin, saponin, dan steroid sedangkan pada metode ekstraksi perkolasi terdapat adanya metabolit sekunder seperti alkaloid, tannin, saponin, steroid, dan flavonoid. Perbedaan dari kedua ekstraksi tersebut dapat dilihat dari hasil flavonoid dimana metode ekstraksi dengan cara sokhletasi tidak terdapat kandungan flavonoid dimana pada hasil ekstrak dengan metode sokhletasi tidak terjadi perubahan warna setelah ekstrak dicampur dengan *reagent*, hal tersebut terjadi dikarenakan flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi dimana sistem aromatik terkonjugasi mudah rusak pada suhu tinggi. Beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula sehingga akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Sa'adah dkk, 2017).

Pada uji skrining fitokimia alkaloid, menunjukkan bahwa daun salam positif mengandung alkaloid. Menurut (Padmasari, 2012) alkaloid dapat tertarik tertarik pada pelarut etanol karena senyawa alkaloid bersifat polar. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya endapan setelah ditetesi pereaksi asam sulfat 2N sebanyak 5 tetes kemudian ditambahkan pereaksi *dragendroff* sebanyak 3 tetes. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya

endapan berwarna jingga dari kedua metode ekstraksi. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri melalui sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Trisia *et al.*, 2018).

Pada uji skrining fitokimia tannin, menunjukkan bahwa daun salam positif mengandung tannin. Golongan tannin merupakan senyawa fenolik yang cenderung larut dalam air sehingga cenderung bersifat polar (Padmasari, 2012). Hal ini dibuktikan dengan perubahan warna setelah ditetesi pereaksi  $FeCl_3$  sebanyak 2 tetes. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi biru kehitaman dari kedua metode ekstraksi. Tannin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan enzim (Trisia *et al.*, 2018).

Pada uji skrining fitokimia saponin, menunjukkan bahwa daun salam mengandung saponin dimana pada umumnya saponin berada dalam bentuk glikosida sehingga cenderung bersifat polar (Padmasari, 2012). Hal ini dapat dibuktikan dengan terdapatnya buih setelah diberikan air panas dan dikocok kuat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih dari kedua metode ekstraksi. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Trisia *et al.*, 2018).

Pada uji skrining fitokimia steroid, menunjukkan bahwa daun salam mengandung steroid. Hal ini dapat dibuktikan dengan terdapatnya perubahan

warna setelah diberikan pereaksi asam asetat sebanyak 10 tetes kemudian dikocok secara perlahan, dan ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 1-3 tetes. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi biru kehijauan dari kedua metode ekstraksi (wilapangga, 2018). Mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba adalah dengan merusak membran plasma sel mikroba, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel yang selanjutnya menyebabkan kematian sel (Trisia *et al.*, 2018).

Pada uji skrining fitokima flavonoid, flavonoid umumnya lebih mudah larut dalam air atau pelarut polar dikarenakan memiliki ikatan dengan gugus gula (Padmasari, 2012). Hal ini dapat dibuktikan dengan adanya perubahan warna setelah diberikan pereaksi serbuk Mg sebanyak 0,1 gram kemudian ditambahkan HCL pekat sebanyak 3 tetes. Ekstraksi dengan metode sokhletasi menunjukkan tidak ada perubahan warna sedangkan pada metode ekstraksi perkolasi menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah. Mekanisme kerja flavonoid adalah membentuk senyawa kompleks protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Trisia *et al.*, 2018). Masing-masing senyawa metabolit sekunder memiliki mekanisme kerja yang saling bersinergis sehingga menambah aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Proses selanjutnya yaitu uji aktivitas antibakteri. Uji aktivitas dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun salam terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan pada

penelitian ini untuk menghambat aktivitas antibakteri adalah dengan menggunakan metode difusi cakram dengan medium Nutrient Agar (NA) pemilihan metode difusi cakram karena resiko kegagalan lebih kecil dibanding cara lainnya karena pada saat media yang telah dilakukan penggoresan,, media tersebut ditempatkan secara terbalik untuk mencegah tetesan uap air yang timbul jatuh ke atas media yang telah ditanami bakteri, tetesan tersebut dapat mempengaruhi hasil akhir dari inkubasi. Selain itu metode difusi cakram lebih efisien terhadap waktu yang digunakan dalam penelitian (Putra I Made A. S., 2015) dengan pengulangan sebanyak empat kali. Metode ini dilakukan untuk mengetahui besarnya diameter hambatan yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi selama 24 jam. Kandungan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) akan keluar untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada medium, yang ditandai dengan adanya diameter zona hambat bening yang terdapat di sekeliling kertas cakram. Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian milimeter (mm).

Medium Nutrient Agar merupakan medium yang baik sebagai tempat tumbuhnya bakteri baik bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang mana dimanfaatkan sebagai tempat sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri yang sebelumnya disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dituang ke dalam cawan petri sebanyak 10 mL tunggu sampai agak padat. Pengerjaan secara aseptis kedalam cawan petri

agar tidak terkontaminasi bakteri dan jamur lain dengan pengerjaan menggunakan *Laminar air flow* (LAF). Setelah itu masukkan kertas cakram yang telah diberi kontrol positif, kontrol negatif dan ekstrak dengan konsentrasi 50% dan 100% kemudian masukkan kultur bakteri sebanyak 100  $\mu$ L ke dalam masing-masing cawan petri.

Penyakit diare merupakan gangguan saluran pencernaan (usus) yang ditandai dengan frekuensi defekasi yang lebih dari biasanya, yang disertai dengan perubahan bentuk dan konsistensi feces menjadi lebih lembek dan cair. Penyakit saluran pencernaan dapat disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur dan protozoa. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif, yang bersifat fakultatif aerob yang berbentuk bulat dan cembung (Dewanti dkk, 2011).

Penelitian ini memperlihatkan bahwa ekstrak etanol daun salam dengan konsentrasi 50% dan 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hal ini disebabkan dengan adanya senyawa metabolit sekunder tertentu yang terkandung dalam sampel daun salam (Dewanti dkk, 2011). Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO yang menunjukkan tidak adanya zona hambat. Pelarut DMSO merupakan pelarut yang organik yang tidak bersifat bakterisidal. Hal ini menandakan bahwa DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga bisa dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh DMSO.

Berdasarkan dari pengukuran diameter zona hambat hambatan dari sampel terlihat jelas bahwa setiap masing-masing konsentrasi sampel

memberikan ukuran diameter zona hambat yang berbeda-beda. Aktivitas antibakteri daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) yang diukur dengan diameter zona bening yang dihasilkan berkisar antara 2,055-10,805 mm. Pada penelitian dilakukan replikasi sebanyak empat kali pada perlakuan dengan konsentrasi 50% hasil terbaik didapatkan pada replikasi ketiga pada bakteri *Escherichia coli* dan dengan menggunakan metode sokhletasi diperoleh zona hambat sebesar 6,775, pada konsentrasi 100% hasil terbaik didapatkan pada replikasi keempat pada bakteri *Escherichia coli* dan dengan menggunakan metode sokhletasi diperoleh zona hambat sebesar 10,805 mm.

Untuk membandingkan aktivitas uji antibakteri daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dengan antibakteri sebagai penghambat maka digunakan antibiotik yaitu *levofloxacin* dengan mekanisme kerja melalui penghambatan topoisomerase type II DNA gyrase, yang menghasilkan penghambatan replikasi dan transkripsi DNA bakteri, dengan cara *levofloxacin* 0,5 mg dilarutkan dalam DMSO 5 mL lalu diambil sebanyak 100  $\mu$ L. Pada bakteri *Escherichia coli* memiliki zona hambat sebesar 14,895 mm dan pada *Staphylococcus aureus* sebesar 14,595.

Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak etanol dalam daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dibuat dengan beberapa konsentrasi yaitu: 50% dan 100%. Semakin tinggi

konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula zona hambat atau beningnya.

Terdapatnya perbedaan zona hambat yang dihasilkan dipengaruhi oleh bakteri uji yang digunakan, dikarenakan setiap bakteri memiliki kepekaan yang berbeda-beda terhadap sampel dimana bakteri akan membentuk resistensi dalam dirinya yang merupakan mekanisme kerja alamiah dalam mempertahankan hidupnya. Selain pengaruh jenis bakteri yang digunakan, penyebab perbedaan zona hambat yang dihasilkan disebabkan oleh pemberian konsentrasi sampel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) yang berbeda dalam hal ini kemampuan dari zat yang diduga terkandung dalam sampel dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Menurut Pelczar dan Chan kandungan flavonoid mampu mendenaturasi sel, disamping itu adanya kandungan tannin memiliki mekanisme menghambat pertumbuhan bakteri dengan memunculkan denaturasi protein sehingga menghambat terjadinya koagulasi plasma yang diperlukan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Suciari, dkk. 2017).

Menurut Davis dan Stout kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut, diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat (Nayna *et al.* 2019)

Dari hasil pengukuran diameter zona hambat pada tabel 5.3 diperoleh rata-rata zona hambat untuk konsentrasi 50% tergolong kategori sedang.

Sedangkan untuk konsentrasi 100% dan kontrol positif tergolong kategori kuat. Hal tersebut membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun salam, maka semakin baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Dibuktikan dengan semakin besar konsentrasi atau zat aktif yang dilarutkan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk, hal ini juga disebabkan oleh banyaknya kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, tannin, saponin, steroid dan flavonoid yang terkandung di dalamnya dan mengakibatkan aktivitas antibakteri yang semakin besar (Suciari, dkk. 2017)..

Selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan uji One Way Anova, aktivitas antibakteri pada kelompok (ekstrak daun salam) dengan konsentrasi 50% dan 100%, *levofloxacin* sebagai pembanding kontrol positif dan DMSO sebagai pembanding kontrol negatif, dan diperoleh hasil bahwa perbedaan konsentrasi berpengaruh pada penghambatan aktivitas bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan dapat dilihat bahwa ekstrak daun salam dengan konsentrasi 50% dan 100% serta *levofloxacin* sebagai pembanding kontrol positif menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan.

Ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dengan konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan perbedaan efek yang signifikan demikian pula ekstrak 100% dan *levofloxacin* menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan. Dari hasil ini dapat dikatakan bahwa semua konsentrasi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.)

*Walp.*) memiliki efek yang berbeda dengan nyata dengan kontrol positif *levofloxacin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dalam hal ini *levofloxacin* memiliki efek yang lebih besar.

Hasil uji analisis yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dengan konsentrasi 50% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut dan memberikan efek yang berbeda nyata dengan *levofloxacin* sebagai pembanding. konsentrasi tertinggi yang mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri adalah 100% pada replikasi keempat dengan diameter zona hambat 10,805 mm untuk bakteri *Escherichia coli* dan 7,609 mm pada replikasi pertama untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan semua konsentrasi memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kedua bakteri dibawah kontrol *levofloxacin* sebagai pembanding dengan diameter zona hambat 14,665 mm untuk bakteri *Escherichia coli* pada replikasi ketiga dan 14,495 mm pada replikasi pertama untuk bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **BAB V11**

### **PENUTUP**

#### **7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50% dan 100%.
2. Aktivitas antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* membuktikan zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 10,05 mm dan 7,605 mm.

#### **7.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder contohnya dengan menggunakan metode KLT terhadap kandungan ekstrak etanol daun salam
2. Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan bakteri lain untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun salam sebagai zat antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aini, S. N., Effendy, R. and Widjiastuti, I. (2016) 'Konsentrasi Efektif Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) terhadap Hambatan Biofilm *Enterococcus faecalis*. *Conservative Dentistry Journal*, 6(2), 87-92.
- Amboro, F.Y. *et al.* (2020) Prosedur Ekstraksi Maserasi Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-cristi* L.) Menggunakan Pelarut Etanol Dan Air. *Prosiding Farmasi*. 6(2), 890-893
- Dewanti, S., Wahyudi, M. T. (2011) Antibacteria Activity Of Bay Leaf Infuse (*Folia Syzygium Polianthum* Wight) To *Escherichia coli* In-Vitro. *Jurnal Medika Planta*, 1(4), 78-81
- Febrina, L., Riris, I. D. dan Silaban, S. (2017) 'Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* Dan Antioksidan Dari Ekstrak Air Tumbuhan Binara (*Artemisia vulgaris* L.)', *Jurnal Pendidikan Kimia*, 9(2), 311–317.
- Gholib, D. 2015. Tanaman Herbal Anti Cendawaeterinern. Pusat Penelitian Dan Pengembangan Peternakan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian: 18-19
- Hidayati, S. N. *et al.* (2016) '7. Pertumbuhan *Escherichia coli* Yang Diisolasi Dari Feses Anak Ayam Broiler Terhadap Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.). *Jurnal Medika Veterinaria*, 10(2), 100-104.
- Holderman, M. V *et al.* (2017) 'Identification Of Bacteria In Handrail Escalator on', 17(1), 13–18.
- Ilham syah, M. Suwendar., Mulqie, L. (2015) Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L. "rumanis") Pada Mencit Swiss Webster Jatan Dengan Metode Tes Toleransi Glukosa Oral (Ttgo). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*.
- Khinanty, N. (2015) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Pelepah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Propionibacterium acnes*. Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, 2(2), pp. 422–433
- Laoli, N. S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Bakteri *Bacillus substilis* dan *Proteus vulgaris*. Tugas Akhir. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan 4, pp. 67–73.
- Lisnawati, N., Tria, P. 2020. Ekstrak Buah Belimbimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Surabaya: Jakad Media Publishing.
- Lukman, A. (2016) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocinum sanctum* L) Terhadap Bakteri Patogen Dengan Metode KLT Biografi. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Malang Negeri Alauddin Makassar, pp. 39
- Marjoni, R, M. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia. Jakarta:CV.Trans Info Media.
- Mengkido Melsi, Orryani Lambui, W. H. (2019) Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap

- Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, pp. 1–9.
- Murwani, S. *et al.* 2017. Penyakit Bakterial Pada Ternak Hewan Besar Dan Unggas. Malang: UB Press.
- Novi, Y. (2017). Infusa Daun Randu (*ceibapetandraaertn*) Untuk Formulasi Obat Kumur. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2 (2), 225-231.
- Natsir, H. M. *et al.* (2019). Teknologi Pengolahan Bahan Pakan Dan Ternak. Malang: UB Press
- Nurhayati, Lilih Siti Yahdiyani, Nadhira Hidayatulloh, Akhmad. (2020) Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, pp. 41
- Padmasari, P. D., *et al.* (2012) Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimoang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.), *Jurnal Farmasi Udayana*, 1-7
- Prayudo, A. N., Novian, O. dan Antaresti. (2015). ‘Koefisien Transfer Massa Kurkumin dari Temulawak’, *Jurnal Ilmiah widya teknik*, 14(1), 26–31
- Pratiwi, S., U., T., 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta:Erlangga.
- Putra I Made A. S. (2015) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annonae muricata* L.) Dengan Metode Difusi Agar Cakram Terhadap *Escherichia coli*, *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 1 (1), 1-5.
- Rahmi, Y. *et al.* (2015) ‘Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Preputium dan Vagina Kuda (*Equus caballus*)’, *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2), 154-158.
- Saidah, H., Nurhasnawati, H., Permatasari, V. (2017). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak tanol Umbi Bawang Dayak (*Elecutherine palmifolia* (L) Merr) Dengan Metode Spektrofotometri, 1(1), 1-9
- Septiani, S., Dewi, E. N. and Wijayanti, I. (2017) ‘Aktivitas Antibakteri Ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 13(1), 1-6.
- Silalahi, M. (2017) ‘*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. (Botani, Metabolit Sekunder dan Pemanfaatan)’, *Jurnal Dinamika Pendidikan*, 10(1), 187–202.
- Suciari dkk. (2017). Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Rebusan Daun Salam (*syzygium polyanthum*) Secara In Vitro. <http://ejournal.poltekkes.denpasar.ac.id>. 5(2). 92-100,
- Tammi, A. *et al.* (2018) ‘Potensi Ekstrak Daun Salam ( *Syzygium polyanthum* [ Wight .] Walp .) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *J Agromedicine Unila*, 5(2), 562–566.
- Tantri Yulianti, D. C. (2011) ‘Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Salam Terhadap Umur Simpan Bakso’. *Agrointek*, 11(2), 37–44.
- Trisnawati, E. E., Winni Astuti, dan Rudi Kartika. (2020). Kemampuan Ekstrak Metanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Salmonella typhi*.
- Verawati., Noviandi, d., Petmawati. (2017) Pengaruh Metode Eksraksi Terhadap

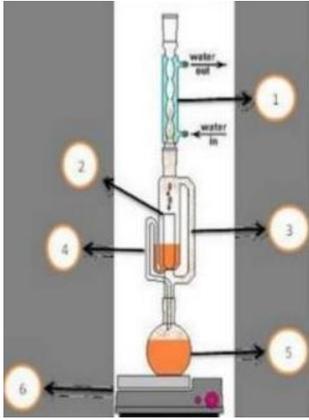
- Kadar Fenolat Total Dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polianthum* (Wight.) Walp.) Jurnal Katalisator, 2(2), 53-60
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R. and Permana, I. D. G. M. (2018) 'Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) *Burm F.*). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, 7(4), 213-222.
- Wilapangga, A. Sari, L.P. (2018). Analisis Fitokimia dan Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*). Ijobb, pp. 19-24
- Yulianti, M. 2012. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (wight) walp.) Terhadap Beberapa Mikroba Patsogen Secara KLTt-Bioautografi. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1.

### STANDAR OPERASIONAL PROSEDUR (SOP)

#### Pembuatan Ekstrak Daun Salam Dengan Metode Sokhleasi

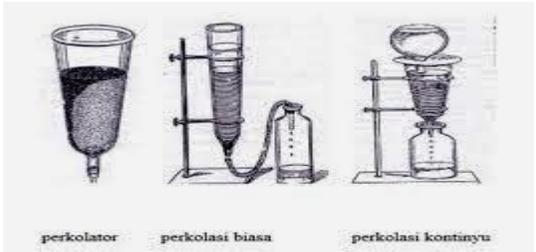
 <p>Universitas dr. Soebandi Jember</p>	No. SOP	
	Tgl. Pembuatan	18-06-2021
	Tgl. Revisi	-
	Tgl. Efektif	
	Disahkan Oleh	Penanggung Jawab Laboratorium  Edi Susanto S.Farm NIDN. 199410102019021155
1. Fungsi	Untuk mengekstraksi bahan alam menggunakan pelarut organik secara kontinu dengan pemanasan.	
2. Pelaksana	Qurrotun Faizah	
3. Gambar alat	 <p>Keterangan:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kondensor: berfungsi sebagai pendinginan</li> <li>2. Timbal: berfungsi sebagai wadah untuk sampel yang ingin diambil zatnya</li> <li>3. Pipa F: berfungsi sebagai jalannya uap, bagi pelarut yang menguap dari proses penguapan</li> </ol>	

	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. Sifon: berfungsi sebagai perhitungan siklus, bila pada sifon laruannya penuh kemudian jatuh ke labu alas bulat maka hal ini dinamakan 1 siklus</li> <li>5. Labu alas bulat: berfungsi sebagai wadah bagi sampel dan pelarutnya</li> <li>6. Hot plate: berfungsi sebagai pemanas larutan</li> </ol>
<p>4. Prosedur</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Letakkan labu sokletasi pada <i>heating mantle</i></li> <li>2. Masukkan pelarut etanol 70% yang akan digunakan, selanjutnya masukkan batu didih</li> <li>3. Pasang tabung sokletasi       <ol style="list-style-type: none"> <li>a) Daun salam ditimbang terlebih dahulu sebanyak 200 gram kemudian bungkus dengan kertas saring.</li> <li>b) Sampel dimasukkan ke dalam tabung sokletasi</li> </ol> </li> <li>4. Sambungkan kondensor pada tabung sokletasi yang telah terpasang, jepit kondensor dengan klem yang telah terpasang statif.</li> <li>5. Atur ketinggian klem agar kondensor dan labu destilasi tidak miring.</li> <li>6. Pasang selang air pada kondensor dan atur agar aliran <i>counter current</i>.</li> <li>7. Alirkan air menuju kondensor</li> <li>8. Hubungkan steker <i>heating mantle</i>, dengan stop kontak 220 V.</li> <li>9. Atur skala pemanasan <i>heating mantle</i> pada skala pemanasan 50°C.</li> <li>10. Lakukan ekstraksi sampai 7 siklus atau sampai cairan tidak berwarna .</li> <li>11. Setelah selesai :</li> <li>12. Matikan <i>heating mantle</i> dan cabut steker <i>heating mantle</i></li> <li>13. Matikan aliran air pada kondensor</li> <li>14. Lepas selang air pada kondensor</li> <li>15. Lepas kondensor dari adaptor kondensor pada leher labu sokletasi.</li> <li>16. Lepas klem pada kondensor</li> <li>17. Buang batu didih yang tersisa pada labu sokletasi</li> <li>18. Dinginkan labu sokletasi terlebih dahulu sebelum digunakan lagi.</li> <li>19. ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan <i>rotary evaporator</i> pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental</li> </ol>

Lampiran 2.

STANDAR OPERASIONAL PROSEDUR (SOP)

Pembuatan Ekstrak Daun Salam Dengan Metode Perkolasi

 <p>Universitas dr. Soebandi Jember</p>	No. SOP	
	Tgl. Pembuatan	18-06-2021
	Tgl. Revisi	-
	Tgl. Efektif	
	Disahkan Oleh	Penanggung Jawab Laboratorium  Edi Susanto S.Farm NIDN. 199410102019021155
1. Fungsi	Untuk mengekstraksi bahan alam menggunakan pelarut organik dengan cara melewatkan pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu percolator.	
2. Pelaksana	Qurrotun Faizah	
3. Gambar alat	 <p>perkolator      perkolasi biasa      perkolasi kontinyu</p>	
4. Prosedur	<p>7.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 Rangkai alat perkolasi</li> <li>2 timbang 200 mg serbuk daun salam yang sudah dirajang halus</li> <li>3 masukkan simplisia ke dalam suatu bejana silinder yang dibawahnya diberi sekat berpori</li> <li>4 ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 mL degan cara dialirkan dari atas ke bawah melewati serbuk simplisia</li> <li>5 Lakukan selama 2 X 24 jam, pada suhu ruang .</li> </ol>	

	6 ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan <i>rotary evaporator</i> pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental.
--	---

Lampiran 3.

STANDAR OPERASIONAL PROSEDUR (SOP)

Pembuatan Uji Antibakteri

 <p>Universitas dr. Soebandi Jember</p>	No. SOP	
	Tgl. Pembuatan	18-06-2021
	Tgl. Revisi	-
	Tgl. Efektif	
	Disahkan Oleh	Penanggung Jawab Laboratorium  Edi Susanto S.Farm NIDN. 199410102019021155
1. Fungsi	Untuk mengekstraksi bahan alam menggunakan pelarut organik secara kontinyu dengan pemanasan.	
2. Pelaksanaan	Qurrotun Faizah	
3. Alat dan bahan	<p>Alat:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. tabung reaksi sebanyak 10</li> <li>2. cawan petridist sebanyak 14</li> <li>3. mikro pipet</li> <li>4. pipet ukur</li> <li>5. kawat ose</li> <li>6. lampu pijar</li> <li>7. kertas cakram</li> <li>8. mikro pipet</li> </ol> <p>Bahan:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ekstrak daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp.)</li> <li>2. media Nutrient Agar (NA)</li> <li>3. etanol 70%</li> <li>4. kultur murni bakteri <i>Escherichia coli</i></li> <li>5. kultur murni bakteri <i>Stapylococcus aureus</i></li> <li>6. DMSO 1%</li> </ol>	

<p>5. prosedur</p>	<p><b>Pembuatan Dan Sterilisasi Media</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Nutrient Agar (NA) sebanyak 5 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer</li> <li>2. tambahkan 100 ml akuades</li> <li>3. panaskan di atas <i>hot plate</i> sampai bahan larut sempurna hingga berwarna kuning jernih kemudian dituang kedalam erlenmeyer yang telah disterilkan</li> <li>4. media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.</li> <li>5. Media yang telah steril dituang kedalam cawan petri sampai memadat</li> <li>6. media yang telah padat diinkubasi pada suhu 37°C selama 22 jam</li> </ol> <p><b>Pembuatan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif</b></p> <p><b>a. Kontrol negatif</b></p> <p>10 mL DMSO dimasukkan kedalam gelas ukur dan ditambahkan akuades sampai volumenya 100 mL</p> <p><b>b. Kontrol positif</b></p> <p>Antibiotik levofloxacin 0,5 mg dilarutkan dalam DMSO 5 ml lalu diambil 100 µL</p> <p><b>c. Konsentrasi 50%</b></p> <p>Ekstrak sebanyak 2 gram dilarutkan dalam DMSO 5 ml lalu diambil 100 µL</p> <p><b>d. Konsentrasi 100%</b></p> <p>Ekstrak sebanyak 4 gram dilarutkan dalam DMSO 5 ml lalu diambil 100 µL</p> <p><b>Preparasi uji bakteri meliputi:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. peremajaan bakteri yang dilakukan dengan</li> </ol>
--------------------	--

	<p>menanam bakteri kedalam nutrient agar. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.</p> <p>2. pembuatan suspensi bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Stapylococcus aureus</i> dilakukan dengan cara mengambil NaCl sebanyak 10 mL kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan kultur bakteri sebanyak 50 µL <b>Uji Aktifitas Antibakteri</b></p> <p>Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (<i>paper disc</i>) berdiameter 6 mm</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. paper disk yang digunakan sebanyak 14 dengan masing masing bakteri menggunakan 8 paper disk</li> <li>2. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara <i>paper disc</i> dicelupkan kedalam DMSO sebagai kontrol negatif (-),</li> <li>3. kontrol positif (+) <i>paper disc</i> dicelupkan kedalam antibiotik levofloxacin</li> <li>4. kontrol perlakuan <i>paper disc</i> dicelupkan ke dalam ekstrak daun salam yang sudah diekstraksi menggunakan metode sokhletasi dan perkolasi kemudian dengan konsentrasi 50% dan 100% diletakkan di atas media nutrient agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama</li> </ol>
--	--

	<p>2x24 jam</p> <ol style="list-style-type: none"><li>5. Pengamatan dilakukan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar <i>paper disc</i></li><li>6. Aktifitas antibakteri ekstrak daun salam dengan perbandingan metode sokhletasi dan perkolasi ditentukan dengan berdasarkan konsentrasi hambat minimum.</li></ol>
--	--

## LAMPIRAN

### Lampiran 4. Determinasi Tanaman Daun Salam



#### LABORATORIUM BIOLOGI

#### FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI TERAPAN UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

Jl. Ringroad Selatan, Tamanan, Banguntapan, Bantul

---

#### SURAT KETERANGAN Nomor : 054/Lab.Bio/B/II/2021

Yang bertanda tangan di bawah ini Kepala Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan menerangkan bahwa :

Nama : Qurrotun Faizah  
NIM : 17040081  
Prodi, PT : Farmasi, STIKES dr. Soebandi Jember

Telah melakukan determinasi tanaman dengan bimbingan Hery Setiyawan, M.Si di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan, pada tanggal 18 Februari 2021

Tanaman tersebut adalah :  
*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.

Demikian Surat Keterangan ini untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 20 Februari 2021

Kepala Lab. Biologi

  
Didi Sasongko, M.Si.

## Lampiran 5. Penimbangan dan perhitungan



### 1. Perhitungan hasil Rendemen

#### a. sokhletasi

Bobot simplisia awal = 200 gram

Berat ekstrak akhir = 30,3 gram

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak akhir}}{\text{bobot simplisia awal}} \times 100\% \\ &= \frac{30,3 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 15,15 \%\end{aligned}$$

#### b. perkolasi

Bobot simplisia awal = 200 gram

Berat ekstrak akhir = 14,31 gram

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak akhir}}{\text{bobot simplisia awal}} \times 100\% \\ &= \frac{14,31 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 7,17 \%\end{aligned}$$

### 3. Perhitungan Media

*Nutrient Agar* (NA) = 20 gram ~ 1000 mL

$$= x \sim 250 \text{ mL}$$

$$= \frac{20 \text{ gram} \times 250 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 5 \text{ gram} \sim 250 \text{ mL}$$

Caranya:

Ambil *Nutrient Agar* kemudian timbang sebanyak 5 gram lalu masukkan ke dalam erlenmeyer tambahkan aquades ad 100 mL

*Nutrient Broth* (NB) = 8 gram ~ 1000 mL

$$= x \text{ gram} \sim 50 \text{ mL}$$

$$= \frac{8 \text{ gram} \times 50 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 0,8 \text{ gram} \sim 50 \text{ mL}$$

Caranya:

Ambil *Nutrient Broth* kemudian timbang sebanyak 0,8 gram lalu masukkan ke erlenmeyer tambahkan aquadest ad 50 mL.

### 1. Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5

BaCl 1% = 1 gram ~ 100 mL

$$x \text{ gram} \sim 100 \text{ mL}$$

$$x = 1 \text{ gram dalam } 100 \text{ mL aquadest}$$

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% = 1 mL dalam 100 mL

$$x \text{ mL} \sim 100 \text{ mL}$$

$$x = 1 \text{ mL dalam } 100 \text{ mL aquadest}$$

Caranya :

Ambil BaCl sebanyak 0,05 mL dengan menggunakan pipet ukur masukan ke tabung reaksi, kemudian ambil H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebanyak 9,95 mL dengan pipet ukur masukan ke tabung reaksi, lalu *vortex* hingga homogen. Kemudian amati absorbansinya dengan panjang gelombang 625 nm rentang 0,08 – 013.

## 2. Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus Aureus*

NaCl 0,9 % = 0,9 gram ~ 100 mL

x gram ~ 100 mL

x = 0,9 gram dalam 100 mL *aquadest*

Caranya :

Ambil larutan NaCl sebanyak 10 mL kemudian masukan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan kultur bakteri sebanyak 50  $\mu$ L *vortex* hingga homogen. Kemudian amati absorbansinya dengan panjang gelombang 625 nm rentang 0,08 – 0,13.

## 3. Pembuatan Konsentrasi Sampel, Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

K - : DMSO 10% = 10 mL ~ 100 mL

x gram ~ 100 mL X

x = 10 mL dalam 100 mL *aquadest*.

K + : *Levofloxacin* 0,5 gram dilarutkan dalam DMSO 5 mL lalu diambil 100  $\mu$ L

50% : Ekstrak sebanyak 2 gram dilarutkan dalam DMSO 5 mL lalu diambil 100  $\mu$ L

100% : Ekstrak sebanyak 4 gram dilarutkan dalam DMSO 5 mL lalu diambil 100  $\mu$ L

Lampiran 6. Hasil Pengukuran Zona Hambat

Bakteri Uji	Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)							
		Sokhletasi				Perkolasi			
		K(+)	K(-)	K 50%	K 100%	K(+)	K(-)	K 50%	K 100%
Eschericia coli	R1	14,405	0	6,615	9,535	14,205	0	2,215	7,425
	R2	14,485	0	6,645	10,335	14,595	0	2,425	7,755
	R3	14,895	0	6,775	10,595	14,665	0	2,055	7,525
	R4	14,365	0	6,745	10,805	14,535	0	2,695	7,755
Rata-rata		14,5375	0	6,695	10,3175	0,58681	0	2,3475	7,615
SD		0.186458	0	0.077028	0.55596	0.203715	0	0.276812	0.166733

Bakteri Uji	Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)							
		Sokhletasi				Perkolasi			
		K(+)	K(-)	K 50%	K 100%	K(+)	K(-)	K 50%	K 100%
Staphylococcus aureus	R1	14,715	0	2,385	7,605	14,495	0	2,435	7,455
	R2	14,495	0	2,325	7,115	12,435	0	2,585	7,555
	R3	14,275	0	2,595	7,275	14,315	0	2,785	7,565
	R4	14,595	0	2,855	7,465	13,925	0	2,965	7,645
Rata-rata		14,52	0	0,120833	7,365	13,7925	0	2,6925	7,555
SD		0.186458	0	0.239792	0.214631	0.935748	0	0.231427	0.077889

Lampiran 7. Hasil uji statistik

1. Uji Normalitas

**Tests of Normality<sup>b,c,d,e</sup>**

	Formula konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Daya_hambat	SOK50SA	.241	4	.	.924	4	.558
	SOK100SA	.192	4	.	.973	4	.861
	SOK50EC	.242	4	.	.900	4	.433
	SOK100EC	.263	4	.	.905	4	.456
	PER50SA	.179	4	.	.983	4	.922
	PER100SA	.250	4	.	.961	4	.785
	PER50EC	.240	4	.	.923	4	.556
	PER100EC	.299	4	.	.842	4	.202
	KONPOSPERSA	.306	4	.	.835	4	.180
	KONPOSSOKSA	.318	4	.	.854	4	.240
	KONPOSPEREC	.335	4	.	.801	4	.105
	KONPOSSOKEC	.197	4	.	.976	4	.877

a. Lilliefors Significance Correction

b. Daya\_hambat is constant when Formula konsentrasi = KONNEGPERSA. It has been omitted.

d. Daya\_hambat is constant when Formula konsentrasi = KONNEGPEREC. It has been omitted.

e. Daya\_hambat is constant when Formula konsentrasi = KONNEGSOKEC. It has been omitted.

e. Daya\_hambat is constant when Formula konsentrasi = KONNEGSOKEC. It has been omitted.

Syarat uji annova data harus terdistribusi normal apabila nilai signifikan >5,00 maka data tersebut dapat dikatakan normal. Hasil uji

data zona hambat diketahui nilai normalitas signifikan  $> 5,00$  sehingga data terdistribusi normal. Maka dapat dilanjutkan pada uji homogeneity.

## 2. Uji Homogenitas

### Test of Homogeneity of Variances

Daya\_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.030	15	48	.000

Syarat uji annova data harus terdistribusi nrmal apabila nilai signifikan  $>5,00$  maka data terdistribusi homogen. Hasil uji data zona hambat diketahui nilai homogeneity signifikan  $< 5,00$  sehingga data tidak terdistribusi homogen maka data tidak dapat dilanjutkan pada uji one way annova. Sehingga data dilanjutkan dengan uji non parametrik Kruskall Wallis.

## 3. Uji non parametrik dikarenakan data yang diperoleh tidak homogen dengan menggunakan kruskall wallis

### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Daya_hambat
Chi-Square	61.580
Df	15
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Formula  
konsentrasi

Uji Kruskall Wallis merupakan salah satu uji non parametrik yang dapat digunakan untuk menguji adanya perbedaan antara kelompok yang berbeda nilai signifikan  $<0,05$  maka dinyatakan terdapat perbedaan

antar kelompok yang berbeda. Karena nilai signifikan  $<0,05$  (0,00) maka  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima.

4. Uji lanjut post hoc

Daya\_hambat

Duncan<sup>a</sup>

Formula konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
KONNEGPERSA	4	.00000						
KONNEGSOKSA	4	.00000						
KONNEGPEREC	4	.00000						
KONNEGSOKEC	4	.00000						
PER50EC	4		2.41500					
SOK50SA	4		2.54000					
PER50SA	4		2.69250					
SOK50EC	4			6.69500				
SOK100SA	4				7.37500			
PER100SA	4				7.55500			
PER100EC	4				7.61500			
SOK100EC	4					10.31750		
KONPOSPERSA	4						13.79250	
KONPOSSOKSA	4							14.50000
KONPOSSOKEC	4							14.52000
KONPOSPEREC	4							14.53750
Sig.		1.000	.258	1.000	.328	1.000	1.000	.879

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Uji Duncan digunakan untuk menguji perbedaan antar kelompok yang berbeda pada nilai beda nyata yang ukurannya semakin besar memiliki daya hambat bakteri yang baik.

## Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

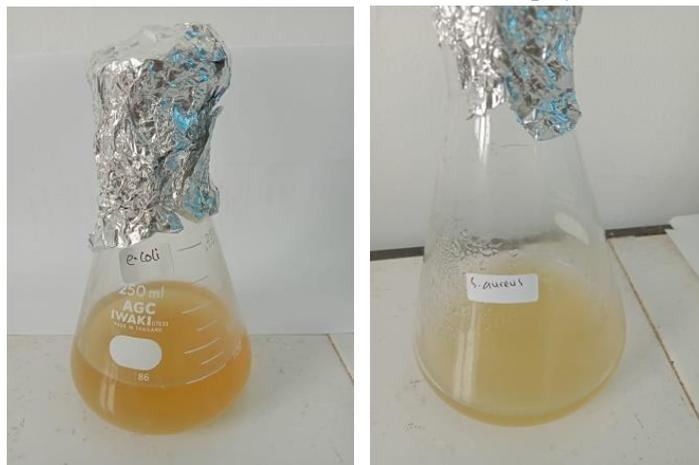
### 1. Penimbangan Bahan



### 2. Bahan Pembuatan Media Bakteri



### 3. Kultur Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*



4. Pembuatan Ekstrak Daun Salam  
Sokhletasi



Perkolasi



5. Hasil Ekstrak Daun Salam



6. Hasil Uji Skrining Fitokimia  
Sokhletasi



## Perkolasi



## 7. Sterilisasi Alat Dan Media



## 8. Pembuatan Biakan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*



9. Pembuatan Agar Miring



10. Pembuatan larutan Mc Farland dan suspensi bakteri

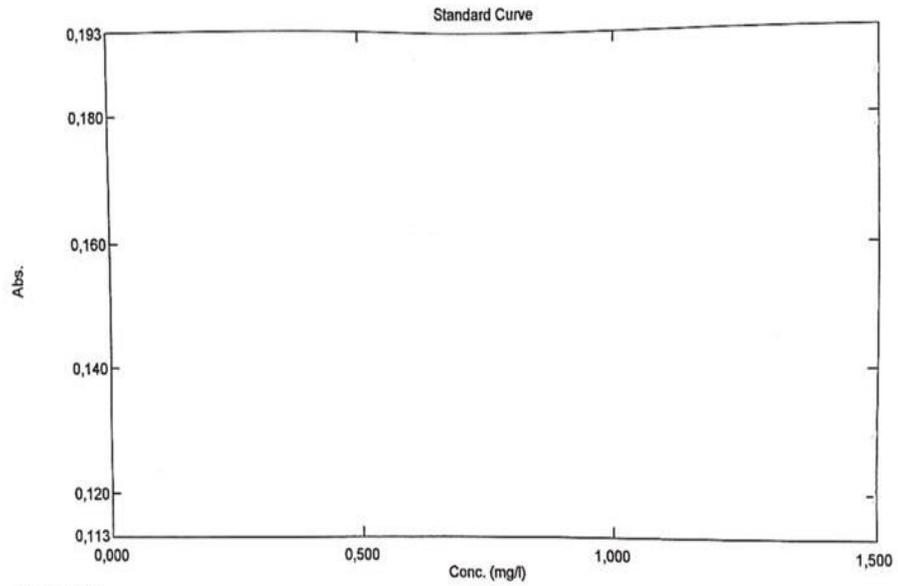


11. Hasil uji Mc Farland

**Standard Table Report**

01/09/2021 11:31:15

File Name: C:\Users\Operator\Documents\rifqah\l.s.aureus dan e.coli fix.pho



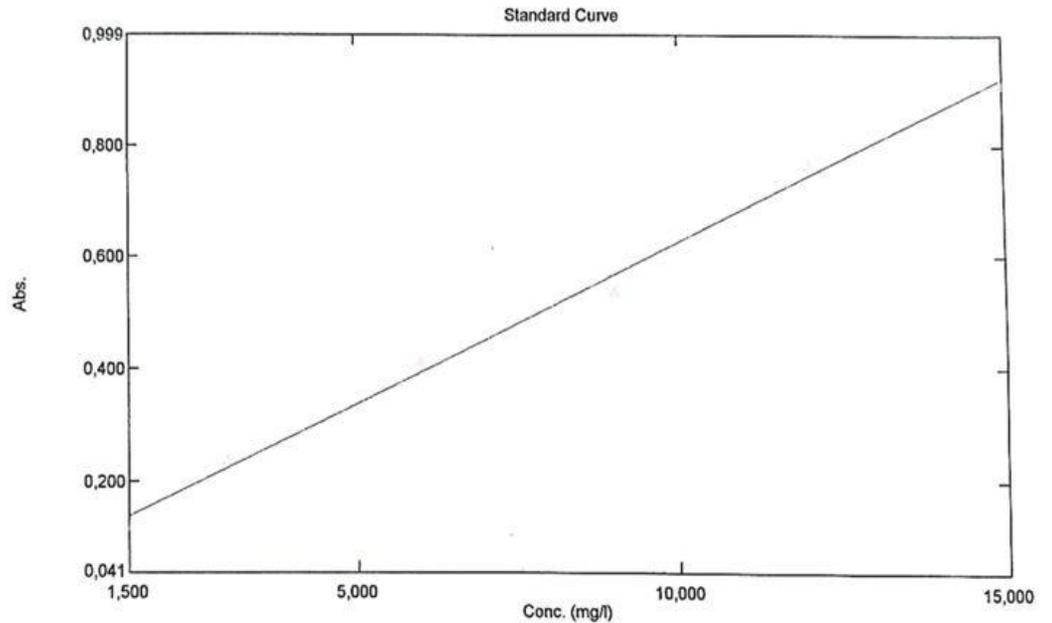
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL625,0	Wgt.Factor	Comments
1	s.aureus	Standard		1.500	0.178	1.000	
2	s.aureus1	Standard		1.500	0.186	1.000	
3	s.aureus2	Standard		1.500	0.187	1.000	
4	e.coli	Standard		1.500	0.130	1.000	
5	s.aureus3	Standard		1.500	0.120	1.000	
6							

# Standard Table Report

31/08/2021 10:43:51

File Name: C:\Users\Operator\Documents\lrfqah\Mc Farland fix.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL625,0	Wgt.Factor	Comments
1	McFarlan0.5	Standard		1.500	0.121	1.000	
2	McFarlan1.0	Standard		3.000	0.239	1.000	
3	McFarlan2.0	Standard		6.000	0.421	1.000	
4	McFarlan3.0	Standard		9.000	0.544	1.000	
5	McFarlan4.0	Standard		12.000	0.767	1.000	
6	McFarlan5.0	Standard		15.000	0.912	1.000	
7							

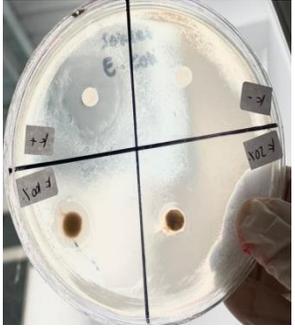
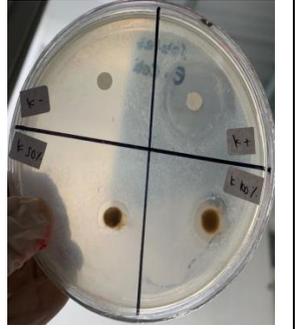
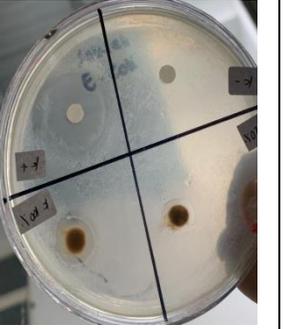
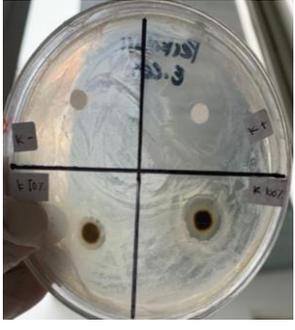
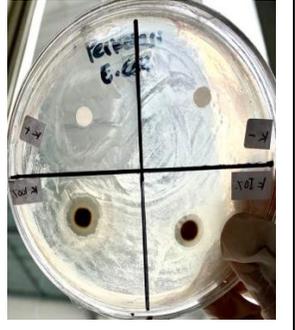
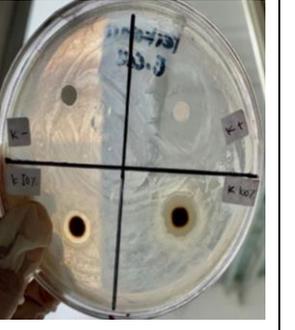
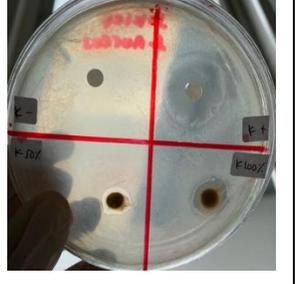
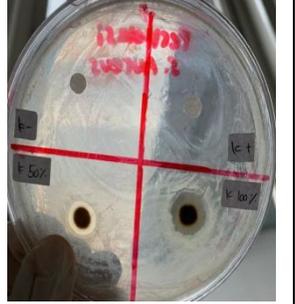
## 12. Pembuatan Konsentrasi Daun Salam



## 13. Pemberian konsentrasi, Uji Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif



#### 14. Pengukuran Zona Hambat

<p><i>Escherichia coli</i> (Sokhletasi)</p>			
<p><i>Escherichia coli</i> (Perkolasi)</p>			
<p><i>Staphylococcus aureus</i> (Sokhletasi)</p>			
<p><i>Staphylococcus aureus</i> (Perkolasi)</p>			

## Lampirab 9: Halaman Riwayat Hidup

### A. Biodata Pribadi

Nama : Qurrotun Faizah  
Tempat/Tanggal Lahir : Jember, 03 Oktober 1999  
Alamat : Dusun Sumber Tengah  
Rt 016/RW 005 Desa Pocangan  
Kec. Sukowono Kab. Jember  
Jenis Kelamin : Perempuan  
E-mail : [faizahqurrotun@gmail.com](mailto:faizahqurrotun@gmail.com)  
Agama : Islam  
Status : Belum Menikah  
Kewarganegaraan : Indonesia



### B. Riwayat Pendidikan

2003-2005 : TK Mikhrojul Ulum  
2005-2011 : MI Mikhrojul Ulum  
2011-2014 : SMPN 03 Sukowono  
2014-2017 : SMA Nurul Jadid Paiton Probolinggo  
2017- Sekarang : Universitas dr. Soebandi