

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI N-HEKSAN DAUN
SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *BACILLUS SUBTILIS* DAN *ESCHERICHIA COLI***

Oleh

YURIS ROMBA LAYUK

211148201166

SKRIPSI

Untuk memenuhi salah satu syarat ujian

Guna memperoleh gelar sarjana farmasi



PROGRAM STUDI S-1 FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA

2025

LEMBAR PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI N-HEKSAN DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
BACILLUS SUBTILIS DAN *ESCHERICHIA COLI***

Dipersiapkan dan disusun oleh:

Yuris Romba Layuk

211148201166

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 5 Agustus 2025

Pembimbing Utama

apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm
NIDN: 0322089301



Ketua Program Studi S-1 Farmasi

apt. Raymon Simanullang, M.Farm
NIK: 0924.A4.18

Pembimbing Pendamping

Nurillahi Febria Leswana, S.Si., M.Sc
NIDN: 1108029403

Tim Penguji:

Ketua : Maria Elvina Tresia Butar-Butar, M.Farm

Anggota:

1. apt. Liniati Geografi, M.Sc

2. apt. Muh Taufiqurrahman, M.Farm

PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANAKAN SKRIPSI

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Samarinda, 5 Agustus 2025

Yang membuat pernyataan,

(Yuris Romba Layuk)

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yuris Romba Layuk

NIM 211148201166

Program Studi : S-1 Farmasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui memberikan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty Free Right) atas skripsi saya yang berjudul: “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-heksan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis* Dan *Escherichia coli*.”beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda berhak menyimpan mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentukpangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Samarinda

Pada Tanggal: 5 Agustus 2025

Yang Menyatakan

(Yuris Romba Layuk)

KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik Sebagian ataupun seluruh Naskah, harus menyebut nama Pengarang dan sumber Aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

PERSEMBAHAN

Tuhan Yesus Kristus,
Mama, Bapak, Adik, Nenek, Kakek dan Sahabat

ABSTRAK

Indonesia memiliki kekayaan hayati berupa tanaman obat yang potensial sebagai antibakteri, salah satunya adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi n-heksan daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram terhadap konsentrasi fraksi n-heksan 1%, 2,5%, dan 5%, serta kontrol positif eritromisin dan kontrol negatif DMSO 1%. Parameter yang diamati adalah diameter zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun salam menunjukkan aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* paling kuat pada konsentrasi tertinggi yaitu 5% dengan menunjukkan zona hambat sebesar 11-13 mm terhadap kedua bakteri uji. Data dianalisis secara statistik menggunakan uji One Way ANOVA dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar konsentrasi pada aktivitas antibakterinya. Penelitian ini mengindikasikan bahwa fraksi n- heksan daun salam berpotensi sebagai agen antibakteri alami terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

Kata kunci: *Syzygium polyanthum*, fraksi n-heksan, antibakteri, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

*Indonesia has a wealth of medicinal plants that have the potential as antibacterials, one of which is bay leaves (*Syzygium polyanthum*). This study aims to determine the antibacterial activity of the n-hexane fraction of bay leaves against the growth of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacteria. Extraction was carried out using the maceration method using 96% ethanol, followed by fractionation using n-hexane solvent. The antibacterial activity test was carried out using the disc diffusion method on n-hexane fraction concentrations of 1%, 2.5%, and 5%, as well as a positive control of erythromycin and a negative control of 1% DMSO. The parameters observed were the diameter of the inhibition zone formed after 1 x 24 hours of incubation at 37°C. The results showed that the n-hexane fraction of bay leaves showed the strongest antibacterial activity against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* at the highest concentration of 5%, showing an inhibition zone of 11-13 mm against both test bacteria. The data were statistically analyzed using a One-Way ANOVA test and showed significant differences between concentrations in antibacterial activity. This study indicates that the n-hexane fraction of bay leaves has potential as a natural antibacterial agent against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*.*

Keywords: *Syzygium polyanthum*, n-hexane fraction, antibacterial, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*.

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas segala berkat dan kelimpahannya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI N-HEKSAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *BACILLUS SUBTILIS* DAN *ESCHERICHIA COLI*”** untuk memenuhi salah satu persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dosen Pembimbing Bapak apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm dan Ibu Nurillahi Febria Leswana, S.Si., M.Sc atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar- besarnya kepada:

1. Ibu Ns. Andrea Theofrida Bone, S.Kep., MAN. selaku ketua sekolah tinggi ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
2. Bapak apt. Raymon Simanullang, M.Pharm selaku ketua program studi S-1 Farmasi.
3. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
4. Kedua orang tua tercinta, bapak Aries Munaskassani dan ibu Yuliana Langdo yang selalu menjadi sumber kekuatan dan semangat dalam Langkah hidup penulis. Terima kasih atas doa yang tidak pernah putus, kasih sayang yang tulus, serta dukungan moral maupun materi yang telah dibeikan selama ini. Terima kasih atas pengorbanan kalian sehingga penulis dapat menyelesaikan Pendidikan ini.
5. Kepada adik tersayang Ivana Septiayu terimakasih telah menjadi penyemangat dan penghibur disaat penulis merasa lelah dan jenuh. Terimakasih atas dukungan dan doa kepada penulis.
6. Ucapan terima kasih yang tulus juga penulis sampaikan kepada sahabat terbaik Karolina Yordan dan Yesi Bayaq yang selalu hadir memberikan dukungan dalam proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas tawa yang menguatkan, telinga yang selalu mendengar keluh kesah, bahu yang siap

menampung lelah, dan motivasi yang tak pernah putus. Kehadiran kalian bukan hanya sekedar menemani, tetapi menjadi pengingat bahwa setiap perjalanan berat akan terasa lebih ringan jika dilalui bersama. Semoga persahabatan ini tetap terjaga selamanya.

7. Yang terakhir saya ingin mengucapkan terima kasih kepada diri saya sendiri yang sudah bertahan atas segala perjuangan, air mata, dan ketidakpastian diperjalanan panjang hidup ini, dan sudah berhasil menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih karena telah memilih untuk terus melangkah walaupun dalam perjalanan ini seringkali mengeluh, menangis, bahkan sering muncul rasa ingin menyerah. Perjalanan ini bukanlah hal yang mudah tetapi saya tau pencapaian ini tidak akan tercapai tanpa campur tangan dari Tuhan Yesus Kristus yang telah menolong dan menguatkan saya dalam setiap kesulitan. Terima kasih tetap menjadi manusia kuat yang selalu mau berusaha dan tidak lelah untuk mencoba walaupun tak jarang sering kali gagal. Terima kasih karena memutuskan untuk terus berjuang walau sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini dan telah menyelesaikan sebaik dan semaksimal mungkin, ini merupakan pencapaian yang patut di banggakan dan dirayakan untuk diri sendiri.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, 5 Agustus 2025

(Yuris Romba Layuk)

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANAKAN SKRIPSI	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
KUTIPAN	vi
PERSEMBAHAN	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4 Hipotesis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Salam	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Salam.....	5
2.1.2 Morfologi Daun salam	5
2.1.3 Kandungan Kimia Daun Salam	7
2.1.4 Khasiat Daun Salam.....	8
2.2 Antibakteri.....	8
2.2.1 Mekanisme Kerja Antibakteri	8
2.2.3 Uji Daya Hambat	9

2.3.3 Pengujian Anti Bakteri	11
2.3 <i>Bacillus subtilis</i>	13
2.3.1 Taksonomi <i>Bacillus subtilis</i>	13
2.3.2 Morfologi <i>Bacillus subtilis</i>	13
2.3.3 Habitat <i>Bacillus subtilis</i>	15
2.3.4 Fase Pertumbuhan Bakteri	15
2.4 <i>Escherichia coli</i>	16
2.4.1 Morfologi <i>Escherichia coli</i>	17
2.4.2 Habitat <i>Escherichia coli</i>	18
2.4 Simplisia.....	18
2.4.3 Proses Pembuatan Simplisia	19
2.5 Ekstraksi.....	21
2.5.1 Metode Ekstraksi	22
2.6 Fraksinasi	24
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian	25
3.1.1 Waktu penelitian.....	25
3.1.2 Tempat Penelitian.....	25
3.2 Alat Dan Bahan	25
3.2.1 Alat.....	25
3.2.2 Bahan	25
3.3 Metode Penelitian	25
3.3.1 Jenis Penelitian.....	25
3.3.2 Definisi Oprasional	26
3.3.3 Fokus Penelitian.....	27
3.3.4 Sampel dan Teknik Sampling	27
3.3.5 Teknik Pengumpulan Data	27
3.3.6 Tahap Penelitian	27
3.4 Variabel Penelitian	30
3.4.1 Variabel Bebas (<i>Independent Variable</i>)	30
3.4.2 Variabel Terikat (<i>Dependent Variable</i>)	30
3.4.3 Variabel Kontrol.....	30

3.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Salam.....	30
3.5.1 Tahap pelaksanaan	30
3.5.2 Tahap Perlakuan	32
3.5.3 Pengamatan dan Pengukuran	32
3.5.4. Analisis Data	32
3.6 Kerangka Penelitian	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Determinasi Tanaman	35
4.2 Hasil Pembuatan simplisia dan Maserasi ekstrak Etanol Daun Salam	35
4.5 Fraksi N-heksan Daun Salam.....	37
4.6 Skrining Fitokimia Fraksi N-heksan Daun Salam	38
4.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi N-heksan Daun Salam	41
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kriteria Kekuatan Antibakteri.....	10
3.1 Definisi Oprasional.....	26
4.1 Hasil Rendamen Daun Salam.....	35
4.2 Uji Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Salam	36
4.3 Hasil Rendamen Fraksi N-heksan Daun Salam.....	36
4.4 Hasil Skrining Fitokimia Fraksi N-heksan Daun Salam	37
4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Bacillus subtilis</i>	26
4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia Coli</i>	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	6
2.2 <i>Bacillus subtilis</i>	14
2.3 kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	16
2.4 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	16
3.1 Kerangka Penelitian	33
4.1 Reaksi Flavonoid Dengan Logam Mg Dan HCL	38
4.2 Reaksi Tanin Dengan FeCl	38
4.3 Reaksi Hidrolisis Saponin	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Izin Penelitian.....	56
2. Surat Keterangan Hasil Determinasi Tanaman Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	57
3. Proses Pengentalan Dan Hasil Ekstrak Etanol Daun Salam.....	58
4. Fraksinasi N-heksan	58
5. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi N-heksan Daun Salam	58
6. Pengujian Aktivitas Antibakteri	59
7. Perhitungan Rendemen Dan Diameter Zona Hambat	62
8. Hasil Analisis Data Statistik <i>Bacillus subtilis</i>	64
9. Hasil Analisis Data Statistik <i>Escherichia coli</i>	65
10. Sertifikat Bakteri	67

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diare adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri, virus, atau parasit pada sistem usus, diare dapat menyebar dari satu orang ke orang lain melalui makanan yang tercemar, air minum, atau kebersihan pribadi yang buruk. (Wayan, 2020). Buang air besar dengan konsentrasi lembek atau cair dikenal sebagai diare. Diare juga dapat berupa air dan terjadi lebih sering daripada rata-rata, biasanya tiga kali atau lebih dalam satu hari. (Rahman dkk., 2016). Menurut hasil Survei Kesehatan Indonesia (SKI) Tahun 2023, diketahui prevalensi diare berdasarkan diagnosis/gejala pada semua kelompok umur di Indonesia adalah 4,3%. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2023, menunjukkan adanya penurunan prevalensi diare pada balita dibandingkan dengan Riskesdas 2018. Prevalensi diare pada balita menurun dari 12,3% menjadi 7,4%. Meskipun ada penurunan, diare masih menjadi salah satu masalah kesehatan yang perlu mendapat perhatian, terutama karena dapat menyebabkan kematian pada bayi dan balita.

Bakteri *Bacillus sp.* terdapat pada tanah, air, udara, dan detritus tanaman. Bakteri ini dapat mengurai substrat alami dan menghasilkan enzim, yang membantu siklus hara. (Handayani dkk., 2023). Bakteri aerobik yang menghasilkan endospora dengan sifat saprofit disebut bakteri *Bacillus subtilis*. Udara, air, dan tanah sering menjadi tempat pertumbuhan bagi bakteri gram positif ini. Konsentrasi bakteri *Bacillus subtilis* yang tinggi dalam usus besar akan menyebabkan penyakit diare yang disebarkan oleh makanan yang terkontaminasi. Meningitis juga dapat disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Mayasari & Agus 2020).

Indonesia yang memiliki beragam jenis tanaman memiliki sejarah panjang dalam penggunaan obat tradisional. Tumbuhan atau komponen alami lainnya telah lama digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Indonesia. Karena obat tradisional memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan obat sintetik, obat tradisional sangat diminati untuk menjaga kesehatan dan mencegah penyakit. Banyak komponen yang digunakan dalam pengobatan tradisional berasal dari tanaman dan bahan alam lainnya, yang kemudian dikombinasikan secara tradisional

dan pemanfaatannya diperoleh berdasarkan pengalaman (Nugroho *dkk.*, 2022). Salah satu tanaman herbal yang dapat mengobati diare adalah daun salam. Beberapa kandungan yang terdapat pada daun salam, seperti minyak atsiri, triterpenoid, saponin, flavonoid, dan tanin, dapat menghentikan pertumbuhan bakteri berbahaya seperti *Salmonella sp*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas fluorescens* (Willapangga dan Syaputra, 2018).

Senyawa antibakteri adalah senyawa kimia atau biologi baik alami maupun sintetik yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Yogurt merupakan makanan fermentasi yang menggunakan bakteri asam laktat (BAL) sebagai starter dalam proses pembuatannya dan telah banyak diteliti bahwa BAL yang terkandung dalam starter yogurt memiliki aktivitas antibakteri. (Nurhayati dan Hidayatulloh, 2020).

Menurut penelitian sebelumnya oleh Widayanti dan Maryati (2023), aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun salam dan daun matoa terhadap bakteri *Shigella sonnei* dan bakteri *Bacillus cereus* dengan seri konsentrasi, daun salam dan daun matoa yang memiliki aktivitas antibakteri paling kuat yaitu pada konsentrasi ekstrak 100%. Hasil dari penelitian ini membuktikan pertumbuhan bakteri *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus* dapat dihambat oleh ekstrak daun salam dan matoa. Ekstrak metanol dari daun salam, menurut penelitian (Wilapangga dan Syaputra, 2018) dengan menggunakan metode difusi cakram, menunjukkan aktivitas antibakteri yang dapat menghentikan pertumbuhan bakteri *Bacillus sp.* sebesar 16,00 mm dan bakteri *Escherichia coli* sebesar 10,00 mm. penelitian terdahulu menguji aktivitas antibakteri daun salam menggunakan metode KLT-Bioautografi menunjukkan bahwa bercak pada nilai Rf 0,78 memberikan aktivitas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* (Mega, 2012).

Acuan lain yang digunakan pada penelitian ini diambil dari jurnal Uji Daya Antibakteri Fraksi N-Heksan dan Fraksi Air Sisa Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Identifikasi Senyawa Aktif oleh Sari, Hasil penelitian menunjukkan fraksi n-heksan dan fraksi air sisa daun salam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan hasil positif yang ditandai dengan adanya daerah hambatan pertumbuhan pada fraksi N-heksan pada konsentrasi 30% (1,755

cm), konsentrasi 50% (1,856 cm), konsentrasi 70 % (1,914 cm). pada fraksi air sisa konsentrasi 30% (1,135 cm), konsentrasi 50% (1,226 cm), konsentrasi 70% (1,314 cm). Berdasarkan latar belakang, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait Uji Aktivitas Antibakteri Daun Salam Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis* menggunakan fraksi N-heksan dengan beberapa konsentrasi yaitu 1%, 2.5%, dan 5%.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah konsentrasi 1%, 2,5%, dan 5% fraksi N-heksan daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*?
2. Berapa diameter zona daya hambat yang dihasilkan dari fraksi N-heksan daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui apakah konsentrasi 1%, 2,5%, dan 5% fraksi N-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan bakteri *Escherichia coli*.
2. Untuk mengetahui berapa zona daya hambat yang dihasilkan dari uji aktivitas fraksi N-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Bagi Masyarakat

Melalui penelitian ini Masyarakat dapat memperoleh informasi bahwa fraksi N-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alami.

2. Bagi Peneliti Peneliti memperoleh ilmu pengetahuan, wawasan, dan membuktikan bahwa fraksi N-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dapat digunakan sebagai pengobatan antibakteri.

3. Bagi Institusi

Dapat memberikan informasi dan referensi mengenai hasil penelitian uji antibakteri fraksi N-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

1.4 Hipotesis

H0 : Adanya aktivitas fraksi N-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

H1 : Tidak ada aktivitas fraksi N-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Salam

Tanaman salam adalah tanaman berkayu yang biasanya dipanen untuk diambil daunnya. Tanaman salam telah lama digunakan sebagai bumbu masakan. Tanaman salam dapat digunakan sebagai ramuan obat tradisional. Tanaman salam memiliki kemampuan terapi yang luar biasa dan biasanya digunakan untuk mengobati hipertensi, diabetes melitus, asam urat, diare, maag, katarak, keracunan alkohol, sakit gigi, kudis, dan gatal-gatal karena memiliki sifat kimia yang berguna dalam bidang medis (Sudirman, 2014: 6).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Salam

Taksonomi tanaman salam adalah sebagai berikut :

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Tracheobionta
Super divisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Sub kelas	:	Rosidae
Ordo	:	Myrtales
Famili	:	Myrtaceae
Genus	:	Syzygium
Spesies	:	<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) (Putra, 2015).

2.1.2 Morfologi Daun salam

Daun salam adalah tanaman pohon yang dapat tumbuh hingga setinggi 25 meter. Saat diremas, daunnya harum, bentuknya lonjong sampai bulat telur elips sampai bulat telur sungsang, dengan pangkal runcing dan ujung lancip sampai tumpul, berukuran panjang 5-15 cm dan lebar 35-36 mm, dengan 6-10 urat daun lateral dan pangkal daun 5-12 mm. Perbungaannya seperti malai, tumbuh dari ranting, dan berbau harum. Bunganya berbentuk cawan tebal dengan diameter sekitar 1 mm. Mahkota bunga berwarna putih dengan panjang sekitar 2,5-3,5 mm, dan benang sari dipisahkan menjadi empat kelompok

sepanjang 3 mm dengan warna kuning lembayung muda. Buahnya berwarna merah tua -dan bulat, dengan garis tengah 8-9 mm (Syamsul dan Rodame, 2015).

A. Daun salam

Salam (*Syzygium polyanthum*) adalah nama pohon yang menghasilkan rempah-rempah yang banyak digunakan dalam masakan Indonesia. Berdaun tunggal dan tersusun saling berhadapan. Panjang tangkai daun berkisar antara 8 dan 12 mm. helai daun berbentuk jorong lonjong, jorong sempit, atau lanset tipis, tidak memiliki bulu halus, dan berukuran 5-16 x 2,5-7 cm. Memiliki 6-11 urat daun sekunder berbintik kelenjar sanga halus (Jumanta, 2019).



Gambar 2.1 Daun salam (*Syzygium polyanthum*)
(Harisma, 2017).

B. Buah Salam

Salam termaksud tanaman yang menghasilkan buah buni dengan diameter 8-9 mm. Buah yang masih muda biasanya berwarna hijau tetapi setelah matang warnanya berubah menjadi merah tua dan memiliki rasa yang sedikit sepat (Mahardianti, 2014).

C. Bunga salam

Tanaman salam sebagian besar memiliki bunga banci dengan kelopak dan mahkota bunga yang masing-masing terdiri dari 4-5 daun kelopak dan daun mahkota bunga dengan jumlah yang sama, terkadang saling berlekatan. Bunganya memiliki banyak benang sari, kelopaknya berhadapan dengan daun mahkota. Benang sari berwarna cerah, yang terkadang menjadi bagian dari bunga, bakal buah tenggelam dan memiliki 1 kepala putik. (Mahardianti, 2014).

D. Batang salam

Batang pohon salam berwarna coklat abu-abu retak atau bersisik. Tanaman ini dapat tumbuh hingga ketinggian 25 meter. Batangnya berbentuk bulat (Putra, 2015).

E. Akar

Tanaman salam memiliki akar tunggang yang berbentuk seperti tombak karena pangkalnya besar dan meruncing ke ujung dengan serabut akar yang bercabang-cabang, yang biasa disebut akar tombak (Mahardianti, 2014).

2.1.3 Kandungan Kimia Daun Salam

Daun salam memiliki kandungan senyawa kimia sebagai berikut: minyak atsiri (sitrat, elulgelinol), telrpeloid, stelroid, tanin, saponin, alkaloid, flavonoid (katelkin dan rultin), polifenol, karbohidrat, vitamin A, C, E1, B6, dan B12, folat, riboflavin, dan tiamin. Komponen seluler aktif yang ditemukan dalam daun salam adalah *β-cyostelrol* dan niasin. Daun salam mengandung mineral seperti selenium, magnesium, kalsium, selng, natrium, kalium, besi, dan fosfor. Ekstrak etanol dari daun salam mengandung karakteristik antimikroba. Ekstrak etanol daun salam lebih efektif sebagai agen antibakteri daripada ekstrak etanol yang diekstraksi dengan pelarut lainnya. (Faizah, 2021). Kandungan dan manfaat senyawa yang terkandung di dalam daun salam yang dapat menjadi antibakteri adalah sebagai berikut:

1. Flavonoid

Flavonoid adalah bahan kimia polar yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan aseton. Flavonoid adalah kelas terbesar dari senyawa fenol, dan molekul flavonoid yang ditemukan dalam daun salam dapat menurunkan kolesterol dan gula darah. Senyawa fenol bekerja sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein yang mempengaruhi permeabilitas dinding sel bakteri (Nazzaro, 2013).

2. Tanin

Tanin dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel bakteri dan menghambat pembekuan plasma. Daun salam mengandung tanin yang dapat membantu menurunkan kadar kolesterol dan gula darah (Nazzaro,2013).

3. Minyak atsiri

Minyak atsiri juga bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu enzim yang terlibat dalam pembentukan energi, sehingga menghambat perkembangan sel. Minyak atsiri dalam jumlah yang banyak dapat mendenaturasi sifat protein (Nazzaro, 2013).

4. Alkaloid

Alkaloid juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme alkaloid sebagai penghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Kurniawan & Aryana, 2015).

2.1.4 Khasiat Daun Salam

Daun salam dapat digunakan untuk mengobati kolesterol yang tinggi, diabetes, hipertensi, gastritis, diare, dan penurunan berat badan. Buahnya digunakan untuk mengobati mabuk alkohol (Dalimartha, 2018).

2.2 Antibakteri

Antibakteri adalah zat aktif yang diproduksi oleh mikroorganisme pada konsentrasi rendah yang dapat menghambat dan membunuh proses kehidupan mikroba. Zat aktif antibakteri memiliki dua mekanisme kerja: bakterisida dan bakteristatik. Bakterisida membunuh sel bakteri dan bakteristatik menekan pertumbuhan bakteri tanpa membunuh bakteri (Haryati dkk, 2015). suatu zat aktif yang memiliki zona hambat yang besar pada konsentrasi rendah, zat tersebut dikatakan memiliki potensi antibakteri yang kuat (Hapsari, 2015).

2.2.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Bakteri dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia dan mekanisme kerja antara lain :

1. Denaturasi protein

Denaturasi adalah proses pemecahan protein yang menyebabkan perubahan kimiawi, fisika, dan biologis pada protein, yang dapat mengubah fitur-fitur protein secara intrinsik (Mierza, 2020).

1. Mengubah Permeabilitas Membran Sitoplasma Bakteri

Membran plasma bersifat semipermeabel dan dapat mengatur pergerakan berbagai metabolit ke dalam dan ke luar sel. Setiap gangguan atau kerusakan pada struktur membran plasma dapat menghalangi atau merusak kemampuan membran plasma untuk beroperasi sebagai penghalang (barrier) osmosis, serta mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran, yang mengakibatkan bocornya sekelompok sel penting dan bakteri mengalami kematian (Mierza, 2020).

2. Penghambatan Terhadap Sintesis Dinding Sel

Antibakteri ini menghambat protein pengikat penisilin, yang mencegah pengikatan silang peptidoglikan pada akhir pembentukan dinding sel. Protein pengikat penisilin adalah enzim yang ditemukan dalam membran plasma sel bakteri yang biasanya terlibat dalam penambahan asam amino yang berikatan silang dengan peptidoglikan pada dinding sel bakteri dan dapat membatasi aktivitas transpeptidase. Dinding sel bakteri dapat menyebabkan dinding sel menjadi rapuh dan lemah, sehingga rentan terhadap lisis atau pecah (Mierza, 2020).

2.2.3 Uji Daya Hambat

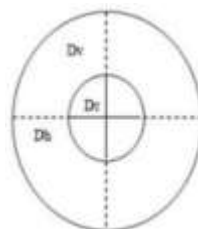
Uji daya hambat adalah metode untuk mengidentifikasi solusi pengobatan yang memiliki efektivitas dan efisiensi. Pendekatan ini mengukur diameter zona bening yang dihasilkan pada media pertumbuhan untuk menentukan potensi ekstrak tanaman dalam mencegah pertumbuhan bakteri (Pramessti, 2023).

1. Pengukuran zona hambat

Zona bening yang terlihat di sekitar cakram menunjukkan kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri yang sedang diuji. Diameter zona hambat dapat diukur menggunakan jangka sorong dengan meletakkan cawan petri pada latar

belakang gelap (Valentina, 2021). Rumus untuk menghitung zona bening yang dihasilkan adalah sebagai berikut :

Rumus untuk menghitung zona bening ditunjukkan oleh persamaan (2.1)



$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2} \quad (2.1)$$

Keterangan :

Dv : Mengukur diameter vertical

Dh : Mengukur diameter horizontal

Dc : Mengukur diameter cakram (Winastri dkk., 2020)

2. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum

Nilai KHM dihitung sebagai konsentrasi terendah dimana tidak ada bakteri yang tumbuh (Nurhikmah dkk., 2023). Pemeriksaan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) secara visual dilakukan dengan dua kategori yaitu positif (+) jika terdapat kekeruhan yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri, dan negatif (-) jika hasilnya jernih atau tidak keruh yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Pada tabel 2.1 menunjukkan respon hambat pertumbuhan bakteri terhadap zona terang/bening pada metode pengujian antibakteri.

Tabel 2.1 kriteria kekuatan antibakteri

Diameter zona hambat	Respon hambat pertumbuhan
<5	Lemah
6-10	sedang
11-20	kuat
>21	Sangat kuat

Sumber : Reppi *Et al.*, (2016)

2.3.3 Pengujian Antibakteri

Pengujian dapat dilakukan dengan beberapa metode sebagai berikut :

1. Difusi Agar

Pendekatan ini menggunakan *Mueller Hinton Agar* (MHA) sebagai media. metode difusi melibatkan pemberian agen antibakteri ke ke dalam media padat yang diinokulasikan mikroorganisme uji. Pengamatan termasuk menentukan adanya daerah bening di sekitar kertas cakram, yang menunjukkan adanya zona penghambatan bakteri. Metode difusi adalah pendekatan umum untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri, dan dapat diimplementasikan dalam tiga cara: metode cakram, metode sumur, dan metode silinder (Nurhayati dkk., 2020).

A. Metode Cakram (*Kirby-Bauer*)

Metode difusi mengevaluasi reaksi mikroorganisme uji terhadap antibakteri dengan menggunakan kertas cakram sebagai perantara (Fitriana dkk., 2020). Bahan uji kemudian direndam di atas kertas cakram yang berfungsi sebagai substrat. Kertas cakram kemudian diletakkan di atas media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroorganisme uji. Media agar kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 18 hingga 24 jam. Zona atau area yang berada di sekitar kertas cakram menunjukkan tanda-tanda perkembangan mikroba. Jumlah mikroorganisme uji yang diaplikasikan pada kertas cakram menentukan diameter zona bening atau area (Nurhayati dkk., 2020).

B. Metode Sumuran

Pertama, suspensi bakteri yang ditambahkan ke media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dibiarkan mengeras. Setelah itu, sumur dibuat pada media yang telah mengeras dan diberi label masing-masing sesuai dengan konsentrasi kontrol positif dan negatif. Setelah pelabelan, masing-masing konsentrasi, kontrol positif, dan kontrol negatif ditambahkan ekstrak. Proses ini dilakukan sebanyak empat kali. Setelah itu, inkubasi selama 24 jam pada

suhu 37°C (Saputera dkk., 2019). Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri dipantau untuk menilai dan mengukur zona hambatan di sekitar sumur. Metode sumuran memiliki keuntungan dalam memudahkan kuantifikasi zona hambatan karena aktivitas bakteri terjadi di seluruh ketebalan agar nutrisi. Namun, ada dalam membuat sumur, seperti kemungkinan retak atau pecahnya medium agar di sekitar sumur. Sisa agar yang tertinggal selama konstruksi sumur dapat mengganggu penyerapan antibiotik dan penetapan diameter zona jernih dalam uji sensitivitas (Nurhayati dkk., 2020).

C. Metode Silinder

Metode silinder mencakup penempatan banyak silinder kaca atau stainless steel pada substrat agar yang diinokulasi dengan bakteri. Setiap silinder ditempatkan tegak lurus terhadap media agar dan diisi dengan larutan yang akan diuji sebelum inkubasi. Setelah periode inkubasi, pertumbuhan bakteri dipantau untuk mengidentifikasi zona hambatan yang dihasilkan di sekitar silinder (Panyauri, 2020).

2. Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua jenis, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Penggunaan metode dilusi cair bertujuan untuk mengukur KHM (Konsentrasi Hambat Minimum), sedangkan metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Dalam metode pengenceran cair, prosedurnya melibatkan pembuatan serangkaian pengenceran agen antimikroba dalam media cair yang telah dilengkapi dengan mikroba uji. Di sisi lain, metode pengenceran padat dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji ke media agar yang telah dicampur dengan agen antimikroba (Fitriana dkk., 2020).

A. Metode Dilusi Cair

Metode dilusi cair melibatkan beberapa pengenceran antimikroba dalam media cair yang mengandung mikroorganisme eksperimental. (Azizah, 2023). Metode ini

digunakan untuk menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) (Rosyada dkk., 2023). KHM adalah dosis terendah dari agen antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri setelah 24 jam inkubasi, yang dibuktikan dengan tidak adanya koloni bakteri yang jelas. Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi antibiotik yang efektif dalam menghentikan perkembangan patogen. Selain itu, metode ini memberikan informasi mengenai dosis antibiotik yang akan efektif mengobati infeksi pada pasien. (Saputera dkk., 2019).

B. Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat digunakan untuk menentukan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). (Hamida dkk., 2023). metode ini menggabungkan berbagai dosis bahan uji dengan media agar padat. Pertumbuhan bakteri kemudian dinilai dengan menganalisis media yang tidak menunjukkan bercak putih setelah inkubasi dan menghitung jumlah koloni yang terbentuk pada media agar. (Rehma, 2022).

2.3 *Bacillus subtilis*

2.3.1 Taksonomi *Bacillus subtilis*

Menurut (Rahayu dkk., n.d 2017) klasifikasi bakteri *Bacillus subtilis* sebagai berikut :

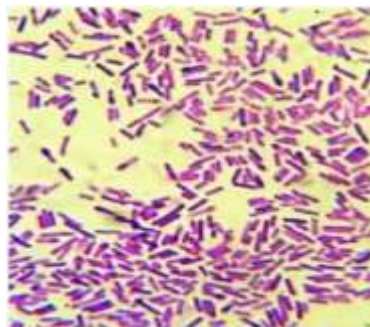
Kingdom	:	Bacteria
Filum	:	Firmicutes
Clas	:	Bacilli
Ordo	:	Bacillales
Famili	:	Bacillaceae 3/3
Genus	:	Bacillus
Species	:	<i>Bacillus subtilis</i>

2.3.2 Morfologi *Bacillus subtilis*

Bakteri *Bacillus subtilis* adalah bakteri saprofit dan bakteri tanah yang memberikan kontribusi pada siklus nutrisi karena kemampuan untuk menghasilkan berbagai enzim. Bakteri ini telah digunakan di industri untuk

menghasilkan protease, amilase, antibiotik, dan bahan kimia. *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan penyakit yang membuat fungsi imun seseorang terganggu misalnya gastroenteritis akut seperti diare, dan meningitis. Bakteri patogen yang terdapat pada saluran cerna merupakan golongan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada saluran cerna. *Bacillus subtilis* dapat menghasilkan enterotoksin penyebab diare yang lebih bersifat toksik daripada jenis bakteri keracunan yang lain (Ambarwati & Ibrahim, 2021).

Bakteri subtilis ini memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan mikroorganisme lain. Kemampuan *Bakteri subtilis* menghasilkan endospora yang tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrem dan dapat bertahan hidup lama menjadi keunggulan utama. Bakteri ini terbukti sangat mudah dalam memanipulasi genetic dan telah banyak diambil sebagai pilihan untuk dijadikan organisme model untuk bahan penelitian laboratorium (Hasriana, 2018). Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif yang memiliki bentuk seperti batang dan dapat membentuk endospora oval pusat. Koloni bakteri pada agar berbentuk bulat, tepi tidak beraturan, permukaan tidak mengkilap dan berwarna coklat. *Bacillus subtilis* mempunyai panjang 2- 3 μm dan lebar 0,7-0,8 μm . *Bacillus subtilis* memiliki flagela, ber katalase positif, dan dapat bertahan pada suhu panas, kering. *Bacillus subtilis* dapat hidup di kondisi dengan adanya oksigen atau tidak ada oksigen sehingga disebut sebagai mikroorganisme aerobik fakultatif. Media yang dapat digunakan dalam penanaman bakteri *Bacillus subtilis* yaitu Mueller Hinton Agar pada suhu 90-100⁰C dengan waktu inkubasi selama 1x24 jam (Putri, 2022).



Gambar 2.6 *Bacillus subtilis*
(Sumber : andre 2022)

2.3.3 Habitat *Bacillus subtilis*

Dapat diisolasi dari berbagai lingkungan misalnya tanah dan akuatik serta dapat di isolasi dari saluran pencernaan ruminansia. *Bacillus subtilis* tumbuh dalam kondisi aerob dan dapat menghasilkan endospora. Spora ini mudah terbawa angin sehingga memungkinkan spora untuk bermigrasi dalam jarak jauh (Earl *et al.*, 2017). Endospora berfungsi untuk melawan kondisi lingkungan yang ekstrim terhadap pH, suhu dan kekurangan nutrisi. Keadaan ini membuat *Bacillus subtilis* mampu berkembang dan beradaptasi pada bermacam-macam penyesuaian lingkungan (Nicholson, 2018).

2.3.4 Fase Pertumbuhan Bakteri

Adapun fase-fase pertumbuhan bakteri yaitu :

1. Fase Lag

Fase lag merupakan fase adaptasi, yaitu fase penyesuaian mikroorganisme pada suatu lingkungan yang baru. Ciri fase lag adalah tidak adanya peningkatan jumlah sel, yang ada hanyalah peningkatan ukuran sel. Lama fase lag tergantung pada kondisi dan jumlah awal mikroorganisme yang diambil dari kulturnya.

2. Fase Logaritma (Ekspensial)

Fase logaritma merupakan fase dimana terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase logaritma ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya. Hal yang dapat menghambat laju pertumbuhan adalah bila satu atau lebih nutrisi dalam kultur habis, sehingga hasil metabolisme yang bersifat racun akan tertimbun dan menghambat pertumbuhan.

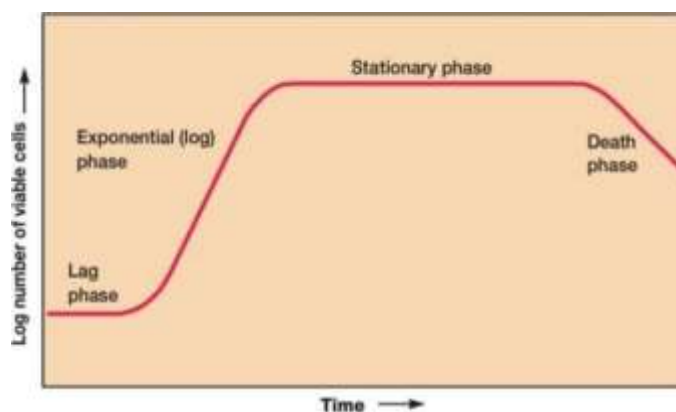
3. Fase Stationer

stationer terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Sehingga jumlah keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena kematian diimbangi oleh pembentukan sel-sel baru melalui pertumbuhan dan pembelahan dengan nutrisi yang dilepaskan oleh sel-sel yang mati karena

lisis. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel.

4. Fase Kematian

Fase kematian merupakan fase dimana laju kematian lebih besar sehingga terjadi penurunan populasi bakteri . Pada fase ini jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup (Djide dan Sartini, 2015).



Gambar 2.7 .kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* (sumber : Djide dan Sartini, 2015).

2.4 *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat aerobik dan ada juga yang bersifat anaerobic fakultatif, termasuk dalam family Enterobacteriaceae, yang ada di dalam tubuh manusia. Bergerak menggunakan flagel dan berbentuk batang pendek atau biasa disebut kokobasil.. Bakteri E-coli mampu bertahan hidup di media sederhana dan dapat memfermentasi laktosa yang dapat memproduksi asam dan gas (Yanuhar, 2019).

Taksonomi *Escherichia coli*:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Kuswiyanto, 2014).



Gambar 2.4 Bakteri *Escherichia coli*
Sumber : Atlas of Medical Bacteriology, 2015

2.4.1 Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri koliform yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* (Hamida *Et al.*, 2019). *E. coli* berbentuk batang berdiameter 0,5 μm dan panjang sekitar 2 μm . Memiliki volume sel berkisar 0,6- 0,7 μm . Struktur sel *E. coli* dikelilingi oleh membran sel, terdiri dari sitoplasma yang mengandung nukleoprotein. Membran sel *E. coli* ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul. Flagela dan pili *E. coli* menjulur dari permukaan sel. *E. coli* mempunyai tiga struktur antigen utama permukaan yang digunakan untuk membedakan serotipe golongan *E. coli* adalah dinding sel, kapsul dan flagela. Dinding sel *E. coli* berupa lipopolisakarida yang bersifat pirogen dan menghasilkan endotoksin serta diklasifikasikan sebagai antigen O. Kapsul *E. coli* berupa polisakarida yang dapat melindungi membran luar dari fagositik dan sisem komplemen, diklasifikasikan sebagai antigen K. Flagela *E. coli* terdiri dari protein yang bersifat antigenik dan dikenal sebagai antigen H. Faktor virulensi *E. coli* juga disebabkan oleh enterotoksin, hemolisin, dan molekul pengikat besi aerobaktin dan entrobaktin (Siahaan,2020).

Bakteri *E. coli* termasuk gram negatif, dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob (Rahayu *Et al.*, 2018). Bakteri ini dapat membentuk koloni pada saluran pencernaan manusia maupun hewan dalam beberapa jam setelah kelahiran. Faktor pembentukan koloni ini adalah mikroflora dalam tubuh masih sedikit, rendahnya kekebalan tubuh, faktor stres, pakan, dan infeksi agen patogen lain. Kebanyakan *Escherichia coli* memiliki virulensi yang rendah dan bersifat oportunistis.

2.4.2 Habitat *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* merupakan spesies dengan habitat alami dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan. *E. coli* dapat hidup pada rentang suhu 20-40°C dan suhu optimumnya pada 37°C. (Rahayu *Et al.*, 2018). Penyakit yang ditimbulkan oleh *E. coli* disebabkan karena kemampuannya untuk beradaptasi dan bertahan pada lingkungan yang berbeda. Ada beberapa jenis kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi *E. coli* untuk dapat tetap bertahan, misalnya lingkungan asam (pH rendah) seperti pada saluran pencernaan manusia, perubahan suhu, serta tekanan osmotik. Kemampuan

Escherichia coli untuk bertahan hidup selama pendinginan dan pembekuan telah terbukti menjadikan *E. coli* toleran terhadap kondisi kering (Rahayu *et al.*, 2018). *E. coli* dapat hidup dan bertahan pada tingkat keasaman yang tinggi di dalam tubuh manusia. *E. coli* juga dapat hidup dan bertahan di luar tubuh manusia yang penyebarannya melalui feses. Kedua habitat hidup *E. coli* ini cukup berlawanan. Saluran pencernaan manusia merupakan habitat yang relatif stabil, hangat, bersifat anaerob, dan kaya nutrisi. Sementara itu, di luar saluran pencernaan, kondisi lingkungan dapat sangat beragam, jauh lebih dingin, aerobik, serta kandungan nutrisi yang lebih sedikit.

2.4 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Utami dkk., 2017). Simplisia merupakan bahan alami yang dimanfaatkan sebagai obat-obatan herbal/tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun. Obat tradisional salah satunya jamu adalah obat yang diolah secara tradisional, dan dengan mengacu dari warisan resep nenek moyang secara turun temurun, keyakinan dan kebiasaan masyarakat lokal. Kedua hal tersebut tidak dapat dipisahkan satu sama lain (Lutfiah, 2022). Simplisia bersumber dari tumbuhan (simplisia nabati), hewan (simplisia hewani) dan mineral (simplisia pelikan) (Arsyad dkk., 2023).

2.4.3 Proses Pembuatan Simplisia

1. Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotorankotoran atau bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah yang mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi dapat mempengaruhi hasil simplisia. Oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Cahyadi dkk., 2018).

2. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dan mata air, air sumur dan PDAM (Perusahaan Daerah Air Minum), karena air untuk mencuci sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia, apabila air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Rivai *et al.*, 2017).

3. Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami perajangan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan maka semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, rasa yang diinginkan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Handoyo dan Pranoto, 2020).

4. Pengeringan

Proses pengeringan simplisia, terutama bertujuan sebagai berikut:

- a. Menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri.
- b. Menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif.
- c. Memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya) (Handoyo dan Pranoto, 2020).
Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dan 10 %. Hal-hal yang perlu diperhatikan dari proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi 60 ° C, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30 ° C sampai 45 ° C. Proses pengeringan dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan dengan menggunakan instrumen (Handoyo dan Pranoto, 2020).

5. Sortasi kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong atau bahan yang rusak. Sortasi setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Cahyadi dkk., 2018).

6. Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan lainnya. Persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus inert atau tidak bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan

simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air (Darsini, 2022).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair atau solven sebagai separating agent. Pelarut dalam ekstraksi dibagi menjadi 3 yaitu pelarut polar seperti air, etanol, dan metanol; pelarut semi polar seperti etil asetat, diklorometan; dan pelarut non polar seperti heksan, petroleum eter, dan kloroform (Handrianto, 2016). Pemilihan pelarut pada ekstraksi dilakukan dengan melihat kepolaran senyawa kandungan yang akan diambil. Senyawa aktif yang terkandung pada simplisia digolongkan kedalam beberapa golongan diantaranya minyak atsiri, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan lain-lain. Prinsip dari ekstraksi yaitu untuk memperoleh kandungan senyawa yang larut dalam pelarut. Terdapat beberapa macam ekstraksi yang digunakan untuk memperoleh metabolit sekunder dari suatu tanaman. Ekstraksi dibagi menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas. Ekstraksi yang termasuk cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi sedangkan ekstraksi yang termasuk cara panas yaitu sokletasi, refluks, digesti, infus, dan dekok (Depkes RI, 2000).

Tujuan utama dari proses ekstraksi berkaitan dengan satu atau lebih dari sifat berikut (Haeria, 2014):

1. Hasil ekstraksi yang tinggi: senyawa target diperoleh secara tuntas atau hampir tuntas.
2. Kemurnian yang tinggi (selektivitas): ekstrak yang dihasilkan memiliki bahan pengganggu atau bahan yang tidak diinginkan dalam jumlah yang rendah.
3. Sensitivitas yang tinggi: ekstrak yang dihasilkan memungkinkan untuk dikuantifikasi dengan teknik yang berbeda dengan menghasilkan linearitas yang tinggi dalam kurva kalibrasi.
4. Batas deteksi rendah (kuantifikasi): komponen dalam ekstrak dapat dideteksi/diukur pada tingkat rendah karena tingkat noise (gangguan analisis) yang rendah dapat diperoleh dalam sistem analitis.

2.5.1 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi yang umum dilakukan yaitu :

2.5.1.1 Cara Dingin

Ekstraksi cara dingin merupakan ekstraksi yang tidak terdapat proses pemanasan. Ekstraksi ini dimaksudkan untuk menghindari rusaknya senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Ekstraksi ini memungkinkan banyak senyawa yang terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan yang terbatas pada suhu kamar (Puspitasari & Proyogo, 2017). Ekstraksi ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya yaitu prosesnya sederhana, alat yang digunakan tidak rumit, dan relative murah. Sedangkan kekurangan dari ekstraksi ini yaitu memerlukan waktu yang lama dan penggunaan pelarut yang tidak efektif (Kiswandono, 2017).

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana, yaitu dengan merendam sampel dalam pelarut yang sesuai pada suhu kamar selama beberapa waktu dan disertai dengan pengadukan untuk meminimalkan kerusakan pada komposisi kimia yang diekstraksi. Prinsip kerja maserasi adalah filtrat yang digunakan akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan larutan di luar sel akan membuat larutan menjadi pekat (Handrianto, 2016). Kelebihan metode maserasi adalah tidak memerlukan peralatan yang rumit, relatif murah, dan menghindari terjadinya penguapan komponen senyawa karena tidak dilakukan dengan pemanasan. Kerugian dari metode pemisahan senyawa menggunakan cara maserasi adalah waktu yang digunakan cukup lama, namun maserasi dapat digunakan untuk senyawa yang bersifat termolabil (Cahyani dkk., 2020).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi

antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan. pada metode perkolasi, serbuk sampel yang dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

2.5.1.2 Cara Panas

Metode cara panas artinya melibatkan panas yang dalam prosesnya melibatkan panas secara otomatis akan mempercepat proses penyarian dibandingkan cara dingin.

1. Sokletasi

Sokletasi merupakan teknik ekstraksi secara berkesinambungan dengan alat *soxhlet* menggunakan pelarut organik pada suhu didih. Jumlah pelarut yang digunakan relatif konstan. Prinsip sokletasi adalah penyarian yang dilakukan berulang-ulang sehingga penyarian lebih sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit.

2. Refluks

Merupakan cara ekstraksi dengan alat refluks menggunakan pelarut Refluks merupakan cara ekstraksi dengan alat refluks menggunakan pelarut pada suhu titik didih selama waktu tertentu dan menggunakan jumlah pelarut yang terbatas relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3. Infusa

Infusa merupakan cara ekstraksi yang cocok untuk simplisia bersifat lunak seperti daun dan bunga dengan menggunakan pelarut air pada suhu 96-98⁰C selama 15-20 menit (dimulai sejak suhu 96⁰C).

4. Dekokta

Dekokta merupakan teknik ekstraksi yang mirip dengan infusa tetapi waktu yang digunakan lebih lama (30 menit) dan suhunya sampai 1000 (Putri, 2022).

2.6 Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah N-heksan, Etil asetat, dan Metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan N-heksan, Etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan Metanol untuk menarik senyawa senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Cahyani, 2018).

Pemilihan pelarut yang tepat akan berpengaruh terhadap mutu dan kandungan kimia tanaman dalam suatu ekstrak. Pemilihan pelarut berdasarkan polaritas yang berbeda bertujuan mendapatkan pelarut terbaik yang mampu mengekstrak dalam jumlah besar. Senyawa yang berasal dari tumbuhan memiliki kepolaran yang berbeda-beda yang disebabkan oleh perbedaan struktur dan ikatan kimia yang dimilikinya. Senyawa yang polar dapat diikat oleh pelarut polar dan semipolar seperti metanol dan etil asetat, sedangkan senyawa nonpolar dapat diikat oleh pelarut seperti n-heksana (Sari, 2017).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

3.1.1 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April– Juni 2025.

3.1.2 Tempat Penelitian

Tempat penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

3.2 Alat Dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, *LAF (Laminar Air Flow)*, cawan petri (Anumbra®), autoklaf (OneMed®), inkubator (Heraeus®), erlenmeyer 1000 ml (Pyrex®), labu ukur 100 ml (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), rak tabung reaksi, L. rod (pyrex®), penjepit tabung reaksi, gelas kimia 100 ml (Pyrex®), gelas ukur 10 ml (Pyrex®), magnetic stirrer (Joanlab®), Vortex mixer (Dlab®), timbangan analitik (Fujitsu®), jarum inokulum, pipet tetes, pipet ukur (Pyrex®), batang pengaduk (Pyrex®), bunsen, corong, dan jangka sorong.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam, aquadest, biakan murni mikroba *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, DMSO (Dimetil Sulfoksida), HCl pekat, H₂SO₄ 1%, Nutrient Agar (NA), Media Hinton Agar (MHA), FeCl₃, NaCl 0,9%, etanol 96%, pelarut N-heksan, Magnesium, alkohol 70%, antibiotik Eritromycin, pereaksi mayer, Reagen Dragendorf, kloroform, BaCl, FeCl, spiritus, akuades steril, aluminium foil, kertas saring, kertas cakram, kertas coklat, kapas, air.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan rancangan eksperimental menggunakan metode difusi cakram. Subjek dari penelitian ini

adalah bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* dan objek dari penelitian ini adalah daun salam.

3.3.2 Definisi Oprasional

Tabel 3.3 Tabel definisi oprasional

variabel	Definisi oprasional	Cara pengukuran	skala
Ekstrak etanol daun salam	Ekstrak etanol 96% diekstraksi dengan metode maserasi.	Evaporator	Nominal
Aktivitas antibakteri	Kemampuan ekstrak etanol daun salam dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Bacillus subtilis</i> dan <i>Escherichia coli</i> .	Mengukur zona hambat	ordinal
<i>Bacillus subtilis</i>	Bakteri gram positif yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi.	observasional	Nominal
<i>Escherichia coli</i>	Bakteri gram negatif yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi	observasional	Nominal
Zona hambat	Ukuran diameter (mm) dari area yang Dimana bakteri tidak dapat tumbuh karena adanya zat antimikroba.	Diameter milimeter (mm) zona hambat diukur dengan jangka sorong	Numerik

3.3.3 Fokus Penelitian

Fokus penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah fraksi N-heksan ekstrak daun salam mempunyai potensi sebagai sumber senyawa alami yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

3.3.4 Sampel dan Teknik Sampling

3.3.4.1 Sampel

Sampel daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh di jl.Delima Rt.01 Bukuan, kec.Palaran. daun salam yang diambil adalah yang berwarna hijau segar dan tidak berjamur.

3.3.4.2 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah *Simple Random Sampling* (SRS) , yaitu semua anggota populasi memiliki peluang yang sama untuk diambil dan digunakan sebagai subjek.

3.3.5 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data penelitian ini digunakan rumus Federer (Husna & lingga., 2024).

Rumus Federer ditunjukkan oleh persamaan (3.1)

$$(t-1)(r-1) \geq 15 \quad (3.1)$$

Keterangan : t = jumlah perlakuan

r = jumlah pengulangan

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 > 15$$

$$r = \frac{4+15}{4} = \frac{19}{4} = 4,75 = 5$$

berdasarkan hasil perhitungan diatas jumlah pengulangan dilakukan sebanyak 5 kali.

3.3.6 Tahap Penelitian

3.3.6.1. pengambilan tanaman

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) diperoleh dari daerah kel.Bukuan, Kec. Palaran yang dipetik pada pagi hari di jam 8-9 pagi

pada saat cuaca cerah dan tidak sedang hujan. diambil daun yang berwarna hijau dan masih segar.

3.3.6.2. Determinasi tanaman

Sampel daun salam dideterminasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda. Tujuan determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman yang digunakan pada pengujian.

3.3.6.3 Pembuatan Simplisia Daun Salam

Mengumpulkan daun salam yang masih segar dan hijau, Pencucian menggunakan air bersih secara mengalir sebanyak tiga kali yang bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat pada daun dan selanjutnya ditiriskan. Proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung selama 2-3 hari. kemudian daun salam yang telah kering dihaluskan dengan blender hingga diperoleh serbuk simplisia kering dan diayak menggunakan mesh 40.

3.3.6.4 Pembuatan Ekstrak tanol Daun Salam

Simplisia halus daun salam ditimbang sebanyak 500 g dan dimasukkan kedalam wadah yang sesuai kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 10000 ml, wadah ditutup dengan rapat dan disimpan ditempat yang gelap dan sejuk selama 3 hari dan sesekali diaduk. Setelah 3 hari disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan serbuk. kemudian filtrat hasil maserasi diuapkan hingga didapatkan ekstrak kental.

3.3.6.5 Pembuatan Fraksi N-Heksan

Fraksinasi n-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*). Dibuat dengan cara ekstrak etanol daun salam dilarutkan dengan 100 ml air kemudian difraksinasi dengan pelarut non polar n-heksan sebanyak 100 ml dalam corong pisah. Filtrat yang dibagian atas fraksi n-heksan dipisahkan dari filtrat yang di bagian bawah air, sehingga didapat fraksi n-heksan (replikasi 3x).

3.3.6.6 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

1. Uji organoleptik

Uji organoleptik menggunakan panca indera secara langsung untuk menunjukkan bentuk, warna dan bau dari Ekstrak daun salam (Depkes RI, 2000).

2. Rendemen ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak daun salam dihitung membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan (Depkes RI, 2000).

Rumus menghitung rendamen ekstrak ditunjukkan oleh persamaan (3.2).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100\% \quad (3.2)$$

3.3.6.7 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Salam

1. Uji Flavonoid

Sampel ekstrak ditambah dengan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Fisca *Et al*, 2018).

2. Uji tanin

Sampel ekstrak ditambah dengan beberapa tetes FeCl_3 dan perubahan warna membentuk warna hitam kebiruan atau hijau (Fisca *et al*, 2018).

3. Uji saponin

sampel ekstrak ditambah dengan aquades panas akan terbentuk busa atau buih selama 15 menit, timbulnya busa akan menunjukkan adanya saponin (Fisca *et al*, 2018).

4. Uji alkaloid

Sampel ekstrak 0,5 g ditambah 1 mL HCl 2N dan 9 mL *aquadest* panas. Larutan dipanaskan 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi

Dragendorf. Sampel positif ditunjukkan terbentuk warna merah atau jingga hingga merah kecokelatan (Haryati dkk., 2015).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi 1%, 2.5%, dan 5% fraksi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

3.4.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat fraks n-heksan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

3.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol atau terkendali adalah variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2013). Penelitian ini menggunakan variabel kontrol sterilisasi alat dan bahan, suhu, waktu inokulasi, bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

3.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Salam

3.5.1 Tahap pelaksanaan

3.5.1.1 Sterilisasi alat dan bahan

Seluruh alat dan bahan (media tanam) yang akan digunakan dicuci bersih kemudian dikeringkan. Alat-alat gelas seperti gelas ukur, labu ukur dimasukkan kedalam plastik tahan panas dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121^oC selama 15 menit. Bahan-bahan yang terbuat dari karet disterilkan dengan merendam dengan alkohol 70%, kemudian jarum Ose disterilkan dengan dipijarkan menggunakan Bunsen atau lampu spiritus. Alat-alat kaca non presisi seperti tabung reaksi, gelas beker, erlenmeyer ditutup mulutnya dengan kapas. Cawan petri dibungkus

dengan kertas, kemudian seluruh alat dimasukkan kedalam plastik tahan panas dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Pertiwi, 2010).

3.5.1.2 Pembuatan media NA (*Nutrient Agar*)

Media NA sebanyak 0,28 gram dilarutkan dalam 20 ml (28 g/1000 ml) aquadest menggunakan erlenmeyer. Selanjutnya dipanaskan sampai larut dengan hot plate. Sebanyak 5 ml dituangkan masing-masing pada 2 tabung reaksi steril dan ditutup dengan aluminium foil. Media disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama \pm 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°. Media agar miring digunakan untuk inokulum suspensi bakteri uji.

3.5.1.3 Peremajaan Biakan Bakteri

Peremajaan bakteri menggunakan agar miring NA dengan mengambil satu ose bakteri menggunakan ose steril yang sudah dipanaskan dengan cara pemijaran kemudian digoreskan pada permukaan agar miring dengan cara zig-zag dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.5.1.4 Pembuatan Media *Meller Hinton Agar* (MHA)

Sebanyak 8 g Media *Mueller Hinton Agar* dilarutkan dalam 250 ml aquadest dipanaskan sampai larut. Media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Dinginkan sampai suhu \pm 50°C, selanjutnya dituang sebanyak 25 ml kedalam cawan petri steril. Setelah dingin, medium padat disimpan dalam kulkas.

3.5.1.5 Pembuatan Larutan McFarland

Larutan Mc Farland 0,5 dibuat dengan melarutkan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml dan larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml. Larutan kemudian di vortex sampai tercampur sempurna (Rosmania dan Fitri, 2020).

3.5.1.6 Pembuatan Larutan Uji

Seri konsentrasi 1%, 2.5%, 5% fraksi tersebut dalam volume masing-masing Konsentrasi 1%, dengan ditimbang fraksi 50 g dilarutkan

dalam 5 ml, konsentrasi 2,5% dengan ditimbang fraksi 125 mg dilarutkan dalam 5 ml, konsentrasi 5% ditimbang fraksi 250 mg dilarutkan dalam 5 ml. Antibiotik Eritromisin sebagai kontrol positif dan kontrol negatif pelarut DMSO 1%.

3.5.1.7 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Larutan suspensi bakteri dibuat dengan diambil 1 ose bakteri, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9%, dengan biakan murni didalam tabung reaksi dan dihomegenkan dengan vortex, kemudian disamakan dengan standar Mc Farland (Misna dan Khusnul, 2016).

3.5.1.8 Pembuatan DMSO 1 %

Larutan DMSO 1% dibuat dengan diambil pelarut Dimetil sulfoksida sebanyak 10 ml kemudian dilarutkan dengan Aquadest hingga tanda batas dalam labu ukur 100 ml.

3.5.2 Tahap Perlakuan

Suspensi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* diinokulasikan pada media MHA yang telah memadat secara aseptis. Kemudian Kertas cakram dicelupkan ke dalam masing-masing konsentrasi ekstrak daun salam, larutan DMSO 1%, dan larutan Eritromycin hingga menyerap dengan sempurna. selanjutnya kertas cakram diletakkan di atas media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Kemudian Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Uji dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

3.5.3 Pengamatan dan Pengukuran

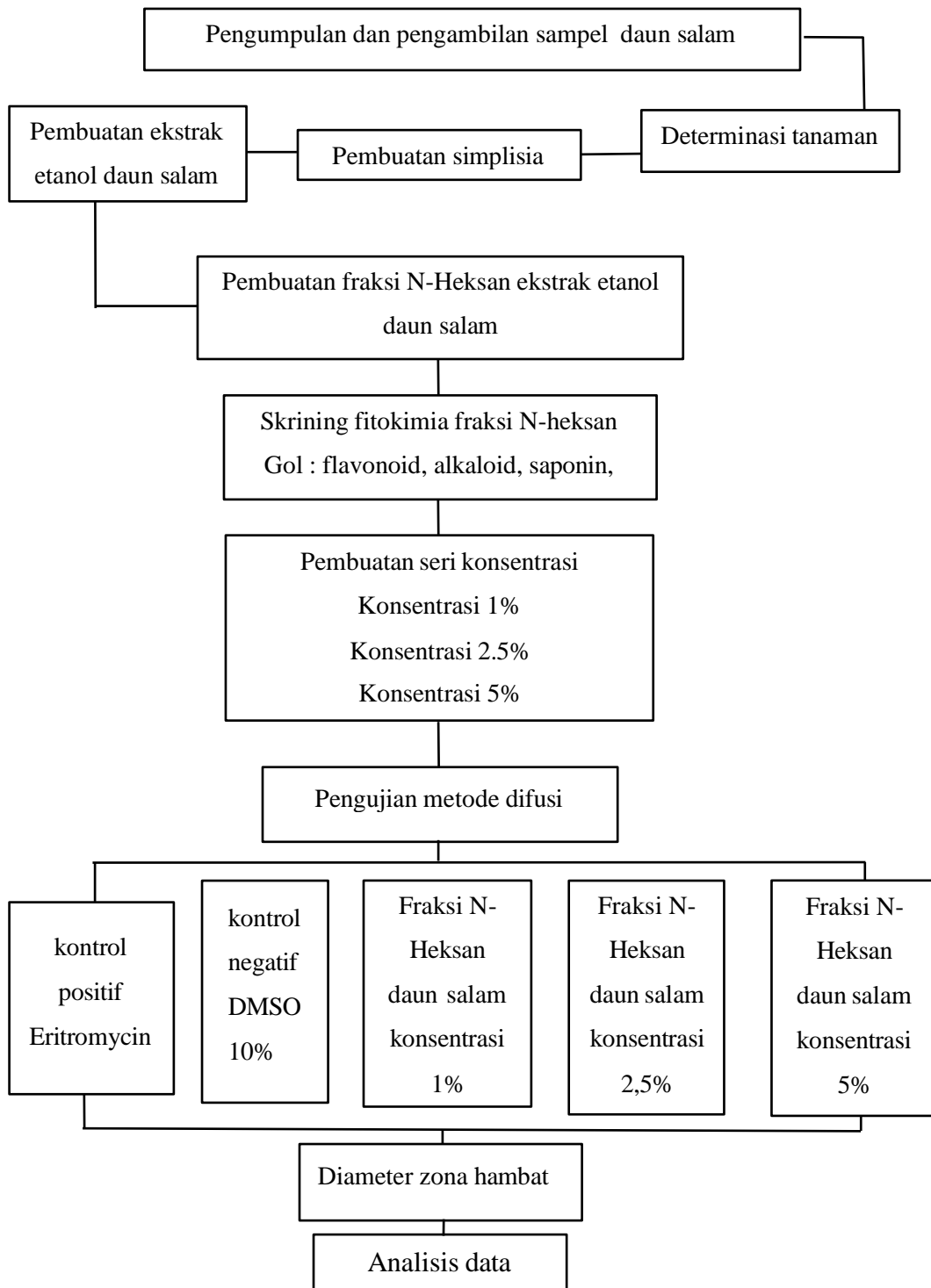
Pengamatan dan Pengukuran dilakukan setelah masa inkubasi 2 x 24 jam. Zona hambat/ zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram diukur diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong.

3.5.4. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter zona hambat dari uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan ekstrak etanol daun salam dengan difusi cakram. Kemudian dianalisis menggunakan program SPSS IBM 27. Menguji sensitivitas bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* terhadap masing-

masing konsentrasi ekstrak daun salam yang berbeda, untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari ekstrak daun salam terhadap bakteri tersebut. Lalu dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA jika terdistribusi normal, jika nilai sig > 0,05. Apabila data tidak terdistribusi normal, yaitu jika nilai sig < 0,05 maka menggunakan pengujian *kruskal-wallis*.

3.6 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman dengan menggunakan kunci determinasi, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman yang lain pada saat pengumpulan bahan. Berdasarkan hasil determinasi daun salam yang dilakukan di laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar daun salam (*Syzygium polyanthum*).

4.2 Hasil Pembuatan simplisia dan Maserasi ekstrak Etanol Daun Salam

Simplisia ialah bahan baku obat alami yang sudah dikeringkan dan diserbukkan serta belum menjalani pengolahan (Kemenkes RI.,2017). Pembuatan simplisia daun salam diambil dengan cara dipotong dari ranting pohon kemudian dilakukan sortasi basah pada daun salam untuk memisahkan pengotor yang terdapat pada daun agar tidak mengganggu proses ekstraksi dan menyebabkan kontaminasi pada ekstrak. Daun diambil pada waktu pagi pada jam 8-9 ketika cuaca kering atau sore hari karena pada siang hari panas terik menyebabkan tanaman terutama daun yang dipanen menjadi layu dan tidak segar (Kumoro, 2015). Daun salam dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada daun kemudian dilakukan perajangan untuk mempermudah pengeringan dan ekstraksi. Tahap selanjutnya adalah proses pengeringan dengan cara dikering anginkan selama 6 hari. Sampel dikatakan kering ketika sampel dapat diremas (Arum, 2015).

Setelah kering, daun salam kemudian disortasi kembali untuk membuang pengotor yang masih tertinggal. Setelah disortasi kering proses selanjutnya diserbuk dengan cara diblender kemudian diayak menggunakan ayakan mesh 40 untuk mendapatkan ukuran simplisia yang kompak. Ekstraksi daun salam menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 5000 ml. penggunaan etanol sebagai pelarut karena penelitian ini dimaksudkan untuk menguji aktivitas

antibakteri dari ekstrak daun salam. Tujuan ekstraksi ini adalah memperoleh seluruh senyawa bioaktif yang terdapat dalam daun salam.

Etanol mempunyai kemampuan penyari dengan polaritas yang luas, mulai dari senyawa non polar sampai dengan senyawa polar (Saifudin dkk, 2011). Pelarut etanol dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel sehingga meningkatkan efisiensi ekstraktif senyawa yang terdapat dalam daun salam. Selama Proses maserasi, dilakukan pengadukan beberapa kali untuk memastikan seluruh serbuk simplisia terbasahi oleh pelarut dan dapat lebih maksimal mengekstraksi senyawa metabolit serta rendamen ekstrak menjadi lebih tinggi. Maserasi diulang (remaserasi) menggunakan ampas dari maserasi sebelumnya dan pelarut baru etanol 96% sebanyak 5000 ml untuk mengambil senyawa yang masih tertinggal pada simplisia. Selanjutnya dilakukan penyaringan hasil maserat menggunakan kertas saring, Maserat dikumpulkan lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50⁰C.

Maserat kemudian diuapkan menggunakan *waterbath* untuk mempercepat proses evaporasi hingga memperoleh ekstrak yang kental, selanjutnya dapat dihitung rendamen ekstrak. Tujuan perhitungan rendamen adalah untuk mengetahui persentase perolehan hasil ekstrak sehingga nantinya dapat diketahui jumlah simplisia yang dibutuhkan untuk membuat sejumlah ekstrak kental tertentu. Hasil rendemen dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Daun Salam

Sampel	Berat simplisia yang diekstrak (g)	Berat ekstrak yang didapat (g)	Rendamen (%)
Daun salam	500	94,32	18,846

Berdasarkan tabel diatas Ekstrak yang didapatkan yaitu sebanyak 94,32 g dengan nilai rendemen sebesar 18,864%.

4.3 Pemeriksaan karakteristik ekstrak

Identifikasi ekstrak dilakukan dengan uji organoleptis yang diamati berdasarkan warna, bentuk, bau, dan rasa. Hasil pengamatan dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Uji Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Salam

Sampel	Warna	Bentuk	Bau	Rasa
Ekstrak etanol daun salam	Hitam kecoklatan	Ekstrak kental	Aromatik lemah	Pahit

Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan uji parameter spesifik yaitu uji organoleptis. Tabel 4.2 memperlihatkan hasil uji berupa ekstrak kental berwarna hitam kecoklatan, berbau aromatic lemah, dan memiliki rasa pahit.

4.5 Fraksi N-heksan Daun Salam

Fraksi *N*-heksan daun salam (*Syzygium polyanthum*) dibuat dengan melarutkan ekstrak etanol daun salam yang diperoleh dari metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 10 g dengan 100 ml aquadest kemudian difraksinasi dengan pelarut non polar *N*-heksan sebanyak 100 ml dalam corong pisah. Filtrat bagian adalah fraksi *N*-heksan dipisahkan dengan filtrat bagian bawah yaitu air sehingga diperoleh fraksi *N*-heksan. Dilakukan pengulangan (replikasi) sebanyak 3 kali. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar dan senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar (Irene, 2018). Hasil rendamen fraksi *N*-heksan dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil Rendemen Fraksi *N*-heksan Daun Salam

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendamen (%)
30	1,08	3,6

Berdasarkan Tabel 4.3 diatas bobot fraksi *N*-heksan daun salam yang didapatkan sebanyak 1,08 g dan nilai rendemen ekstrak sebesar 3,6%. Hasil bobot fraksi terhadap bobot ekstrak yang diperoleh sangat kecil. Hal ini disebabkan karena pada saat melakukan fraksinasi terjadi proses emulsi pada saat pengujian, sehingga senyawa yang dihasilkan tidak maksimal. Senyawa yang terkandung di dalam fraksi banyak yang menguap dan hilang pada saat dilakukan proses pemisahan.

4.6 Skrining Fitokimia Fraksi N-heksan Daun Salam

Skrining fitokimia termasuk uji kualitatif guna mendeteksi golongan senyawa metabolit yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Jika dilihat pada Tabel 4.4 di bawah, Berdasarkan hasil uji fitokimia fraksi *N*-heksan daun salam memberikan hasil positif terhadap senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid

Pengujian	Reaksi	Literatur	Hasil	Ket.
Flavonoid	1 ml ekstrak + Mg + HCl pekat	berwarna merah atau jingga	Jingga	+
Tanin	1 ml ekstrak + FeCl ₃	Hitam kebiruan atau coklat kehijauan	Coklat kehijauan	+
Saponin	ekstrak + aquadest panas (kocok) amati	Terbentuknya buih yang stabil	Berbuih	+
Alkaloid	Ekstrak + 1 ml HCL 2N + 9 ml aquadest (panaskan) disaring. Filtrat + pereaksi dragendroff	Merah atau jingga. Merah hingga kecoklatan	Merah kecoklatan	+

Tabel 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Fraksi N-heksan Daun Salam

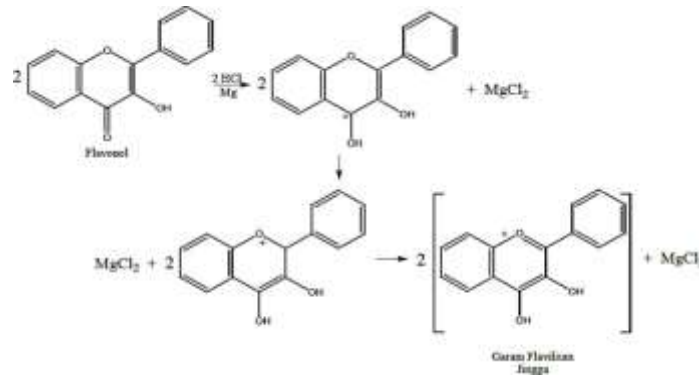
Keterangan :

(+) : mengandung golongan senyawa

(-) : tidak mengandung golongan senyawa

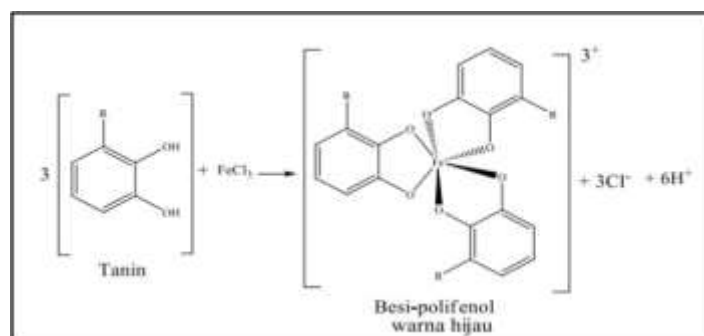
Uji flavonoid fraksi *N*-heksan daun salam dilakukan dengan cara mengambil 1 ml ekstrak dengan logam (Mg) dan HCl pekat. Hasil positif maka menunjukkan perubahan warna merah atau jingga. Penambahan serbuk logam Mg dan HCl pada pengujian flavonoid menyebabkan tereduksinya inti benzopiron senyawa flavonoid sehingga menimbulkan reaksi warna merah atau jingga yang merupakan ciri dari senyawa flavonoid (Hanani, 2015). Tabel 4.4 hasil uji flavonoid

fraksi N-heksan daun salam memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau, hasil tersebut sesuai dengan literatur. Reaksi uji flavonoid disajikan pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl (Pravita & Durhania, 2023).

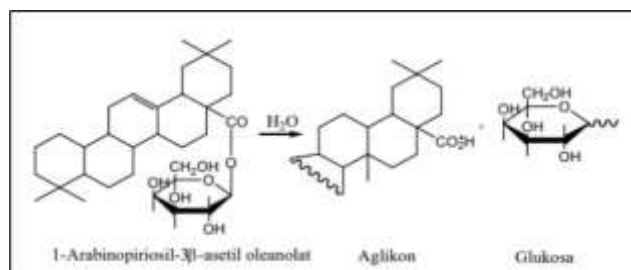
Uji tanin fraksin N-heksan daun salam dilakukan dengan mengambil 1 ml ekstrak dan ditambahkan dengan FeCl₃. Hasil positif menunjukkan perubahan warna hitam kebiruan atau hijau. Warna hijau tersebut berasal dari terbentuknya kompleks antara gugus fenol dari senyawa fenolik dengan ion Fe³⁺ dari FeCl₃ (Kurang *et al.*, 2020). Fraksi N-heksan daun salam memberikan hasil positif senyawa tanin, dilihat dari terbentuknya warna coklat kehijauan setelah penambahan FeCl₃. Hasil tersebut sesuai dengan literatur, yaitu fraksi N-heksan daun salam mengandung senyawa tanin berdasarkan perubahan yang terjadi berupa coklat kehijauan.



Gambar 4.2 Reaksi Tanin Dengan FeCl₃ (Habibi *et al.*, 2018).

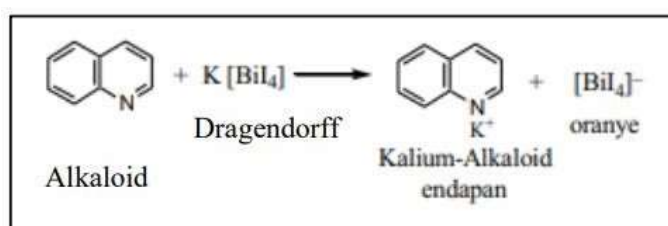
Uji saponin dilakukan dengan mengambil ekstrak dan ditambahkan aquadest panas kemudian dikocok, hasil yang positif akan terbentuk buih yang stabil. Saponin memiliki gugus hidrofilik dan hidrofob. Saponin pada saat digojok

terbentuk buih karena adanya gugus hidrofil yang berikatan dengan air sedangkan hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga dapat menimbulkan busa (Eva Susanty, 2014). Dari hasil uji diatas fraksi N-heksan daun salam menunjukkan hasil positif senyawa saponin, dilihat dari terbentuknya buih yang stabil. Hasil tersebut sesuai dengan literatur.



Gambar 4.3 Reaksi Hidrolisis Saponin (Adjeng *et al.*, 2019).

Uji alkaloid fraksi N-heksan daun salam dilakukan dengan mengambil Ekstrak ditambahkan dengan 1 ml HCL 2N dan 9 ml aquadest kemudian dipanaskan dan disaring. selanjutnya Filtrat ditambahkan dengan pereaksi dragendroff dan membentuk endapan merah atau jingga atau merah hingga kecoklatan. Identifikasi senyawa alkaloid pada fraksi N-heksan daun salam memberikan hasil positif dengan pereaksi dragendorff, diketahui dari adanya endapan coklat kemerahan setelah penambahan pereaksi tersebut. Pada struktur alkaloid terkandung atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas yang menyebabkan ikatan kovalen koordinat dapat terbentuk antara alkaloid dan ion logam, seperti kalium (logam alkali) (Yanti & Vera, 2019). Maka dari itu, ion K^+ dari pereaksi dan nitrogen pada alkaloid dapat menciptakan kompleks kalium alkaloid yang mampu mengendap. Hasil positif tersebut sesuai dengan literatur yaitu fraksi N-heksan daun salam mengandung senyawa alkaloid berdasarkan perubahan warna yang terjadi berupa endapan coklat kemerahan.



Gambar 4.4. Perkiraan Reaksi Uji Dragendorff (Yanti & Vera, 2019)

4.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi N-heksan Daun Salam

Penelitian antibakteri ini menggunakan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA). Hal ini karena MHA menjadi media standar untuk uji *Kirby-Bauer*, media MHA mendukung pertumbuhan Sebagian besar patogen, rendah menghambat sulfonamida, trimethoprim dan tetrasiklin, dan memiliki reproduktifitas yang baik. Tahapan awal yang dilakukan adalah sterilisasi alat seperti peralatan berbahan kaca disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Alat logam seperti jarum ose disterilasi menggunakan pemijaran api atau dibakar pada api Bunsen hingga berwarna kemerahan. Peremajaan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* bertujuan untuk memperbanyak kultur murni. *Nutrien Agar* (NA) digunakan sebagai media peremajaan Dimana media ini mengandung banyak nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Kultur disiapkan dalam agar miring untuk memperpanjang masa simpan dan menjaga kemurnian isolat.

Selanjutnya pembuatan media uji *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan menimbang serbuk sesuai dengan perhitungan ditambahkan dengan 250 ml aquadest dipanaskan hingga homogen. Kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Media kemudian dituangkan pada masing-masing cawan petri steril secara aseptis. Standart *McFarland* dibuat dengan melarutkan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml dan larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml, lalu di *vortex* hingga homogen. *McFarland* sensitif terhadap udara, suhu dan cahaya. Kondisi ini akan menyebabkan standar *McFarland* menggumpal. Jika terbentuk gumpalan, berupa partikel besar yang terlihat pada *McFarland*, maka standar harus diganti (Wayne, 2012).

Suspensi bakteri dibuat dengan metode suspensi koloni langsung yaitu koloni bakteri langsung disuspensikan pada media cair atau larutan garam steril kemudian kekeruhannya dibandingkan dengan standar *Mc Farland*. Suspensi bakteri diinokulasikan menggunakan batang L steril pada permukaan media agar petri. Inokulasi dilakukan dengan menggoreskan batang L pada media dan memutar cawan, bertujuan agar tidak adanya celah pada permukaan media yang berarti distribusi inokulum merata. Setelahnya cawan didiamkan selama 3-5 menit agar permukaan media kering sebelum dilakukan penempatan cakram. Uji dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan tiga konsentrasi ekstrak yaitu 1%,

2,5%, dan 5%. DMSO 1% digunakan sebagai kontrol negatif, karena merupakan pelarut ekstrak dan tidak memiliki aktivitas antibakteri. Eritromisin digunakan sebagai kontrol positif. Selanjutnya, kertas cakram steril direndam hingga meresap pada masing- masing larutan konsentrasi, larutan DMSO 1%, dan antibiotik. Kertas cakram yang telah siap diletakkan pada media uji yang telah diinokulasikan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* menggunakan pinset steril dengan sedikit penekanan untuk memastikan cakram benar-benar menempel. Media uji selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. daya hambat yang terbentuk berupa zona bening disekitar daerah kertas cakram yang dinyatakan dalam ukuran mililiter (mm).

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksan daun salam menunjukkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona jernih yang mengelilingi daerah kertas cakram Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dapat dilihat pada Tabel 4.5. foto hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran

Tabel 4.5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Bacillus subtilis*

Konsentrasi	Diameter daya hambat					Rata-rata (mm)	Kategori
	Replikasi						
	1	2	3	4	5		
1%	4,25	5,58	7	7,7	6,25	6	sedang
2,5%	5,4	5,35	0,8	8,75	3	5	sedang
5%	8,8	17,8	5	15,3	16,2	13	kuat
k.Positif	15,9	6	18,5	19,4	13,8	15	kuat
k. Negatif	0	0	0	0	0	0	Lemah

Aktivitas antibakteri fraksi n-heksan daun salam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona jernih yang mengelilingi daerah kertas cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dapat dilihat pada Tabel 4.6. foto hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran

Tabel 4.6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi	Diameter daya hambat					Rata-rata (mm)	Kategori
	Replikasi						
	1	2	3	4	5		
1%	0,45	8,5	10,6	6,55	12,3	8	Sedang
2,5%	1,8	7,9	12,1	4,45	0,7	5	Sedang
5%	4,55	17,95	11,3	6,4	16,4	11	Kuat
k.Positif	20,4	22,5	21,1	21,8	21,2	21	Kuat
k. Negatif	0	0	0	0	0	0	Lemah

Hasil uji antibakteri fraksi n-heksan daun salam pada bakteri *Bacillus subtilis* memiliki zona hambat paling tinggi dari variasi konsentrasi yaitu pada konsentrasi 5% dengan nilai zona bening 13 mm. Daerah jernih tersebut menandakan bahwa tidak terdapat pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada zona tersebut. Tujuan dari adanya variasi konsentrasi adalah mengetahui perbedaan kemampuan hambat dari berbagai konsentrasi ekstrak. Fraksi n-heksan daun salam pada konsentrasi 1% dan 2,5% menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada *Bacillus subtilis* dengan ditemukannya zona bening yang mengelilingi daerah kertas cakram nilai rata-rata 5-6mm dengan kategori sedang Foto hasil pengujian antibakteri *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada lampiran 6.

Dari nilai diameter zona hambat yang telah diukur, diameter 1-5% memiliki rentang nilai 5-13 mm. Diameter tersebut bernilai >5 mm, maka kekuatan antibakteri fraksi n-heksan daun salam konsentrasi 1-5% tergolong sedang-kuat yang menandakan kemampuan ekstrak menahan pertumbuhan *Bacillus subtilis* baik. Hasil diameter zona hambat yang didapat selaras dengan teori yang menyebutkan bahwa daya antibakteri suatu zat akan semakin tinggi apabila konsentrasi suatu zat tersebut semakin tinggi, dikarenakan semakin tinggi konsentrasi berarti kandungan metabolit sekundernya semakin banyak (Wardaniati, 2021). Berdasarkan Tabel 4.6 hasil uji antibakteri fraksi n-heksan daun salam pada *Escherichia coli* memperlihatkan bahwa variasi konsentrasi 5% memiliki zona

hambat paling tinggi yaitu 11 mm dari variasi konsentrasi yang lain. Nilai diameter zona hambat yang telah diukur pada konsentrasi 1-5% memiliki rentang nilai 8-11 mm dan termasuk dalam kategori sedang-kuat yang menandakan kemampuan ekstrak menahan pertumbuhan *Escherichia coli* baik.

Eritromisin adalah antibiotik golongan makrolida yang bersifat bakteriostatik dan termasuk antibiotik spektrum luas terhadap bakteri gram positif dan Sebagian gram negatif. Eritromisin bekerja dengan mengikat subunit 50S ribosom bakteri, tepatnya di saluran keluar (exit tunnel) dekat pusat peptidil transferase (PTC). Pengikatan ini menyebabkan penyempitan saluran, sehingga rantai polipeptida yang baru terbentuk tidak dapat melanjutkan elongasi atau ditranslokasikan dari A-site ke P-site mengganggu sintesis protein dan menahan pertumbuhan bakteri (Nguyen *et al.*, 2018). Eritromisin sebagai pilihan utama atau alternatif untuk infeksi bakteri penyebab penyakit infeksi kulit (*acne vulgaris*, *S.aureus*), bronchitis, pneumonia (*S.pneumoniae*), difteri, infeksi menular seksual (*Treponema pallidum*). kontrol positif eritromisin termasuk kedalam kategori sedang dengan nilai rata-rata zona hambat pada bakteri *Bacillus subtilis* sebesar 5 mm dan pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 7 mm. Bila dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram eritromisin, zona hambat fraksi n-heksan lebih kecil. Dalam penelitian ini tampak bahwa eritromisin masih lebih efisien dalam menghambat pertumbuhan bakteri *bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Foto hasil pengujian antibakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada lampiran 6.

Dari uji fitokimia, diketahui terdapat senyawa alkaloid, glikosida dan fenolik, termasuk flavonoid dan tanin pada fraksi daun salam. Aktivitas antibakteri akan muncul jika metabolit sekunder dari fraksi n-heksan ini sampai ke dalam sel bakteri. Mekanisme kerja dari alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Keberadaan gugus hidroksil dalam senyawa fenolik mempengaruhi efisiensi antibakteri mereka. Gugus hidroksil mengikat dan berinteraksi dengan sisi aktif enzim sehingga mengubah metabolismenya. Senyawa-senyawa fenolik dapat mengganggu permeabilitas membran sitoplasma bakteri. Selain itu, juga mendenaturasi dan

menginaktifkan protein. Terganggunya permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma ini mengakibatkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel alhasil sel pun lisis. Dalam mendenaturasi protein sel, ikatan hidrogen yang tercipta antara fenol dan protein menimbulkan kerusakan struktur protein. Tanin mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri dalam menginktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin memiliki sasaran terhadap polipeptida dinding sel yang menyebabkan kerusakan pada dinding sel (Sari & Sari 2011).

Data perolehan zona hambat fraksi n-heksan daun salam dengan beberapa variasi konsentrasi beserta kontrol dilakukan analisa statistik menggunakan program IBM SPSS statistics 27.0 *One Way ANOVA* digunakan untuk membandingkan diameter tiap konsentrasi. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara konsentrasi fraksi n-heksan daun salam untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan. Dikarenakan data yang diuji kurang dari 50 sampel ($n < 50$), maka normalitas data diuji dengan uji *Saphiro-Wilk*. Hasil analisis statistik uji antibakteri fraksi n-heksan daun salam terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal dengan signifikansi $> 0,05$ ($p > 0,05$). Namun Pada uji homogenitas data memperoleh signifikansi 0,002 pada *Bacillus subtilis* dan 0,007 pada *Escherichia coli* ($p < 0,05$) yang menandakan data tidak terdistribusi homogen.

Dikarenakan masing-masing kelompok uji mempunyai data berjumlah sama, uji statistik dengan analisis varian masih memberikan hasil yang akurat walaupun data tidak terdistribusi homogen. Dengan demikian, uji statistik dapat dilakukan dengan ANOVA satu arah, Setelah pengujian, muncul nilai signifikansi yaitu 0.000 ($p < 0,05$) menandakan H_0 ditolak dan H_1 diterima, berarti terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan dari nilai diameter daerah hambat bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* yang berarti adanya variasi konsentrasi ekstrak akan berpengaruh terhadap ukuran daerah hambat, di mana peningkatan konsentrasi akan memperbesar ukuran daerah hambat. Pada uji antara kelompok perlakuan bakteri *Bacillus subtilis* konsentrasi 1% dan 2,5% dengan kontrol positif nilai sig 0,01 dan sig 0,00 pada kontrol negatif ($p < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan rata-rata. Konsentrasi 5% dan kontrol negatif dengan nilai sig 0,00 ($p <$

0,05) menunjukkan adanya perbedaan rata-rata. Pada uji antara kelompok perlakuan dengan kontrol positif, konsentrasi 1% dan 2,5% *Escherichia coli* memiliki nilai signifikansi 0,00 ($p < 0,05$) mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan, konsentrasi 5% pada kedua kontrol dengan nilai sig 0,00 ($p < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan rata-rata.

BAB IV

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pada hasil dan pembahasan penelitian, ditemukan kesimpulan sebagai berikut :

1. Fraksi n-heksan daun salam (*Syzygium polyanthum*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichian coli* pada konsentrasi 1%, 2,5% dan 5% diketahui dari yang tampak setelah dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong.
2. Fraksi n-heksan daun salam (*Syzygium polyanthum*) konsentrasi 1% dan 2,5% mempunyai kekuatan antibakteri tergolong sedang dengan rentang diameter zona hambat 5-6 mm. konsentrasi 5% menunjukkan kekuatan antibakteri yang tergolong kuat dengan nilai rata-rata diameter 11 mm pada *Bacillus subtilis* dan 13 mm pada *Escherichia coli*. Konsentrasi tertinggi dengan nilai hambat terbaik antar variasi konsentrasi adalah konsentrasi 5%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan uji antibakteri dari daun salam (*Syzygium polyanthum*) menggunakan pelarut yang lebih efektif Untuk memperoleh hasil yang lebih optimal. Penelitian selanjutnya dapat menyesuaikan pemilihan antibiotik berdasarkan penyakit yang disebabkan oleh bakteri uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjeng, A. N. T., Hairah, S., Herman, S., Ruslin, R., Fitrawan, L. O. M., Sartinah, A., Ali, N. F. M., & Sabarudin, S. 2020. Skrining fitokimia dan evaluasi sediaan sabun cair ekstrak etanol 96 % kulit buah salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.) sebagai antioksidan. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 5(2), 21–24.
- Afifah, S. P. 2016. Validasi metode penetapan kadar asam amino hidroksiprolin menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ambarwati, Arsyad, R., Amin, A., & Waris, R. 2023. Teknik Pembuatan Dan Nilai Rendamen Simplisia Dan Ekstrak Etanol Biji Bagore (*Caesalpinia crista* L.) Asal Polewali Mandar. *Makassar Natural Product Journal*, 1(3), 138–147.
- Arum Samudra. 2015. Karakterisasi ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dari tiga tempat tumbuh di Indonesia. *Skripsi*, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Azizah, F. N.,dkk. 2023. Analisis Sistem Emergency Response and Preparedness Pada PT. X Plant Kanci Kabupaten Cirebon. *Graha Medika Public Health Journal Vol.2* ,No.2.
- Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan Kemenkes Republik Indonesia. 2023. *Laporan SKI 2023 Dalam Angka*. 2023. hal 1–68
- Cahyadi, W. 2018. Analisis dan aspek kesehatan bahan tambahan pangan. Jakarta: Bumi Aksara.
- Putra, D. P. 2015. Penapisan Jamur dari Sarang Ratu Anai-anai (*Macrotermes gilvus Hagen*)., Uji Aktivitas Ekstrak Terhadap *Candida albicans*, dan Analisis KLT. *Abstrak Paper dan Prosiding Seminar Nasional dan Workshop Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik V*. Padang.6-7 November 2015.
- Dalimartha S, Dalimartha FA. (2018). Tumbuhan Sakti Atas Asam Urat. Jakarta: Penebar Swadaya Grup.
- Darsini, D, 2022, Pemberdayaan Masyarakat Dalam Kesehatan Melalui Pelatihan Pembuatan Simplisia Kering Untuk Mengendalikan Resiko Faktor Komorbid Covid-19, *Jurnal Bhakti Civitas Akademika* 5, 10–10.

- Djide, M. Natsir dan Sartini. 2015. Analisis Mikrobiologi Farmasi. UNHAS : Makassar. Hal. 28.
- Faizah, R. N. 2022. Evaluasi Terapi Anitihipertensi pada Pasien Preklamsia Berat di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. Moewardi. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical research*, 02, 228-237.
- Fisca F., Sukma., Dinda S., Furqan Nur I., Halimatussakdiah, Puji W., dan Ulil A. 2018. Skrining fitokimia ekstrak daun “TEMURUP” (Murraya koeginii L.) Kota Langsa Aceh. *Jurnal Jeumpa*. 5(1): 34-39
- Habibi AI, Firmansyah RA, Setyawati SM, Hamka. 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indones J Chem Sci*. 2018;7(1):1-4.
- Hamida F., Lisana S. A., Vilya S., dan Della P. 2019. Escherichia coli Resisten Antibiotik Asal Air Keran di Kampus ISTN. *Jurnal Kesehatan*.12(1) : 63-72.
- Hamida, F., Lisana, S. A., Vilya, S., & Della, P. (2019). *Escherichia coli* resisten antibiotik asal air keran di kampus ISTN. *Jurnal Kesehatan*, 12(1), 63–72.
- Handayani, H., Novikasari, L., & Zainaro, M. A. 2023. Pendidikan Kesehatan tentang Efektifitas Pencegahan Diare pada Balita dengan Seduhan Daun Jambu Biji di Wilayah Kerja Puskesmas Air Hitam Kabupaten Lampung Barat. *Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat (PKM)*, 6(7), 2648–2658.
- Handoyo, D. L.Y., dan Pranoto, M.E. 2020. Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2): 45-54.
- Handrianto, P. 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli', *Journal of Research and Technology*, 2(1), pp. 1–4.
- Hapsari, D. N. 2015. Pemanfaatan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle Linn*) Sebagai Hand Sanitizer. *Skripsi*. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- Harisma, A. 2017. Uji Toksisitas Akut Semut Jepang (*Tenebrio sp.*) Terhadap Mencit Putih Betina. *Skripsi*. Universitas Setia Budi.

- Haryati, N.A., C.S. Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (*Syzygium mytifolium Walp*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1): 35-39
- Hidayat, Syamsul dan Rodame M. Napitupulu. 2015. Kitab Tumbuhan Obat. Jakarta: Agriflo.
- Hudzicki, J. 2016. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology*, 1–23
- Husna, P. S., & Lingga, F. D. P. 2024. Uji Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina Del.*) Terhadap Zona Hambat Bakteri *Cutibacterium Acnes*. *Jurnal Pandu Husada*, 5(2), 72-83.
- Irene E, 2018. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, serta Air dari Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
- Jumanta. 2019. *Buku pintar: Tumbuhan*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Kiswandono, A. A. 2017. Perbandingan Dua Ekstraksi Yang Berbeda Pada Daun Kelor (*Moringa Oleifera, Lamk*) Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Senyawa Bioaktif Yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural*, 1(1), 53.
- Kumoro, A. C. 2015. Teknologi ekstraksi senyawa bahan aktif dari tanaman obat. *Plantaxia*.
- Kurang, R. Y., Koly, F. V. L., & Diana, I. 2020. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera L.*). *J-PHAM: Jurnal Pharm Care Anwar Medika*, 3(1), 13–21.
- Kurniawan, Betta dan Wayan Ferly Aryana. 2015. Binahong (*Cassia alata L*) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth. *J Majority*; 4(4).
- Kusumowati, I. T. D., Melannisa, R., & Ratri, K. 2014. Korelasi kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan daun jambu mete. *Jurnal Biomedika*, 3(2), 45-54.
- Kuswiyanto. 2014. *Buku ajar analisis kesehatan: Bakteriologi 2*. Jakarta: EGC.
- Lutfiah, L. 2022. Aplikasi kamus simplisia dan resep obat tradisional (SIDOTA) berbasis Android. *Jurnal Sains dan Informatika*, 8(1), 61–69.

- Mahardianti, M. 2014. Uji Daun Salam (*Syzygium polianthum*) Sebagai Zat Penolak Alami Bagi Kecoak Amerika (*Periplaneta americana*) Dewasa. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Mayasari, U., & Agus, V. B. 2020. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pirdot (*Saurauia vulcani Korth*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*. *Jurnal Klorofil*, 4(1), 1–5.
- Misna., & Khusnul, D. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 123–130.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L.D., Copolla, R., & Feo, V.D. 2013. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria, *J. Pharmaceuticals*, 6, 1451-1471
- Nguyen, H. L., Pham, D. L., O'Brien, E. P., & Li, M. S. 2018. Erythromycin leads to differential protein expression through differences in electrostatic and dispersion interactions with nascent proteins. *Scientific reports*, 8(1), 6460. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24344-9>
- Nugroho, Y., Soendjoto, M. A., Suyanto, Matatula, J., Alam, S., & Wirabuana, P. Y. A. P. 2022. Traditional medicinal plants and their utilization by local communities around Lambung Mangkurat Education Forests, South Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*, 23(1), 306– 314. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230>
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran dan Methoded Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 1(2). 41.
- Nurhikmah, E.; Musdalipah. 2023. Studi Penyimpanan Obat LASA (Look Alike Sound Alike) di Instalasi Farmasi Rumah Sakit Bhayangkara. *Warta Farmasi*, 6(1), 72-81.
- Pertiwi N. 2010. Uji aktivitas antibakteri dan mekanisme hambat ekstrak air campuran daun piper betle L. terhadap bakteri uji. *skripsi*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Pramesti, R. A. 2023. Gambaran tingkat pengetahuan dan sikap mahasiswa kedokteran Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta angkatan

2016 terhadap penggunaan tabir surya. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

- Pravita, C. S., & Dhurhania, C. E. 2023. Penetapan kadar flavonoid total perasan lemon (*Citrus limon* (L.) osbeck) secara spektrofotometri UV-Vis. *Health Sciences and Pharmacy Journal*, 7(1), 44–53. <https://doi.org/10.32504/hspj.v7i1.653>
- Puspitasari, A. D., & Proyogo, L. S. 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Cendekia Eksakta*, 2(1).
- Rahman, H. F., Widoyo, S., Siswanto, H., & Biantoro, B. 2016. Faktor Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Diare Di Desa Solor Kecamatan Cerme Bondowoso. *NurseLine Journal*, 1(1), 24–35.
- Reppi, N. B., Mambo, C. & Wuisan, J. 2016 . Uji efek antibakteri ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal e-Biomedik*, 4(1).
- Rivai H., Heriadi A., & Fadhilah H. 2017. Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Salam (*Syzigium Polyanthum* (WIGHT) WALP.). *J Farm Higea*. 2017;7(1).
- Rizqi Dwi Ratna, Y., Sita Ardani, U., Fathiana, Z., Rahmatillah, A., & Trisharyanti, K. I. D. 2015. Daya antibakteri ekstrak dan fraksi-fraksi daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sensitif dan multiresisten. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 1(1), 103–110.
- Rosidah, Afizia W. 2012. Potensi ekstrak daun jambu biji sebagai antibakterial untuk menanggulangi serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan gurame (*Osphronemus gouramy lacepede*). *Jurnal akuatika*. 3(1) : 24–30.
- Rosmania dan Fitri Y. 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. 22(2):76-86.
- Rosyada, M. 2023. *Manajemen Operasi*. Pekalongan, Jawa Tengah: Penerbit NEM.
- Saputera, M. M. A., Niah, R., Rini, P. P., & Soraya, A. 2019. Kesesuaian penyimpanan obat high alert di instalasi farmasi RSD Idaman Banjarbaru. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(2), 205–211.

- Sari, D. P. 2005. Uji Daya Antibakteri Fraksi N-Heksan dan Fraksi Air Sisa Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Identifikasi Senyawa Aktif.
- Sari, F.P., & S. M. Sari. 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida Linn*) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. *Technical Report*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Shabhati, B., & Adi, A. C. 2023. Hubungan Konsumsi Makanan Jajanan dengan Kejadian Diare pada Anak Sekolah di Surabaya The Correlation between Snack Consumption and Diarrhea Incidences in Elementary School Students in Surabaya. *Media Gizi Kesmas*, 03, 713–718.
- Siahaan, S. D. M. 2020. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada air bak penampungan air umum terbuka. *Karya Tulis Ilmiah*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan.
- Sudirman, T.A. 2014. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Skripsi*. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin.
- Sugiyono. 2016. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D*. Bandung: PT Alfabet.
- Utami, E. R. (2017). Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Jurnal Farmasi*, 1(4), 191.
- Valentina., & Sinaga, W. A. 2021. Pelaksanaan Penyimpanan Rekam Medis Berdasarkan Unsur Manajemen 5M di Puskesmas Medan Johor. *Jurnal Ilmiah Perkam Dan Informasi Kesehatan Imelda*, 6 (2), 152–160.
- Wardaniati, I., & Gusmawarni, V. 2021. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol propolis terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Farmasi Higea*, 13(2), 115–123.
- Wayan, U. N. 2020. Hygiene Sanitation and Food Bacteriology Quality of School Canteen In Elementary School In Work Areas Puskesmas II Denpasar Timur. *HIGIENE: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 6(2), 108–112. <https://doi.org/https://journal.uinalauddin.ac.id/index.php/higiene/article/view/10272>

- Wayne, P. A. 2012. *CLSI document M02-A11: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard—Eleventh edition*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Widayanti, I. D., & Maryati, M. 2023. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dan Daun Matoa (*Pometia pinnata* JR Forst & G. Forst) Terhadap bakteri *Shigella sonnei* Dan *Bacillus cereus*. *Usadha Journal of Pharmacy*, 178-188.
- Wijanarko, A., Perawati, S., & Andriani, L. 2020. Standardisasi simplisia daun ciplukan. *Jurnal Farmasetis*, 9(1), 31– 40.
- Wilapangga, A., & Syaputra, S. 2018. Analisis Antibakteri Metode Agar Cakram Dan Uji Toksisitas Menggunakan Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2), 50-56.
- Winastri, N. L. A. P., Muliastri, H., & Hidayati, E. 2020. Aktivitas Antibakteri Air Perasan dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis corriucalte* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Berita Biologi*. 19(2).
- Yanti, S., & Vera, Y. 2019. Skrining fitokimia ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia*, 4(2), 41–46.
- Yanuhar, U. 2019. *Budi Daya Ikan Laut “Si Cantik Kerapu”*. Cetakan Pertama. Penerbit: UB Press. Malang.
- Wayan, U. N. 2020. Hygiene Sanitation and Food Bacteriology Quality of School Canteen In Elementary School In Work Areas Puskesmas II Denpasar Timur. *HIGIENE: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 6(2), 108–112. <https://doi.org/https://journal.uinalauddin.ac.id/index.php/higiene/article/view/10272>
- Wilapangga, A., & Syaputra, S. 2018. Analisis Antibakteri Metode Agar Cakram Dan Uji Toksisitas Menggunakan Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2), 50-56.
- Wijanarko, A., Perawati, S., & Andriani, L. 2020. Standardisasi simplisia daun ciplukan. *Jurnal Farmasetis*, 9(1), 31– 40.

Winastri, N. L. A. P., Muliastri, H., & Hidayati, E. 2020. Aktivitas Antibakteri Air Perasan dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis corriucalte* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Berita Biologi*. 19(2).

Valentina, & Sinaga, W. A. 2021. Pelaksanaan Penyimpanan Rekam Medis Berdasarkan Unsur Manajemen 5M di Puskesmas Medan Johor. *Jurnal Ilmiah Perekam Dan Informasi Kesehatan Imelda*, 6(2), 152–160.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA**
Jl. Pasadras No.21 Telp.(0541) 748335, Fax.(0541) 748335
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

**FORMULIR IJIN
PENGGUNAAN LABORATORIUM**

FORM 1

Kepada
Yth. Kepala Laboratorium
Stikes Dirgahayu Samarinda

Dengan hormat,
Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Yaris Romba Layuk
Nomer Mahasiswa : 21114K201166
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*

memohon ijin untuk menggunakan fasilitas laboratorium fitokimia dan laboratorium mikrobiologi di lingkungan Stikes Dirgahayu Samarinda dengan mematuhi peraturan yang berlaku. Adapun alat dan bahan yang akan saya gunakan terlampir.

Demikian permohonan saya, atas terkabulnya permohonan ini saya sampaikan terima kasih.

Samarinda, 23 April 2024

Mengetahui, Pembimbing I  Apt.Muh. Taufiqurrahman M.farm	Mengetahui, Pembimbing II  Nurillahi Febria Leswana, M.Sc.	Hormat saya, Peneliti  Yaris Romba Layuk
---	---	---


Menyerahul,
Kepala Laboratorium

Yessia Lira, S., M.Kes

Terbaca di:
- Laboran yang bersangkutan

Lampiran 2. Surat Keterangan Hasil Determinasi Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

 KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN FAKULTAS KEHUTANAN DAN LINGKUNGAN TROPIS
LABORATORIUM Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis
Alamat: kampus Urmul Gunung Kelua, Jl. Panajene Gd. B11 LL1 Samarinda 75123
Telp./Fax (0541) 7273726, Email: lab.ekobio@fahutan.unmul.ac.id

Samarinda, 11 Agustus 2025

Nomor : 198/UN17.4.08/LL/2025
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk/Ibu/Sdr(i). Yuris Romba Layuk (211148201166)
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

di-
Tempat

Dengan Hormat,
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Phylum : Streptophyta
Class : Equisetopsida
Order : Myrtales
Family : Myrtaceae
Species : *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.
Synonyms : *Eugenia polyantha* Wight., *Eugenia atropunctata* C.B.Rob., *Eugenia holmanii* Elmer, *Eugenia junghuhniana* Miq., *Eugenia lambii* Elmer
Common name : Daun Salam

Demikian, semoga berguna bagi saudara

Tembusan:
Arsip



Prof. Dr. Ir. Paulus Matius, M.Sc
NIP.195504111984031001

Lampiran 3. Proses Pengentalan Dan Hasil Ekstrak Etanol Daun Salam



Lampiran 4. Fraksinasi N-heksan



Lampiran 5. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi N-heksan Daun Salam



Flavonoid



Tanin



Alkaloid



Saponin

Lampiran 6. Pengujian Aktivitas Antibakteri



Sterilisasi alat



Peremajaan bakteri



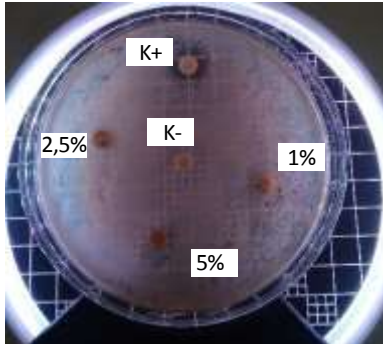
Variasi konsentrasi fraksi n-heksan



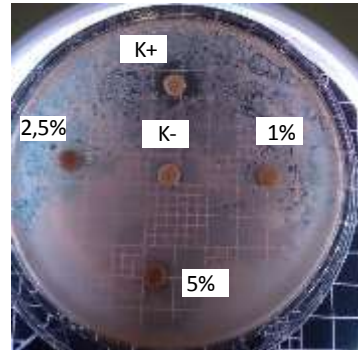
peletakan kertas cakram
diatas permukaan media

Bacillus subtilis

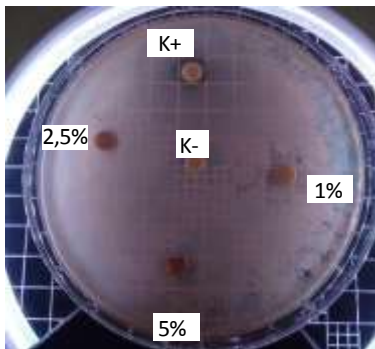
Replikasi 1



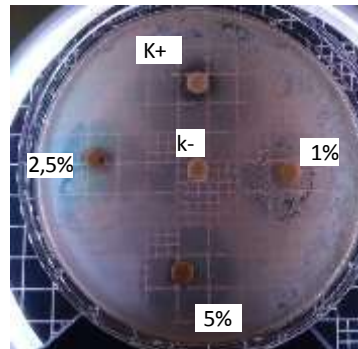
Replikasi 2



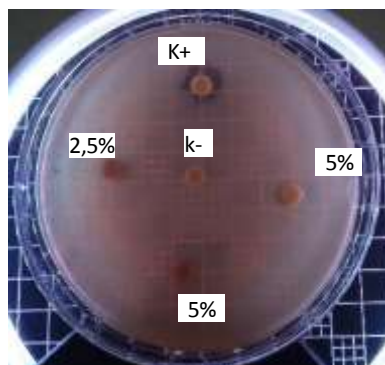
Replikasi 3



Replikasi 4

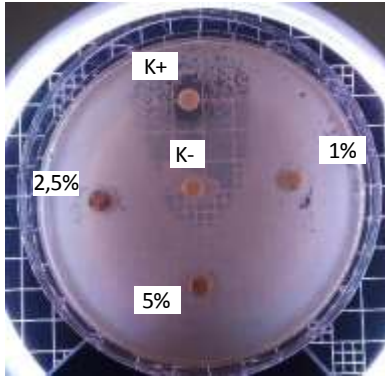


Replikasi 5

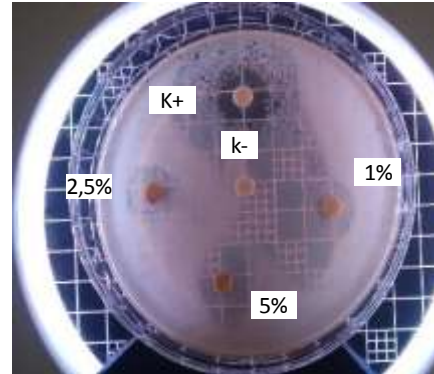


Escherichia coli

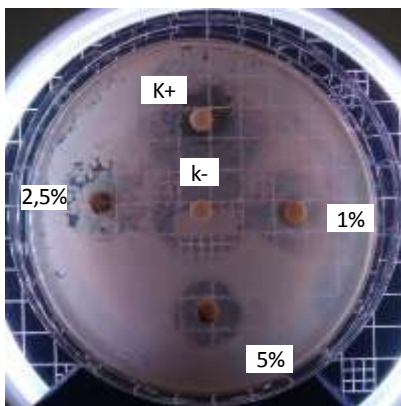
Replikasi 1



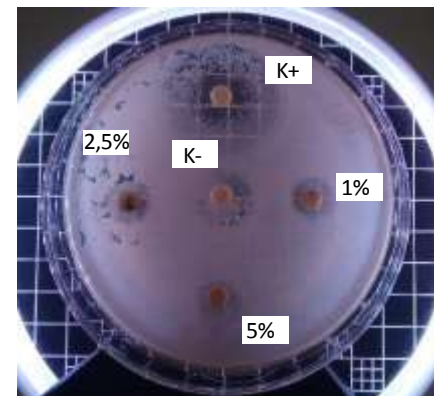
Replikasi 2



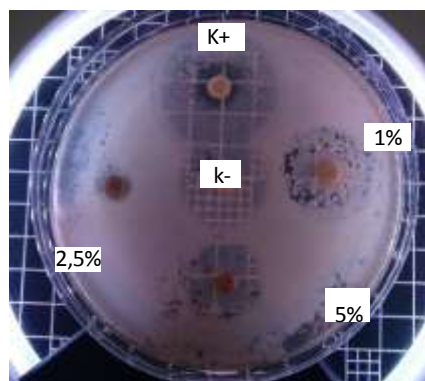
Replikasi 3



Replikasi 4



Replikasi 5



Lampiran 7. Perhitungan Rendemen Dan Diameter Zona Hambat

1. Perhitungan rendemen ekstrak

Bobot ekstrak : 94,32 gr

Bobot simplisia : 500 gr

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot simplisia (g)}} \times 100\% = \frac{94,36 \text{ gr}}{500 \text{ gr}} \times 100\% = 18,846 \%$$

2. Perhitungan rendemen hasil fraksi n-heksan ekstrak daun salam

Bobot fraksi : 1,08 gr

Bobot ekstrak : 30 gr

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% = \frac{1,08 \text{ gr}}{30 \text{ gr}} \times 100\% = 3,6 \%$$

3. Perhitungan diameter zona Hambat

A. *Bacillus subtilis*

$$\text{Kontrol positif : } \frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(21,5-6) + (22,3-6)}{2} = 15,9 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(11,6-6) + (12,4-6)}{2} = 6 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(25,2-6) + (23,9-6)}{2} = 18,5 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(26,7-6) + (24,8-6)}{2} = 19,4 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(20,4-6) + (19,2-6)}{2} = 13,8 \text{ mm}$$

$$\text{Konsentrasi 1 \% : } \frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(10,3-6) + (10,2-6)}{2} = 4,25 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(11,4-6) + (12,3-6)}{2} = 5,58 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(12,8-6) + (13,2-6)}{2} = 7 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(14,5-6) + (12,9-6)}{2} = 7,7 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(13,7-6) + (10,8-6)}{2} = 6,25 \text{ mm}$$

$$\text{Konsentrasi 2,5 \% : } \frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(10,5-6) + (12,3-6)}{2} = 5,4 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(12,1-6) + (10,6-6)}{2} = 5,35 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(6,9-6) + (6,7-6)}{2} = 0,8 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(15,7-6) + (13,8-6)}{2} = 8,75 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(10,2-6) + (7,8-6)}{2} = 3 \text{ mm}$$

Konsentrasi 5 % : $\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(15,3-6) + (14,4-6)}{2} = 8,8 \text{ mm}$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(23,6-6) + (24,1-6)}{2} = 17,8 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(11,2-6) + (10,9-6)}{2} = 5 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(20,5-6) + (22,2-6)}{2} = 15,3 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(23,0-6) + (21,4-6)}{2} = 16,2 \text{ mm}$$

B. *Escherichia coli*

Kontrol positif : $\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(27,6-6) + (25,2-6)}{2} = 20,4 \text{ mm}$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(29,6-6) + (21,5-6)}{2} = 22,5 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(28,2-6) + (26,1-6)}{2} = 21,1 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(26,9-6) + (28,7-6)}{2} = 21,8 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(21,7-6) + (22,5-6)}{2} = 21,2 \text{ mm}$$

Konsentrasi 1 % : $\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(6,7-6) + (6,2-6)}{2} = 0,45 \text{ mm}$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(13,6-6) + (15,4-6)}{2} = 8,5 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(15,3-6) + (17,9-6)}{2} = 10,6 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(12,3-6) + (12,8-6)}{2} = 6,55 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(18,2-6) + (18,5-6)}{2} = 12,3 \text{ mm}$$

Konsentrasi 2,5 % : $\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(8,4-6) + (7,3-6)}{2} = 1,8 \text{ mm}$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(14,3-6) + (13,6-6)}{2} = 7,9 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(17,8-6) + (18,4-6)}{2} = 12,1 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(13,3-6) + (14,1-6)}{2} = 4,45 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(6,9-6) + (6,5-6)}{2} = 0,7 \text{ mm}$$

$$\text{Konsentrasi 5 \% : } \frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(10,8-6) + (10,3-6)}{2} = 4,55 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(20,6-6) + (27,3-6)}{2} = 17,95 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(16,4-6) + (18,2-6)}{2} = 11,3 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(12,3-6) + (12,5-6)}{2} = 6,4 \text{ mm}$$

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2} = \frac{(21,7-6) + (22,8-6)}{2} = 16,25 \text{ mm}$$

Lampiran 8. Hasil Analisis Data Statistik *Bacillus subtilis*

1. Hasil uji normalitas

Tests of Normality							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameterzonahambat	1%	.137	5	.200*	.983	5	.948
	2,5%	.219	5	.200*	.935	5	.628
	5%	.288	5	.200*	.887	5	.341
	k.Positif	.232	5	.200*	.881	5	.313
	k.Negatif	.	5	.	.	5	.

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameterzonahambat	Based on Mean	5.995	4	20	.002
	Based on Median	2.103	4	20	.118
	Based on Median and with adjusted df	2.103	4	9.265	.161
	Based on trimmed mean	5.594	4	20	.003

3. Uji One Way ANOVA

ANOVA					
Diameterzonahambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	687.402	4	171.851	13.102	.000
Within Groups	262.321	20	13.116		
Total	949.723	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameterzonahambat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference			95% Confidence Interval	
		(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
1%	2,5%	.05600	2.29051	1.000	-6.7980	6.9100
	5%	-6.46400	2.29051	.070	-13.3180	.3900
	k.Positif	-8.56400*	2.29051	.010	-15.4180	-1.7100
	k.Negatif	6.15600	2.29051	.092	-.6980	13.0100
2,5%	1%	-.05600	2.29051	1.000	-6.9100	6.7980
	5%	-6.52000	2.29051	.067	-13.3740	.3340
	k.Positif	-8.62000*	2.29051	.010	-15.4740	-1.7660
	k.Negatif	6.10000	2.29051	.096	-.7540	12.9540
5%	1%	6.46400	2.29051	.070	-.3900	13.3180
	2,5%	6.52000	2.29051	.067	-.3340	13.3740
	k.Positif	-2.10000	2.29051	.887	-8.9540	4.7540
	k.Negatif	12.62000*	2.29051	.000	5.7660	19.4740
k.Positif	1%	8.56400*	2.29051	.010	1.7100	15.4180
	2,5%	8.62000*	2.29051	.010	1.7660	15.4740
	5%	2.10000	2.29051	.887	-4.7540	8.9540
	k.Negatif	14.72000*	2.29051	.000	7.8660	21.5740
k.Negatif	1%	-6.15600	2.29051	.092	-13.0100	.6980
	2,5%	-6.10000	2.29051	.096	-12.9540	.7540
	5%	-12.62000*	2.29051	.000	-19.4740	-5.7660
	k.Positif	-14.72000*	2.29051	.000	-21.5740	-7.8660

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 9. Hasil Analisis Data Statistik *Escherichia coli*

1. Uji normalitas

	Tests of Normality						
	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameterzonahambat	1%	.203	5	.200*	.932	5	.611
	2,5%	.173	5	.200*	.987	5	.967
	5%	.201	5	.200*	.921	5	.534
	K.Positif	.200	5	.200*	.979	5	.931
	K.Negatif	.	5	.	.	5	.

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameterzonahambat	Based on Mean	4.772	4	20	.007
	Based on Median	4.074	4	20	.014
	Based on Median and with adjusted df	4.074	4	11.844	.026
	Based on trimmed mean	4.699	4	20	.008

3. Uji One Way ANOVA

ANOVA

Diameterzonahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1232.265	4	308.066	21.646	.000
Within Groups	284.640	20	14.232		
Total	1516.905	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameterzonahambat

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)			95% Confidence Interval	
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
1%	2,5%	1.03000	2.38596	.992	-6.1097	8.1697
	5%	-3.61000	2.38596	.566	-10.7497	3.5297
	K.Positif	-13.72000*	2.38596	.000	-20.8597	-6.5803
	K.Negatif	7.68000*	2.38596	.031	.5403	14.8197
2,5%	1%	-1.03000	2.38596	.992	-8.1697	6.1097
	5%	-4.64000	2.38596	.327	-11.7797	2.4997
	K.Positif	-14.75000*	2.38596	.000	-21.8897	-7.6103
	K.Negatif	6.65000	2.38596	.076	-.4897	13.7897
5%	1%	3.61000	2.38596	.566	-3.5297	10.7497
	2,5%	4.64000	2.38596	.327	-2.4997	11.7797
	K.Positif	-10.11000*	2.38596	.003	-17.2497	-2.9703
	K.Negatif	11.29000*	2.38596	.001	4.1503	18.4297
K.Positif	1%	13.72000*	2.38596	.000	6.5803	20.8597
	2,5%	14.75000*	2.38596	.000	7.6103	21.8897
	5%	10.11000*	2.38596	.003	2.9703	17.2497
	K.Negatif	21.40000*	2.38596	.000	14.2603	28.5397
K.Negatif	1%	-7.68000*	2.38596	.031	-14.8197	-.5403
	2,5%	-6.65000	2.38596	.076	-13.7897	.4897
	5%	-11.29000*	2.38596	.001	-18.4297	-4.1503
	K.Positif	-21.40000*	2.38596	.000	-28.5397	-14.2603

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 10. Sertifikat Bakteri

ThermoFisher
SCIENTIFIC
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6730
800.447.5761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis - Certified Reference Material

Thermo Scientific™ Trademark™
Product Number R4601221
Product Name B. spizizenii ATCC 6633 PK/5
Lot Number 157507
Usage Decision Accepted (OK)
Expiration Date 2026-02-12

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. The results were derived from a representative sample of the batch and were obtained at the time of release. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use, hazard/safety requirements, and storage conditions.

Product Char Results

Purity	Demonstrates pure growth on applicable media
Viability	Recovered at acceptable level within test period
Passage	3 (Current preserved state)

Microbiological Testing	Results	Specification
>85% Identification on Vitek 2C BCL	100	85 - 100
>95% Identification on MicroSEQ	Pass	95 - 100
Microscopic Features	Pass	

These tests are performed in accordance with ISO 17025 guidelines. Thermo Fisher Scientific has determined each loop of this reference material to be sufficiently homogeneous for its intended use. Individual products are traceable to a recognized culture collection. Although the Vitek(TM) panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

ThermoFisher
SCIENTIFIC
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6730
800.447.5761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis - Certified Reference Material

Thermo Scientific™ Trademark™
Product Number R4607050
Product Name E. coli ATCC 25922 PK/5
Lot Number 180884
Usage Decision Accepted (OK)
Expiration Date 2026-03-19

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. The results were derived from a representative sample of the batch and were obtained at the time of release. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use, hazard/safety requirements, and storage conditions.


Product Char Results

Purity	Demonstrates pure growth on applicable media
Viability	Recovered at acceptable level within test period
Passage	3 (Current preserved state)

Microbiological testing	Results	Specification
>95% Identification on MicroSEQ	100	95 - 100
Microscopic Features	Pass	
>85% Identification on API 20E	Pass	
>85% Identification on Rapid ONE	Pass	

These tests are performed in accordance with ISO 17025 guidelines. Thermo Fisher Scientific has determined each loop of this reference material to be sufficiently homogeneous for its intended use. Individual products are traceable to a recognized culture collection. Although the Vitek(TM) panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Signed



Dawn Baker
QA Manager

The identity, purity, and authenticity of the Licensed Derivative are exclusively the responsibility of Remel Inc. and not ATCC.
The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Catalog Mark, and the ATCC Catalog Marks are trademarks of ATCC.
Remel Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® culture.

ATCC Licensed
Derivative



Thermo Fisher Scientific is accredited by A2LA as a registered reference material producer, certificate number 6559.01 in accordance with ISO 17034[1].

[1] ISO 17034 First Edition 2016-11-01 General requirements for the competence of reference material producers

Version 1.0