

Pendekatan *in Vitro* Potensi Antibakteri *Syzygium polyanthum*: Pengukuran Zona Hambat, Nilai MIC, dan MBC pada *Staphylococcus aureus*

Ahmad Syaifullah Mursid, Putra Agung Dewata, Dini Sri Damayanti*,
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi pada manusia dan resistensi antibiotik. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpotensi sebagai antibiotik karena kandungan senyawa aktifnya seperti flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid. Studi mengenai efek ekstrak etanol daun salam, ditinjau dari uji zona hambat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi daun salam sebagai antibakteri.

Metode: Penelitian metode eksperimental *in vitro* ini dilakukan menggunakan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) menggunakan pelarut etanol 96% dengan rasio 1:10 v/v, 50gram simplisia dimaserasi dalam 500 ml pelarut, menghasilkan 7,03gram ekstrak berbentuk pasta dengan rendeman sebanyak 14,07%. Sebanyak 5,12gram ekstrak diresuspensi dalam 5 mL etanol 96%, dilanjutkan pengujian fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder di dalamnya. Uji antibakteri menggunakan pengukuran KHM, KBM dan zona hambat bakteri digunakan kultur bakteri *Staphylococcus aureus* yang dipapar ekstrak etanol 96% daun salam dengan berbagai konsentrasi dalam pengenceran bertingkat. Selanjutnya, sebanyak 5,12gram ekstrak daun salam dilarutkan dalam 5 ml pelarut etanol 96% untuk persiapan uji selanjutnya.

Hasil: Uji fitokimia ekstrak positif mengandung golongan senyawa aktif flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid. Zona hambat ekstrak etanol 96% daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 10.5 ± 0.57 mm, 11.2 ± 0.56 mm, 12.48 ± 0.35 mm pada konsentrasi 25%, 50%, 100% ($p=0.000$). Dengan KHM yang tidak dapat dinilai dan KBM terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada 6,25%.

Simpulan: Ekstrak daun salam dengan pelarut etanol 96% mengandung golongan senyawa aktif flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid yang memiliki respon hambat pertumbuhan lemah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% dengan nilai KHM yang tidak dapat dinilai dan KBM pada konsentrasi 6,25%.

Kata kunci: *Syzygium polyanthum*, *Staphylococcus aureus*, Zona Hambat, KHM, KBM

*Penulis korespondensi:

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

In Vitro Approach Antibacterial Potential of *Syzygium polyanthum*: Measurement of Inhibition Zone, MIC, and MBC Against *Staphylococcus aureus*

Ahmad Syaifullah Mursid, Putra Agung Dewata, Dini Sri Damayanti*,
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus aureus* is a pathogenic bacterium frequently responsible for human infections and antibiotic resistance. Bay leaf (*Syzygium polyanthum*) exhibits potential as an antibiotic due to the active compounds, including tannins, flavonoids, saponins, terpenoids, and alkaloids. Limited studies have investigated the effects of bay leaf 96% ethanol extract on *Staphylococcus aureus* growth, particularly in terms of Zone of Inhibitions, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). This study aimed to evaluate the antibacterial potential of bay leaf extract.

Method: *In vitro* experimental study utilized bay leaf (*Syzygium polyanthum*) extract with 96% ethanol as the solvent at a 1:10 v/v ratio. A total of 50 g of dried plant was macerated in 500 mL of solvent, yielding 7.03 g of paste-like extract with a 14.07% yield. 5.12 grams of the extract were resuspended in 5 mL of 96% ethanol solvent. Phytochemical screening was conducted to detect secondary metabolites. Antibacterial activity was assessed by measuring Zone of Inhibition, MIC, and MBC against *Staphylococcus aureus* cultures exposed to serially diluted concentrations of the extract. Subsequently, 5.12 g of the extract was dissolved in 5 mL of 96% ethanol for further testing.

Results: Phytochemical analysis confirmed the presence of active compounds including flavonoids, tannins, alkaloids, and terpenoids. The inhibition zones of 96% ethanol bay leaf extract against *Staphylococcus aureus* were 10.556 ± 0.569 mm, 11.233 ± 0.564 mm, and 12.483 ± 0.351 mm at concentrations of 25%, 50%, and 100%, respectively ($p=0.000$). The MIC could not be determined, while the MBC for *Staphylococcus aureus* growth was observed at 6.25%.

Conclusion: The 96% ethanol extract of bay leaves contains active compounds flavonoids, tannins, alkaloids, and terpenoids that exhibit weak inhibitory effects on *Staphylococcus aureus* growth at concentrations of 25%, 50%, and 100%.

Keywords: *Syzygium polyanthum*, *Staphylococcus aureus*, Zone of Inhibition, MIC, MBC

*Corresponding author:

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M. Kes (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65145

PENDAHULUAN

Infeksi adalah masuknya mikroorganisme patogen yang bereplikasi di dalam tubuh inang sehingga mengganggu fungsi fisiologis dari inang serta memicu respon inflamasi dari inang¹. Penyakit ini menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas dunia dengan diperkirakan mencapai 13,7 juta kematian berkaitan dengan infeksi pada tahun 2019 dengan 7,7 juta kematian terkait infeksi bakteri². Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme penyebab infeksi terbanyak, bakteri sendiri diklasifikasikan menjadi bakteri gram positif dan gram negatif berdasarkan struktur dinding selnya³. Pada gram positif, *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang paling patogenik⁴. Salah satu penyakit dengan angka mortalitas tinggi adalah *Staphylococcus aureus bacteremia* (SAB) dengan tingkat mortalitas mencapai 10% - 30%⁵.

Terapi utama pada kasus dengan infeksi bakteri adalah pemberian antibiotik⁶. Namun, penggunaan antibiotik yang irasional menimbulkan terjadinya resistensi antibiotik⁷. Di Indonesia sendiri, 1,27 juta kasus orang meninggal setiap tahun karena infeksi yang resisten terhadap antibiotik. Untuk menurunkan angka kejadian resistensi tersebut, maka diperlukan sebuah alternatif dari penggunaan antibiotik. Salah satunya dengan penggunaan Tanaman Obat Keluarga (TOGA) yang sudah lama dikenal masyarakat luas dan telah diteliti secara ilmiah, didapatkan temuan tanaman-tanaman tersebut mengandung senyawa aktif sebagai agen antimikroba, hal ini menjadikan sumber yang baik sebagai alternatif obat antibiotik^{8,9}.

Penelitian-penelitian sebelumnya menyebutkan hasil metabolit sekunder daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang ditunjukkan dengan hasil positif pada uji skrining fitokimia mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid serta saponin yang mempunyai efek penghambatan pertumbuhan pada bakteri *Staphylococcus aureus*^{10,11}. Penelitian oleh Tammi dkk pada tahun 2018 menyebutkan bahwa ekstrak etanol 96% daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada konsentrasi ekstrak 20% daun salam menghasilkan zona hambat sebesar rerata $\pm 18,75$ mm, ekstrak 40% sebanyak 20 mm, ekstrak 60% sebanyak 20 mm, ekstrak 80% sebanyak $\pm 20,195$ mm, dan ekstrak 100% sebanyak $\pm 22,75$ mm pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*¹². Penelitian lain mendapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun salam mempunyai nilai KHM

dan KBM pada konsentrasi 25%¹³. Pelarut etanol 96% lebih mudah berpenetrasi ke dalam sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat¹⁴.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol 96% daun salam terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar teori pada penelitian lanjutan mengenai efek antibakteri daun salam (*Syzygium polyanthum*) untuk mencari alternatif pengobatan infeksi bakteri yang resisten terhadap antibiotik konvensional.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian laboratorium desain *in vitro* dengan desain *post-test control only group*. Laboratorium Pusat Penelitian Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Mei 2025.

Bahan dan Alat

Simplisia *Syzygium polyanthum* dengan nomor determinasi 000.9.3/1903/102.20/2025 yang didapatkan dari Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Sedangkan sampel bakteri *Staphylococcus aureus* didapat dari Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Proses penelitian ini terdiri dari ekstraksi, uji firokimia, uji zona hambat, uji Konsentrasi Hambat Minimum, dan uji Konsentrasi Bunuh Minimum yang dilakukan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* dibuat dengan menimbang 50gram simplisia, kemudian dimaserasi dengan 500 ml etanol 96% dalam wadah *shaker* selama 24 jam. Hasil maserasi disaring dengan *vacum buchner* dan ampasnya dibuang. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C selama 15 menit, kemudian dipindahkan ke oven dengan suhu 50°C selama 24 jam, untuk menghasilkan gram ekstrak berbentuk pasta. Proses pengeringan bertujuan untuk menguapkan kandungan pelarut etanol 96% dan hanya menyisakan ekstrak¹⁵. Didapatkan hasil ekstrak berbentuk pasta sebanyak 7,03gram dengan

rendemen sebanyak 14,07%. Selanjutnya, hasil rendemen diambil 5,12 gram lalu diruspensi dengan 5 mL pelarut etanol 96% dan menghasilkan konsentrasi 100% dan ini dianggap sebagai konsentrasi awal. Dari konsentrasi awal, dilakukan pengenceran bertingkat dan didapatkan berbagai konsentrasi.

Pengujian Fitokimia

Pengujian fitokimia, uji senyawa aktif dilakukan pada 0,5 ml ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* yang dilarutkan dengan *aquadest*, dimasukkan ke tabung reaksi sebanyak jumlah golongan senyawa yang akan diuji lalu ditambahkan reagen sesuai golongan senyawa yang diuji dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi sesuai uji yang akan dilakukan. Dilakukan uji golongan senyawa flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan triterpenoid¹⁶.

Pengujian Zona Hambat

Uji zona hambat metode *Kirby-Bauer* dilakukan dengan mempersiapkan biakan agar yang telah diinokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pola *lawn* pada seluruh permukaan media agar, ekstrak daun salam dan antibiotik *Chloramphenicol* dan *Amoxicilin*. Konsentrasi sampel yang berbeda dengan pengenceran bertingkat, didapatkan konsentrasi K1= 0,19%, K2= 0,39%, K3= 0,78%, K4= 1,56%, K5= 3,13%, K6= 6,25%, K7= 12,5%, K8= 25%, K9= 50%, K10= 100% dan kontrol negatif etanol 96% diletakkan dengan menggunakan mikropipet sesuai titik dari label. Antibiotik *Chloramphenicol* 30 mcg dan *Amoxicilin* 25 mcg sebagai kontrol positif. Selanjutnya, diinkubasi ke dalam inkubator dengan 37°C selama 18-24 jam. Diameter zona hambat didapatkan dengan melihat zona bening yang mengitari sumuran. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan tingkat ketelitian 0,5 mm¹⁷.

Teknik Analisa Data

Data dengan sembilan kali pengulangan dirata-rata dan ditentukan standar deviasinya sebelum diuji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk*. Uji homogenitas dilakukan menggunakan uji *Levene*. Hasil uji menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai $p < 0,05$ (sig.>0,05) tetapi tidak homogen $p > 0,05$ (sig.<0,05), sehingga dilanjutkan dengan uji statistik non-parametrik, dengan uji *Kruskal-Wallis* dan signifikansi ditentukan pada $p < 0,05$ (sig.<0,05). Selanjutnya, notasi kelompok berdasarkan nilai rentang ditentukan dengan uji

Mann Whitney. Uji dilakukan menggunakan program *IBM Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 25.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil Pengujian Fitokimia Ekstrak Etanol *Syzygium polyanthum*

Pengujian fitokimia ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* yang dilakukan secara kualitatif untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif tersebut berdasarkan perubahan warna pada sampel. Hasil dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Pengujian Fitokimia

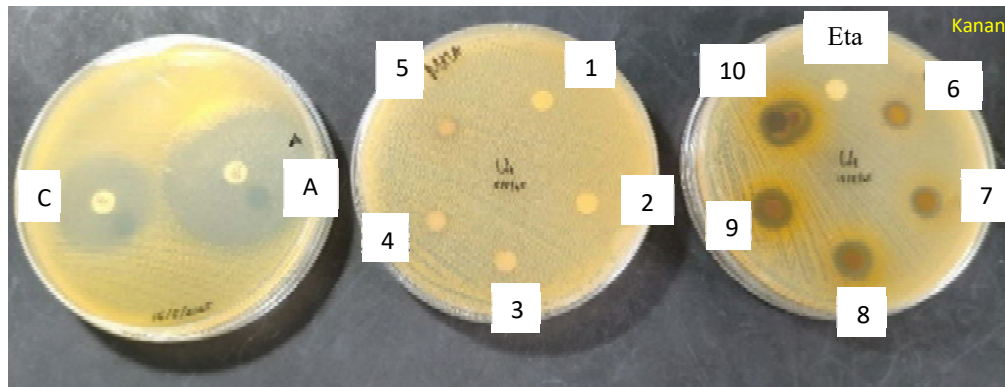
Uji	Reagen	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Mg & HCl pekat	Terjadi perubahan warna menjadi kemerahan	Positif
Saponin	HCl	Busa hanya sedikit dan sebentar	Negatif
Tannin	FeCl ₃ 1%	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman	Positif
Alkaloid	Dragendorff	Terdapat endapan berwarna merah bata	Positif
	Mayer	Tidak ada endapan putih	Negatif
Terpenoid	H ₂ SO ₄	Terdapat perubahan warna hijau keunguan	Positif

Keterangan: Hasil positif menunjukkan ekstrak mengandung metabolit sekunder yang diuji. Hasil negatif menunjukkan ekstrak tidak mengandung senyawa yang diuji.

Tabel 1 menunjukkan hasil pengujian fitokimia ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* mengandung golongan senyawa aktif flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid.

Hasil Pengujian Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian zona hambat ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil seperti pada **Gambar 1** dan **Tabel 2**.



Gambar 1 Hasil pengujian Zona Hambat Ekstrak daun salam

Keterangan: Pada hasil pengujian zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ekstrak etanol 96% *Syzygium polyanthum*. (1) ekstrak konsentrasi 0,19%, (2) ekstrak konsentrasi 0,39%, (3) ekstrak 0,78%, (4) ekstrak konsentrasi 1,56%, (5) ekstrak konsentrasi 3,13%, (6) ekstrak konsentrasi 6,25%, (7) ekstrak konsentrasi 12,5%, (8) ekstrak konsentrasi 25%, (9) ekstrak konsentrasi 50%, (10) ekstrak konsentrasi 100%, (Eta) etanol 96%, (A) Amoxicillin 25 mcg, (C) Chloramphenicol 30 mcg.

Tabel 2. Hasil Pengujian Daya hambat pada Bakteri

	Eta (n=9)	A (n=3)	C (n=9)	K1 (n=9)	K2 (n=9)	K3 (n=9)	K4 (n=9)	K5 (n=9)	K6 (n=9)	K7 (n=9)	K8 (n=9)	K9 (n=9)	K10 (n=9)
ZOI	0 ^a	43.3 5±0, 65 ^h	26.5 5±0, 51 ^g	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	7.94 ± 0.36 ^b	9.03 ± 0.47 ^c	10.5 6±0, 57 ^d	11.2 3±0, 56 ^e	12.4 8±0, 35 ^f

Keterangan: Eta= Etanol 96%, A=Amoxicillin, C=Chloramphenicol, K1= 0,19%, K2= 0,39%, K3= 0,78%, K4= 1,56%, K5= 3,13%, K6= 6,25%, K7= 12,5%, K8= 25%, K9= 50%, K10= 100%. Hasil rata-rata dan standar deviasi zona hambat *Staphylococcus aureus*. Huruf notasi sama mengindikasikan hasil beda yang tidak signifikan. Sedangkan huruf notasi berbeda menunjukkan perbedaan signifikan.

Zona hambat yang terbentuk pada plate antibiotik Amoxicillin (A) dan Chloramphenicol (C), dan plate kanan pada konsentrasi ekstrak 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%. Zona hambat tidak terbentuk pada plate tengah yang berisi kontrol negatif etanol 96% dan konsentrasi ekstrak 0,19%, 0,39%, 0,78%, 1,56%, 3,13% seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.2. Zona hambat dilihat dari zona bening yang mengitari disk. Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,5 milimeter¹⁸. Hasil pengukuran zona hambat ditabulasi pada **Gambar 1** dan **Tabel 2**.

Berdasarkan tabel di atas, kontrol negatif berupa etanol 96% menunjukkan diameter zona hambat sebesar 0 mm terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan kontrol positif Amoxicillin dan Chloramphenicol menunjukkan diameter zona hambat yang secara signifikan lebih besar dibandingkan ekstrak daun salam. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kontrol negatif (etanol 96%) memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif (Amoxicillin dan Chloramphenicol) dengan nilai $p < 0,005$ (sig. =

0,01). Selain itu, kontrol negatif juga berbeda secara signifikan dibandingkan dengan ekstrak daun salam pada konsentrasi 6,25% hingga 100%, dengan nilai $p < 0,005$ (sig. $< 0,05$). Dalam Tabel 2, etanol 96% diberi notasi huruf ^a, Amoxicillin huruf ^h, dan Chloramphenicol huruf ^g. Perbedaan notasi huruf tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Konsentrasi ekstrak etanol daun salam 0,19% sampai 3,13% menghasilkan zona hambat 0 mm terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil ini tidak menunjukkan beda signifikan dengan kontrol negatif etanol 96%, yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,005$ (sig.=1,00) dan notasi ^a, kontrol negatif etanol 96% juga memiliki notasi ^a. Kesamaan notasi huruf mengindikasikan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok.

Ekstrak etanol daun salam pada konsentrasi 6,25% menunjukkan daya hambat sebesar $7,94 \pm 0,36$ mm terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada konsentrasi 12,5% menghasilkan zona hambat sebesar $9,03 \pm 0,47$ mm. Konsentrasi yang lebih

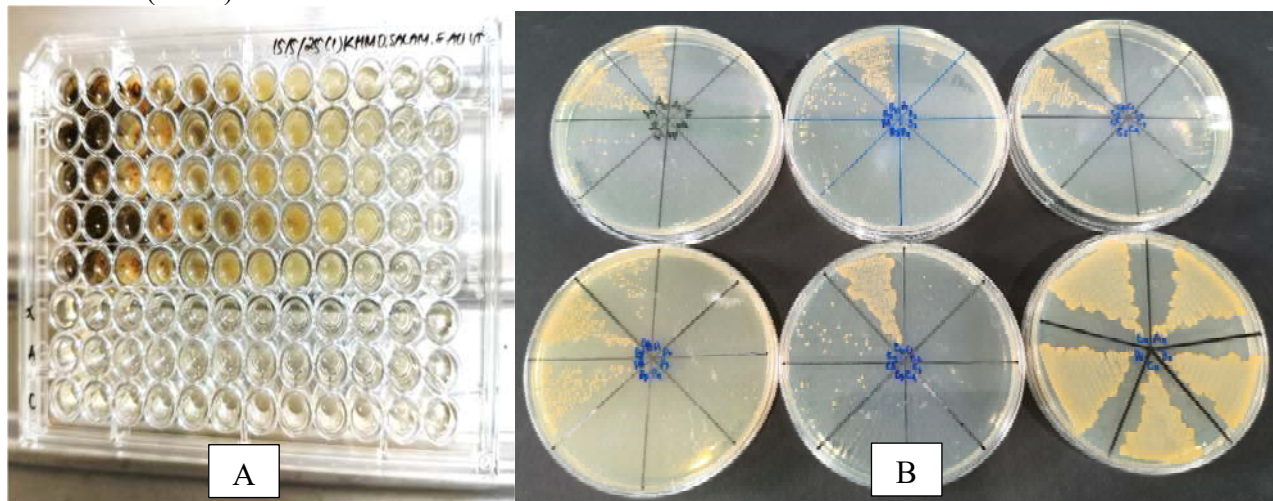
tinggi, yaitu 25%, 50%, dan 100%, masing-masing menunjukkan diameter zona hambat sebesar $10,56 \pm 0,57$ mm, $11,23 \pm 0,56$ mm, dan $12,48 \pm 0,35$ mm. Hasil uji statistik Mann-Whitney menunjukkan nilai $p < 0,005$ (sig. < 0,05) dengan notasi huruf ^{b c d e f}, yang mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok konsentrasi ekstrak.

Hasil Pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh

Minimum (KBM) ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada **Gambar 2** dan **Tabel 3**.

Hasil menunjukkan hasil KHM (A) Dari konsentrasi tertinggi hingga terendah, KHM tidak dapat dinilai. Sedangkan, pada KBM (B) ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada konsentrasi 6,25%, dilihat dari plate yang bening atau tidak terdapat endapan. Hasil dinyatakan positif jika terdapat kekeruhan, di mana pertumbuhan bakteri semakin subur pada media, sedangkan tidak adanya kekeruhan pada plate berarti hasil negatif¹⁹.



Gambar 2. (A) Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), (B) Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan: (A) KHM dengan metode mikrodilusi menggunakan Wellplate, media dengan endapan (keruh) mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri. (B) Streaking plate ekstrak daun salam konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 0,39%, 0,19%, 0,1%, dan kontrol bakteri.

Tabel 3. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), (B) Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

	KB (n=5)	K1/2 (n=5)	K1 (n=5)	K2 (n=5)	K5 (n=5)	K6 (n=5)	K7 (n=5)	K8 (n=5)	K9 (n=5)
Uji KHM	KHM tidak dapat dinilai								
Uji KBM	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Keterangan: KB= Kontrol Bakteri, K1/2=Ekstrak daun salam konsentrasi 0,1%, K1= Ekstrak daun salam konsentrasi 0,19%, K2= Ekstrak daun salam konsentrasi 0,39%, K5= Ekstrak daun salam konsentrasi 3,13%, K6= Ekstrak daun salam konsentrasi 6,25%, K7= Ekstrak daun salam konsentrasi 12,5%, K8= Ekstrak daun salam konsentrasi 25%, K9= Ekstrak daun salam konsentrasi 50%. (+) mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan (-) mengindikasikan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Gambar 2 dan **tabel 3** menunjukkan hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), (B) Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* terhadap

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil pada konsentrasi 6,25%.

Penentuan nilai KHM dan KBM dilakukan dengan mengamati hasil tidak adanya kekeruhan atau endapan yang menandakan

pertumbuhan bakteri pada *wellplate* dan cawan petri²⁰.

PEMBAHASAN

Kandungan Senyawa Aktif *Syzygium polyanthum*

Hasil uji fitokimia didapatkan bahwa ekstrak etanol daun salam mengandung golongan senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Martiningsih *et al* pada tahun 2023, didapatkan hasil uji fitokimia dari ekstrak etanol 96% daun salam positif mengandung tanin, flavonoid dan terpenoid²¹.

Hasil uji saponin pada penelitian ini menunjukkan hasil negatif karena buih yang terbentuk setelah pengocokan tidak bertahan lama, hanya bertahan beberapa detik. Temuan yang sama juga didapatkan pada penelitian oleh Fadillah *et al* pada tahun 2024 di mana hasil uji fitokimia saponin juga mendapatkan hasil negatif²². Hal ini bisa disebabkan dari faktor lain seperti jenis pelarut, metode ekstraksi, pelarut, suhu dan lama ekstraksi²³.

Hasil pengujian menunjukkan perbedaan dalam deteksi senyawa alkaloid, di mana tidak terdeteksi menggunakan reagen *Mayer*, tetapi memberikan hasil positif pada reagen *Dragendorff*. Hal ini dikarenakan perbedaan tingkat sensitivitas reagen terhadap gugus alkaloid. Ditinjau dari efektivitasnya, reagen *Mayer* memiliki sensitivitas lebih rendah dibandingkan *Dragendorff*. Masing-masing reagen memiliki komposisi kimia yang berbeda, reagen *Mayer* mengandung merkuri klorida dan kalium iodida, sedangkan reagen *Dragendorff* berisi HgCl_2 dan $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ dalam larutan nitrit. Ditinjau dari efektivitasnya, reagen *Mayer* memiliki sensitivitas lebih rendah dibandingkan reagen *Dragendorff*. Hal ini dibuktikan dengan tidak terbentuknya endapan putih saat uji alkaloid dengan reagen *Mayer*²⁴.

Uji Zona Hambat Ekstrak Etanol *Syzygium polyanthum* terhadap *Staphylococcus aureus*

Ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* konsentrasi 25%, 50%, dan 100% memiliki potensi lemah menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai $p < 0,005$ (sig.<0,05). Menunjukkan diameter zona hambat terendah pada konsentrasi 6,25% dan tertinggi pada konsentrasi 100%. Sesuai dengan temuan Husnia *et al*, 2022, peningkatan diameter zona hambat yang dihasilkan sebanding dengan peningkatan konsentrasi dari ekstrak daun

salam²⁵. Perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi disebabkan karena perbedaan besarnya zat aktif yang terkandung pada konsentrasi tersebut²⁶. Berdasarkan kriteria Greenwood, 1995 ekstrak etanol daun salam konsentrasi 6,25% dan 12,5% diklasifikasikan tidak memiliki respon hambat pertumbuhan dikarenakan diameter yang terbentuk <10 mm. Konsentrasi ekstrak 25%, 50%, dan 100% memiliki respon hambat pertumbuhan lemah karena diameter yang terbentuk 10-15 mm²⁷. Ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* memiliki daya hambat lemah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Ekstrak etanol daun salam, konsentrasi 0,19% sampai 3,13% didapatkan hasil zona hambat 0 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan tidak memiliki beda signifikan dengan kontrol negatif etanol 96%. Ditunjukkan dengan nilai $p < 0,005$ (sig.=1,000). Temuan ini tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Sirait *et al*, di mana pada konsentrasi ekstrak terkecil, yaitu 5% dihasilkan zona hambat sebesar ± 6.55 mm²⁸. Tidak terbentuknya atau kecilnya zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kandungan senyawa aktif dalam ekstrak dan konsentrasi ekstrak uji yang digunakan²⁹.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol *Syzygium polyanthum* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tidak dapat dinilai dikarenakan kekeruhan larutan akibat warna ekstrak yang terlalu pekat, sehingga endapan tidak dapat dibedakan apakah terbentuk dari pertumbuhan bakteri ataupun dari ekstrak. Didapatkan hasil dari konsentrasi tertinggi yang diuji KHM, yaitu konsentrasi. Senyawa seperti kuinon dan tanin berfungsi sebagai pigmen pemberi warna pada tanaman³⁰. Ekstrak tanaman yang keruh dan berwarna seringkali membuat penentuan nilai KHM tidak akurat. Pengukuran kekeruhan secara visual menjadi tidak bisa dinilai karena warna dari ekstrak dapat menutupi pertumbuhan bakteri, yang berpotensi menyebabkan hasil tidak akurat. Selain itu, adanya partikel tidak larut yang mengendap di dasar sumuran dan dapat mengganggu penilaian kekeruhan. Untuk mengatasi hal ini, diperlukan penggunaan indikator redoks seperti garam *tetrazolium*³¹ dan *resazurin*³² yang bekerja berdasarkan perubahan warna sesuai aktivitas metabolisme bakteri. Memungkinkan diferensiasi antara sumuran yang

mengandung bakteri hidup akan menunjukkan hasil perubahan warna menjadi merah muda dan yang terdapat hambatan akan tetap tidak berwarna atau biru³³.

Sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* berada pada konsentrasi 6,25%. Temuan pada penelitian oleh Nordin *et al*, di mana didapatkan hasil KBM adalah 12,5 %³⁴. Penelitian lainnya oleh Nugroho *et al*, didapatkan hasil bahwa KBM dan KHM fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, yaitu sebesar 25%³⁵. Didapatkan nilai KHM dan KBM pada konsentrasi yang lebih tinggi ini dikarenakan pada penelitian Nugroho *et al*, 2022 menggunakan etil asetat sebagai pelarut. Di mana etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar³⁶.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat ditarik beberapa simpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* memiliki metabolit sekunder golongan senyawa aktif flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid.
2. Ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* konsentrasi 25%, 50%, dan 100% memiliki daya hambat lemah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan kriteria menurut Greenwood, 1995.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* tidak dapat dinilai akibat sulitnya membedakan asal endapan yang terbentuk.
4. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol *Syzygium polyanthum* yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi terkecil adalah konsentrasi 6,25%.

SARAN

Berdasarkan temuan pada penelitian, dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan:

1. Melakukan penggunaan indikator redoks seperti *tetrazolium* dan *resazurin* pada uji KHM untuk penentuan nilai KHM yang lebih akurat.
2. Melakukan uji aktivitas antibakteri secara *in vivo* pada hewan coba untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak serta mempertimbangkan potensinya dalam

pengembangan alternatif antibakteri yang lebih luas.

3. Melakukan uji konsentrasi senyawa aktif flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid yang terkandung pada daun salam.
4. Melakukan uji efek antibakteri bersifat sinergis atau antagonis apabila ekstrak dikombinasikan dengan herbal lain ataupun dengan antibiotik *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis sampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM), tim peneliti, serta *peer reviewer* untuk publikasi penelitian ini, terima kasih atas bantuannya dalam proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Udin F, Ritiauw SP. Sosialisasi Pencegahan Cacar Air Pada Anak-Anak Di Kelurahan Hative Kecil Aster Melalui Video Pembelajaran. *Pattimura Mengabdi : Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat* 2024;1(4):204–208; doi: 10.30598/pattimura-mengabdi.1.4.204-208.
2. Ikuta KS, Swetschinski LR, Aguilar GR, et al. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 . *The Lancet* 2022;400(10369):2221–2248.
3. Doron, S; Gorbach S. *Bacterial Infections : Overview*. Bacteriology Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands 2008;3(January).
4. Douglas EJA, Wulandari SW, Lovell SD, et al. Novel antimicrobial strategies to treat multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Microb Biotechnol* 2023;16(7):1456–1474; doi: 10.1111/1751-7915.14268.
5. van Hal SJ, Jensen SO, Vaska VL, et al. Predictors of mortality in *staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Microbiol Rev* 2012;25(2):362–386; doi: 10.1128/CMR.05022-11.
6. Nufus LS, Pertiwi D. Tingkat Pengetahuan Masyarakat Terhadap

- Penggunaan Antibiotik (Amoxicilin) Berdasarkan Usia Di Dusun Karang Panas. *Jurnal Keperawatan* 2019;54–62.
7. Puji Lestari M, Marchaban. Upaya Pencegahan Resistensi Antibiotik dengan Edukasi Penggunaan Obat yang Rasional. *Journal of Innovation in Community Empowerment* 2023;5(2):86–90; doi: 10.30989/jice.v5i2.965.
 8. Sari N, Andjasmara TC. Penanaman Tanaman Obat Keluarga (TOGA) untuk Mewujudkan Masyarakat Sehat. *Jurnal Bina Desa* 2023;5(1):124–128; doi: 10.15294/jbd.v5i1.41484.
 9. Turgis M, Han J, Caillet S, et al. Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*. *Food Control* 2009;20(12):1073–1079; doi: 10.1016/j.foodcont.2009.02.001.
 10. Erwan MO, Parbuntari H. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Salam (*Syzygium polyanthum*). *Periodic* 2023;12(3):39; doi: 10.24036/periodic.v12i3.118432.
 11. Nala A, Muna E, Dwiastuti WP, et al. Antibacterial Activity of Salam (*Syzygium polyanthum*) Leaves 70% Ethanolic Extract on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. 2021;5(4):375–380.
 12. Tammi A, Apriliana E, Sholeha TU. Potensi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Journal Agromedicine Unila* 2018;5(2):565.
 13. Nugroho DA, W M Siska T, Dwi A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923. *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional (SIKESNas) 2022* 2022;376–388.
 14. Wendersteyt NV, Wewengkang DS, Abdullah SS. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Ascidian *Herdmania Momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella Typhimurium* Dan *Candida Albicans*. *Pharmakon* 2021;10(1):706; doi: 10.35799/pha.10.2021.32758.
 15. Reo AR, Berhimpion S, Montolalu R. Secondary Metabolite of *Gorgonia*, *Paramuricea clavata*. *Jurnal Ilmiah Platax* 2017;5(1):42; doi: 10.35800/jip.5.1.2017.14971.
 16. Royani S, Febri Fatwami E, Islamiyati D, et al. Uji Kandungan Fitokimia Pada Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Di Kabupaten Banyumas. *Jurnal Bina Cipta Husada* 2024;XX(Januari):1–8.
 17. Tortora GJ, Derrickson B. *Microbiology: An Introduction*. 10th ed. Danvers MA : John Wiley & Sons, Inc., 2017: San Francisco; 2010.
 18. Tortora GJ, Derrickson B. *Microbiology: An Introduction*. 10th ed. Danvers MA : John Wiley & Sons, Inc., 2017: San Francisco; 2010.
 19. Wiharningtias I, Waworuntu O, Juliatri. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon* 2016;5(4):18–25.
 20. Rodríguez-Melcón C, Alonso-Calleja C, García-Fernández C, et al. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) for Twelve Antimicrobials (Biocides and Antibiotics) in Eight Strains of *Listeria monocytogenes*. *Biology (Basel)* 2022;11(1); doi: 10.3390/biology11010046.
 21. Martiningsih SH, Kusumawati D, Pgri U, et al. Uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak air daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Seminar Nasional Prodi Farmasi UNIPMA* 2023;2023:154–161.

22. Fadillah RN, Rahmah S, Nurani S, et al. Uji Deteksi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Menggunakan Metode Maserasi Dengan Perbedaan Lama Perendaman. 2024;1 No 4(April):182–190.
23. Shaikh JR, Patil M. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *Int J Chem Stud* 2020;8(2):603–608; doi: 10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834.
24. Tarakanita DNS, Satriadi T, Jauhari A. Potensi Keberadaan Fitokimia Kamalaka(*Phyllanthus Emblica*) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tumbuh. 2019.
25. Husnia R, Vitayani S, Polanunu NFA, et al. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran* 2022;2(1):25–30; doi: 10.33096/fmj.v2i1.54.
26. Sarmira M-, Purwanti S-, Yuliati FN. Aktivitas antibakteri ekstrak daun oregano terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai alternatif feed additive unggas. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran* 2021;21(1):40; doi: 10.24198/jit.v21i1.33161.
27. Greenwood D. What's the Use of Susceptibility Testing? *Journal of Chemotherapy* 1997;9(sup1):7–12; doi: 10.1080/1120009X.1997.12113184.
28. Sirait NR, Sitohang R, Sinaga AB, et al. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicilin-Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Tekesnos* 2022;4(1):425.
29. Riedel S, A.Hobden J, Miller S, et al. *Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology* 28 E. 28th ed. McGraw Hill Professional; 2019.
30. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(4):564–582; doi: 10.1128/CMR.12.4.564.
31. Eloff J. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. *Planta Med* 1998;64(08):711–713; doi: 10.1055/s-2006-957563.
32. Mann CM, Markham JL. A New Method For Determining The Minimum Inhibitory Concentration of Essential Oils. *J Appl Microbiol* 1998;84(4):538–544; doi: 10.1046/j.1365-2672.1998.00379.x.
33. Bubonja-Šonje M, Knezević S, Abram M. Challenges to Antimicrobial Susceptibility Testing of Plant-Derived Polyphenolic Compounds. *Arh Hig Rada Toksikol* 2020;71(4):300–311; doi: 10.2478/aiht-2020-71-3396.
34. Nordin ML, Othman AA, Kadir AA, et al. Antibacterial and cytotoxic activities of the *Syzygium polyanthum* leaf extract from Malaysia. *Vet World* 2019;12(2):236–242; doi: 10.14202/vetworld.2019.236-242.
35. Nugroho DA, W M Siska T, Dwi A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923. *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional (SIKESnas) 2022* 2022;376–388.
36. Putri WS, Warditiani NK, Larasanty LPF. Skrining Fitokimia Ekstral Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, vol 2, no 4 2013;16(2):39–55.