

PERBEDAAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE REFLUKS DARI BEBERAPA JENIS PELARUT DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Yuliana Dewi Hastuti, Dewi Andini Kunti Mulangsri*

Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang

*Email: andini@unwahas.ac.id

INTISARI

Daun salam mengandung senyawa flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* penyebab diare. Metode ekstraksi panas dapat menyari lebih banyak senyawa dalam tanaman, terutama yang sifatnya stabil terhadap pemanasan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar flavonoid total dan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dari ekstrak daun salam yang disari secara refluks dengan beberapa jenis pelarut. Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 70%, etanol 96%, dan metanol. Penetapan kadar flavonoid total dengan metode spektrofotometri menggunakan pereaksi $AlCl_3$ pada λ_{max} 431,5 nm dengan *operating time* 30 menit. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram. Kloramfenikol sebagai kontrol positif dan dimetil sulfoksida sebagai kontrol negatif. Analisis data kadar flavonoid total dengan statistik *One Way Anova*, sedangkan aktivitas antibakteri dinyatakan dengan nilai diameter daerah hambat (DDH) dianalisis dengan *Two Way Anova* dilanjutkan Tukey. Kadar flavonoid total ekstrak daun salam dengan variasi pelarut (etanol 70%, etanol 96%, metanol) berturut-turut 6,089; 5,028; 4,052 mgQE/gram ekstrak. Ada perbedaan kadar flavonoid total ekstrak daun salam antar jenis pelarut dan yang tertinggi diperoleh pada pelarut etanol 70%. Jenis pelarut ekstraksi dan seri konsentrasi ekstrak daun salam menunjukkan adanya perbedaan dan nilai DDH tertinggi pada ekstrak dengan pelarut etanol 96%.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, daun salam (*Syzygium polyanthum*), flavonoid total, refluks

ABSTRACT

Bay leaves that it contains flavonoid compounds can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria causes diarrhea. Hot extraction method can extract more compounds in the plants, particularly are heat stable. This study aimed to determine the different of total flavonoid content and antibacterial activity against *Escherichia coli* from bay leaves extracts that extracted with some solvent by reflux. The bay leaves extract was extracted with 70% ethanol, 96% ethanol, and methanol solvent. The spectrophotometric method was used to determine of total flavonoid contents at λ_{max} 431,5 nm and operating time 30 minutes with $AlCl_3$ reagent. The disc diffusion method was used antibacterial activity test with chloramphenicol as a positive control and dimethyl sulfoxide as negative control. Analysis data of total flavonoid content with *One Way Anova* statistics, meanwhile the zone of inhibition from antibacterial activity test analysed by *Two Way Anova* continued with Tukey. The total flavonoid content of bay leaves extract (ethanol 70%, ethanol 96%, and methanol) were 6,089; 5,028; 4,052 mgQE/gram extract. There was significant difference of total flavonoid content between variation solvent and the most highest at 70% ethanol. Different extraction solvent and concentration serial of bay leaves extract showed significant difference and the most highest zone of inhibition at extract with 96% ethanol solvent.

Keywords: *antibacterial activity, bay leaf (Syzygium polyanthum), total flavonoid content, reflux*

Nama : Dewi Andini Kunti Mulangsri
Institusi : Universitas Wahid Hasyim
Alamat institusi : Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang
E-mail : andini@unwahas.ac.id

PENDAHULUAN

Diare dan disentri merupakan penyakit pada saluran pencernaan yang dapat disebabkan oleh spesies *Escherichia coli* patotipe tertentu (Kaper dkk., 2004). Ekstrak etanol daun salam menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* yang dilakukan dengan metode difusi cakram dengan nilai diameter daerah hambat 7,6-11,0 mm dan nilai konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal pada konsentrasi 200 mg/mL dan 500 mg/mL (Nurrurahmah, 2011 dan Mursyida dkk., 2021).

Jenis pelarut merupakan faktor yang dapat mempengaruhi kadar dan aktivitas suatu senyawa tanaman. Penelitian Islamiyati dan Saputri (2018) melaporkan bahwa ekstrak daun salam yang diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70% dan etanol 96%, menghasilkan kadar flavonoid total masing-masing sebesar 350 ppm dan 250 ppm. Penelitian lainnya melaporkan bahwa ekstrak metanol daun salam dari hasil maserasi memiliki kadar flavonoid total sebesar 576 mgQE/gram (Ruchiyat, 2013). Hal tersebut menunjukkan bahwa jenis pelarut untuk ekstraksi dapat memberikan perbedaan hasil kadar flavonoid totalnya.

Perbedaan jenis pelarut yang digunakan untuk ekstraksi suatu tanaman juga dapat berpengaruh terhadap aktivitas farmakologis ekstrak tanaman tersebut. Hal ini ditunjukkan pada penelitian dari dua peneliti yang berbeda yaitu Saputri (2019), membuktikan bahwa ekstrak daun salam dengan pelarut etanol 96% yang diperoleh secara maserasi pada konsentrasi 100% menunjukkan diameter daerah hambat paling besar terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu 16,5 mm, sedangkan Trisnawati dkk. (2020), membuktikan ekstrak metanol daun salam yang diperoleh secara maserasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan nilai konsentrasi hambat minimal sebesar 1-2%. Bakteri *E. coli* dan *S. typhi* adalah tipe bakteri Gram negatif.

Penggunaan suatu metode ekstraksi dapat mempengaruhi hasil penyarian termasuk jumlah senyawa-senyawa yang berhasil disari. Se jauh penelusuran pustaka yang dilakukan, metode ekstraksi daun salam dilakukan secara dingin diantaranya maserasi, kemudian diuji aktivitas antibakterinya. Namun laporan mengenai metode ekstraksi daun salam dengan cara panas belum ditemukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini memilih metode panas yaitu refluks dengan variasi pelarut untuk melihat adanya perbedaan kadar flavonoid total dan aktivitas antibakterinya.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan berupa daun salam (*Syzygium polyanthum*), pelarut etanol 70% teknis, pelarut etanol 96% teknis, pelarut metanol teknis, kuersetin, etanol p.a, AlCl_3 10%, CH_3COONa 1 M, bakteri murni *Escherichia coli* (Laboratorium Unimus), antibiotik kloramfenikol 30 $\mu\text{g}/\text{disk}$ (Oxoid), media *nutrient agar* (NA) (Merck), media *nutrient broth* (NB) (Merck), NaCl 0,9%, larutan 0,5 *Mc. Farland*, dimetilsulfoksida (DMSO) (Oxoid).

Peralatan yang digunakan terdiri dari timbangan simplisia (Henherr), timbangan analitik (Ohaus), almari pengering, alat penyerbuk, *moisture balance* (Ohaus), seperangkat alat refluks, penguap vakum putar (Heidolph), peralatan gelas (Iwaki dan Pyrex), mikropipet (Socorex), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), *magnetic stirrer* (Silogex), *Laminar Air Flow* (LAF) (Airtech), inkubator (Binder), autoklaf (All American), jangka sorong (Mitutoyo).

Jalannya Penelitian

Pembuatan serbuk daun salam

Daun salam disortasi dan hasil sortasi ini harus dihilangkan kotorannya dengan cara mencucinya menggunakan air mengalir. Hasil pencucian ini ditiriskan dengan teknik diangin-anginkan. Proses pengeringan dengan alamari pengering suhu 50°C sampai kering. Bahan yang telah kering ditandai dengan mudahnya untuk diremas dengan tangan sampai hancur. Simplisia kering yang didapat kemudian disortasi. Simplisia kering ditimbang dan dibuat serbuk. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah toples kaca di tempat yang kering dengan penambahan silika gel, dan tidak terkena sinar matahari.

Pembuatan ekstrak daun salam

Metode refluks menggunakan pelarut etanol (70% dan 96%) dan metanol dengan bobot serbuk daun salam sebanyak 25 gram. Labu alas bulat yang telah terisi serbuk kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 250 ml dan dipanaskan pada suhu sekitar 78°C pada etanol dan 64°C pada metanol. Proses refluks dilakukan selama dua jam dengan pengulangan 3 kali. Tiap proses penggantian pelarut selalu disaring dan filtratnya ditampung terlebih dahulu. Penguap vakum putar yang digunakan untuk memekatkan filtrate yang diperoleh hingga menjadi ekstrak kental. Cara kerja tersebut berlaku untuk masing-masing pelarut.

Penetapan kadar flavonoid total

a. Pembuatan larutan induk kuersetin

Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas, dan dihomogenkan, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

b. Pembuatan seri konsentrasi larutan baku kuersetin

Seri konsentrasi larutan baku kuersetin dibuat dari larutan induk hingga diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, 12 ppm dalam 5 mL etanol p.a.

c. Pembuatan larutan uji

Ekstrak kental daun salam ditimbang 1 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambah etanol p.a sebanyak 25 ml. Larutan ekstrak diaduk selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan 500 rpm dan disaring hingga menghasilkan filtrat. Hasil yang diperoleh ditambah etanol p.a hingga 25 mL. Cara kerja ini berlaku untuk tiga jenis pelarut (etanol 70%, etanol 96%, dan metanol) dan dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

d. Penentuan panjang gelombang maksimal

Seri konsentrasi 6 ppm diambil sebanyak 1000 μL ditambahkan 200 μL AlCl_3 10%, 200 μL Natrium asetat dalam labu ukur 5 mL dan ditambah etanol p.a hingga tanda batas. Dilakukan scanning pada spektrofotometer Uv-Vis dengan kisaran panjang gelombang 400-500 nm. Panjang gelombang yang menghasilkan serapan maksimal ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimal kuersetin.

e. Penentuan *operating time*

Seri konsentrasi 6 ppm diambil sebanyak 1000 μL ditambahkan 200 μL AlCl_3 10%, 200 μL Natrium asetat dalam labu ukur 5 mL dan ditambah etanol p.a hingga tanda batas. Absorbansi dibaca pada spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 431,5 nm. Waktu pengukuran yang menunjukkan hasil absorbansi tetap stabil ditetapkan sebagai waktu operasi metode analisis kuersetin secara spektrofotometri.

f. Penetapan kurva baku kuersetin

Seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm diambil sebanyak 1000 μL dimasukkan dalam labu takar 5 mL, masing-masing ditambah 200 μL AlCl_3 10%, 200 μL Natrium asetat dan ditambah etanol p.a hingga tanda batas. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 431,5 nm dan *operating time* 30 menit. Penetapan kurva baku dilakukan replikasi tiga kali.

g. Penetapan kadar flavonoid total

Larutan ekstrak daun salam konsentrasi 40.000 ppm diencerkan sebanyak 5x hingga konsentrasinya menjadi 8000 ppm. Larutan ekstrak daun salam konsentrasi 8000 ppm diambil sebanyak 1000 μ L ditambahkan dengan pereaksi $AlCl_3$ 10 % sebanyak 200 μ L, Natrium asetat sebanyak 200 μ L dan etanol p.a ad 5 mL. Kemudian serapan diukur menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 431,5 nm dan *operating time* 30 menit.

Uji aktivitas antibakteri

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan terlebih dahulu dengan alat autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Suspensi bakteri *E.coli* diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai didapat kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. Farland. Media uji dibaut dengan mengambil 100 μ L suspense bakteri uji dan dicampur dengan 25 mL media NA pada cawan petri dan dihomogenkan ditunggu hingga memadat.

Masing-masing ekstrak daun salam dengan konsentrasi larutan uji yang berbeda (6000; 5500; 5000; 4500; 4000 mg/disk) dan larutan DMSO 10% diambil sebanyak 10 μ L dan ditetaskan pada kertas cakram. Masing-masing perlakuan didiamkan selama 10 menit sampai jenuh, kemudian diaplikasikan pada media dalam cawan petri. Kertas cakram antibiotik kloramfenikol diaplikasikan langsung pada media. Tahap selanjutnya adalah menginkubasi semua cawan petri tersebut pada suhu 37°C selama 24 jam.

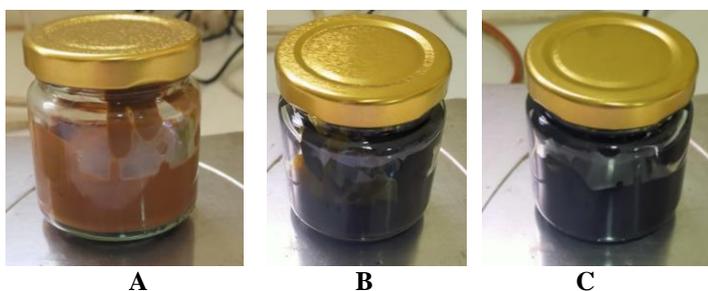
Analisis Data

Kadar flavonoid total ekstrak daun salam dengan variasi pelarut dianalisis menggunakan *One Way Anova* pada taraf kepercayaan 95% dilanjutkan uji *Tukey*. Zona bening di sekitar kertas cakram diamati dan diukur diameter daerah hambatnya (DDH) menggunakan jangka sorong (Sumiarsih, 2018 dan Oroh dkk, 2015). Analisis data pada uji aktivitas antibakteri dilakukan uji parametrik *Two Way Anova* dilanjutkan *Tukey* ($P < 0,05$) (Santoso, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun salam diperoleh dari beberapa tumbuhan salam yang hidup dalam satu wilayah guna untuk menghindari variasi kandungan senyawa dalam tanaman akibat kondisi lingkungan yang berbeda. Rendemen ekstrak daun salam yang dihasilkan dari beberapa jenis pelarut yaitu etanol 96%, etanol 70%, dan metanol secara berturut-turut yaitu 26%; 59,2%; dan 26,4%.

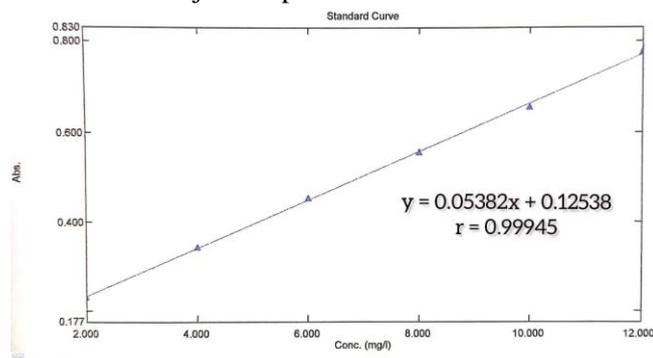
Perbedaan rendemen ekstrak yang dihasilkan dari metode refluks diduga bahwa jenis dan jumlah senyawa yang berhasil tersari berbeda tergantung pada masing-masing pelarut yang digunakan. Berdasarkan Lutria dkk., (2017) melaporkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari pelarut etanol 70% banyak mengandung senyawa gula (glikosida) sehingga pada saat penguapan menghasilkan ekstrak lebih berwarna coklat pekat, hal ini ditunjukkan pada ekstrak etanol 70% daun salam sedangkan ekstrak etanol 96% dan metanol daun salam memiliki warna ekstrak hijau kehitaman. Profil warna ekstrak ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tampilan warna ekstrak daun salam dengan pelarut ekstraksi : etanol 70% (A), metanol (B) dan etanol 96% (C)

Kadar Flavonoid Total

Panjang gelombang maksimum kuersetin yang diperoleh adalah 431,5 nm. Nilai absorbansi yang stabil terjadi pada menit ke-30, sehingga waktu tersebut digunakan sebagai waktu operasi. Hasil reaksi yang stabil antara kuersetin-AlCl₃ ditunjukkan dengan tidak adanya penurunan absorbansi. Pada hasil penetapan kurva baku kuersetin nilai r pada replikasi 1 yang dipilih karena paling mendekati 1 yaitu 0,9945, sehingga persamaan regresi linier yang diperoleh yaitu $y = 0,05382x + 0,12538$. Grafik hubungan antara deret konsentrasi baku kuersetin dan absorbansi senyawa kompleks Kuersetin-AlCl₃ ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik hubungan antara konsentrasi baku kuersetin dan absorbansi senyawa kompleks Kuersetin-AlCl₃

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl₃. Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun dalam dengan berbagai jenis pelarut dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Kadar flavonoid total ekstrak daun salam dengan beberapa pelarut

Pelarut	Absorbansi	Pengenceran (f)	Kadar Flavonoid Total (mgQE/gram)	Rata-rata±SD
Etanol 70%	0,650	25x	6,093	6,089* ± 0,017
	0,648		6,069	
	0,651		6,104	
Etanol 96%	0,558	25x	5,024	5,028 ± 0,018
	0,560		5,047	
	0,557		5,013	
Metanol	0,475	25x	4,060	4,052 ± 0,024
	0,472		4,025	
	0,476		4,072	

Keterangan: * = kadar flavonoid total ekstrak daun salam berbeda bermakna terhadap kadar flavonoid total ekstrak daun salam dari pelarut lainnya

Hasil penetapan kadar flavonoid total dari berbagai ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki kadar flavonoid total lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% dan ekstrak metanol. Hasil ekstrak etanol 70% lebih besar diduga senyawa flavonoid pada daun salam memiliki kepolaran yang sama dengan pelarut etanol 70%. Berdasarkan hasil kadar flavonoid total yang telah dilakukan oleh peneliti bahwa ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun salam mengandung kadar flavonoid total sebesar 6,089 dan 5,028 mgQE/gram ekstrak. Pada penelitian lain oleh Islamiyati dan Saputri (2018), bahwa kadar flavonoid total ekstrak etanol 70%

daun salam yang diperoleh secara maserasi sebesar 0,35 mgQE/gram dan ekstrak etanol 96% daun salam sebesar 0,25 mgQE/gram. Hasil yang diperoleh lebih tinggi yang dilakukan oleh peneliti. Sehingga untuk mendapatkan kadar flavonoid total yang dianggap sebagai kuersetin lebih tinggi maka digunakan metode refluks pada pelarut etanol 70%.

Hasil kadar flavonoid total pada ekstrak metanol daun salam didapatkan sebesar 4,052 mgQE/gram. Hasil tersebut kurang optimal jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Oktavia (2011), bahwa kadar flavonoid total yang didapat dari hasil maserasi dengan metanol sebesar 0,0127 mgQE/mg ekstrak yang setara dengan 12,7 mgQE/g ekstrak. Jenis pelarut yang digunakan pada metode refluks jelas mempengaruhi jumlah flavonoid yang akan tersari. Hasil uji statistik pada penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun salam terdapat perbedaan bermakna antara kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 70% terhadap kadar flavonoid total ekstrak daun salam dari pelarut lainnya.

Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri diperoleh bahwa semua ekstrak daun salam menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram dan merupakan zona radikal. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Nilai DDH ekstrak daun salam terhadap bakteri *E.coli*

Perlakuan	Konsentrasi	DDH (mm)			
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata ± SD
EE 96% ^a	4000 µg/disk ^b	8,70	8,65	8,75	8,70 ± 0,05
	4500 µg/disk ^b	9,30	9,30	9,20	9,27 ± 0,05
	5000 µg/disk ^b	10,50	10,60	10,55	10,55 ± 0,05
	5500 µg/disk ^b	11,10	11,05	11,05	11,07 ± 0,03
	6000 µg/disk ^b	11,35	11,45	11,35	11,38 ± 0,05
EE 70%	4000 µg/disk ^b	8,45	8,35	8,40	8,40 ± 0,05
	4500 µg/disk ^b	9,35	9,35	9,30	9,33 ± 0,03
	5000 µg/disk ^b	10,25	10,20	10,15	10,20 ± 0,05
	5500 µg/disk ^b	10,55	10,50	10,45	10,50 ± 0,05
	6000 µg/disk ^b	11,05	11,05	11,00	11,03 ± 0,03
EM	4000 µg/disk ^b	8,20	8,20	8,25	8,22 ± 0,03
	4500 µg/disk ^b	9,30	9,25	9,35	9,30 ± 0,05
	5000 µg/disk ^b	10,55	10,50	10,55	10,53 ± 0,03
	5500 µg/disk ^b	10,65	10,60	10,65	10,63 ± 0,03
	6000 µg/disk ^b	10,75	10,75	10,70	10,73 ± 0,03
Kloramfenikol	30 µg/disk	25,35	25,33	25,35	25,34 ± 0,01
DMSO		0	0	0	0

Keterangan: ^a = nilai DDH berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan ekstrak dari pelarut lainnya

^b = nilai DDH berbeda bermakna ($p < 0,05$) antar seri konsentrasi ekstrak

Hasil *Two Way Anova* menunjukkan bahwa variasi pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi daun salam menghasilkan DDH yang berbeda ($p < 0,05$) yang artinya variasi pelarut ekstraksi menghasilkan perbedaan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil uji beda variasi pelarut ekstraksi terhadap nilai DDH menunjukkan nilai tidak signifikan ($p > 0,05$) yaitu antara pelarut etanol 70% dan metanol, sehingga dapat diartikan bahwa aktivitas antibakteri antara ekstrak etanol 70% dan ekstrak metanol setara atau sama.

Pelarut etanol 96% pada metode refluks untuk daun salam aktivitas antibakterinya lebih poten dibandingkan ekstrak etanol 70% dan metanol. Hal ini menunjukkan bahwa jenis pelarut akan memberikan hasil uji aktivitas antibakteri yang berbeda. Artinya walaupun kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 96% lebih kecil dibandingkan ekstrak etanol 70% dan lebih besar dibandingkan ekstrak metanol ternyata aktivitas antibakterinya lebih besar. Hal tersebut diduga kadar flavonoid total tidak berperan langsung terhadap aktivitas antibakteri karena masih terdapat senyawa-senyawa lain yang tersari oleh pelarut etanol 96% yang mungkin berperan terhadap aktivitas antibakteri dan belum dibuktikan dalam penelitian ini. Senyawa-senyawa yang dapat tersari oleh etanol 96% yaitu flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin memiliki aktivitas antibakteri (Saputri, 2019).

Pelarut etanol 70% dan metanol memberikan hasil aktivitas antibakteri yang setara dengan kadar yang berbeda untuk flavonoid total sebagai kuersetin yang berbeda. Walaupun ada perbedaan kadar flavonoid total, ternyata hal tersebut tidak berperan langsung terhadap aktivitas antibakteri akan menjadi lebih tinggi ketika kadar flavonoid total tinggi. Hal tersebut perlu diketahui bahwa uji aktivitas antibakteri itu berkaitan dengan senyawa aktif. Flavonoid diketahui mempunyai aktivitas antibakteri, namun ada senyawa-senyawa lain yang berperan terhadap aktivitas antibakteri dan tidak ikut tersari oleh pelarut etanol 70% dan metanol. Senyawa-senyawa yang dapat tersari oleh pelarut etanol 70% yaitu flavonoid dan tanin dengan menggunakan ekstraksi panas ultrasonik (Alwie dkk., 2021). Pada ekstrak metanol senyawa yang dapat tersari yaitu flavonoid dan steroid secara maserasi (Trisnawati dkk., 2020).

Pelczar dan Chan (1988), melaporkan bahwa konsentrasi ekstrak semakin tinggi maka hasil aktivitas antibakteri semakin besar. Dari hasil pengamatan pada Tabel II dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan menunjukkan adanya peningkatan nilai DDH, dan DDH tersebut berupa zona jernih. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka konsentrasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut akan menjadi semakin tinggi pula, sehingga lebih poten sebagai antibakteri. Secara signifikan nilai DDH kloramfenikol 30 $\mu\text{g/disk}$ lebih besar dibandingkan dengan ekstrak daun salam. Kloramfenikol merupakan antibiotik murni yang sudah terbukti memiliki efek, sedangkan ekstrak daun salam masih berupa ekstrak yang mengandung beberapa senyawa kimia.

Ekstrak etanol 96% daun salam pada konsentrasi 50% memberikan nilai DDH sebesar 10,55 mm. Dibandingkan dengan penelitian Saputri (2019), pada konsentrasi 50% nilai DDH yang didapat sebesar 7,5 mm dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut secara maserasi. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang tersari dalam ekstrak etanol 96% daun salam secara refluks lebih banyak dibandingkan dengan metode dingin maserasi.

Penelitian Haerussana dkk., (2021) menyebutkan bahwa ekstrak etanol 70% daun salam menghasilkan zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis* dengan konsentrasi 75% dan 100%. Pada penelitian ini ekstrak etanol 70% daun salam yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri berbeda konsentrasinya. Dengan demikian perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah pada seri konsentrasi yang digunakan selain metode ekstraksinya yang berbeda, juga jenis bakteri uji yang digunakan. Pada ekstrak metanol daun salam, hasil yang didapat pada penelitian ini sebesar 8,22 mm. Dibandingkan dengan penelitian Trisnawati dkk., (2020) pada konsentrasi terkecil yaitu 1% sudah memberikan nilai DDH sebesar 6,5 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Perbedaan tipe dinding sel bakteri

uji yang digunakan akan berpengaruh terhadap profil aktivitas antibakteri. Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Escherichia coli* merupakan tipe bakteri Gram negatif.

Hasil *Two Way Anova* menunjukkan bahwa seri konsentrasi memberikan perbedaan yang signifikan terhadap nilai DDH ($p < 0,05$) yang artinya variasi pelarut ekstraksi dan seri konsentrasi menghasilkan perbedaan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Analisis statistika uji beda seri konsentrasi terhadap nilai DDH menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) yang artinya bahwa tiap seri konsentrasi memberikan aktivitas antibakteri yang berbeda.

KESIMPULAN

Ekstrak daun salam yang diekstraksi dengan pelarut etanol 70%, etanol 96% dan metanol menghasilkan kadar flavonoid total berturut-turut sebesar 6,089; 5,028; dan 4,052 mgQE/gram ekstrak. Kadar flavonoid total ekstrak daun salam berbeda bermakna diantara variasi jenis pelarut ekstraksi dan kadar yang tertinggi diperoleh pada ekstrak dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak daun salam dengan semua jenis pelarut ekstraksi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Hasil statistic menunjukkan bahwa nilai DDH ekstrak daun salam berbeda bermakna terhadap variasi jenis pelarut dan seri konsentrasi ekstrak. Aktivitas antibakteri dengan nilai DDH tertinggi diperoleh pada ekstrak dengan pelarut etanol 96%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alwie, R.R., Mumpuni, E., Sulastri, L., dan Simanjuntak, P., 2021, Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] Walp.) dan Studi In Silico Senyawa Kimia Penghambat Enzim α -glukosidase, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 8(2), 36-42
- Fatmawati, E., 2011, Ekstrak Etanol Daun Salam dan Fraksinya sebagai Inhibitor Alfa-Amilase, *Skripsi*, Fakultas MIPA IPB, Bogor, 11
- Haerussana, A.N.E.M., Dwiastuti, W.P., dan Sukowati, C.A., 2021, Aktivitas Antibakteri Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Ekstrak Etanol 70% Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis*, *Jurnal Farmasi dan Kimia*, 5(4), 375-380
- Islamiyati, R., dan Saputri, I.N., 2018, Uji Perbedaan Aktivitas Antioksidan dengan Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol 70% dan 96% pada Ekstrak Etanol Daun Salam Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH, *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(2), 140
- Kaper J.B, Nataro J.P, dan Mobley H.L., 2004, Pathogenic *Escherichia coli*, *Nature*, 2: 123-138
- Lutria, D.L., Biswas, L., dan Natarajan, S., 2017, Perbandingan Pelarut Ekstraksi dan Teknik yang Digunakan Uji Isoflavon dari Kedelai, *Jurnal Kimia Makanan*, 105(1), 325-333
- Mursyida E., Almira R., Widiyari S., dan Misfa O., 2021, Antibacterial Activity of BayLeaf (*Syzygium polyanthum*) Ethanol Extract on *Escherichia coli* Growth, *Photon Jurnal Sains dan Kesehatan*, 12(1): 12.
- Nurrurahmah, 2011, Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] Walp.) dalam Menghambat Pertumbuhan *Escherichia coli*, *Skripsi*, UPT Perpustakaan Universitas Syiah Kuala.
- Oktavia J.D., 2011, Pengoptimumman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Analisis Sidik Jari dengan Kromatografi Lapis Tipis, *Skripsi*, Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Oroh, S.B., Kandou, F.E.F., Peleulu, J., dan Pandingan, D., 2015, Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol *Selaginella delicatula* dan *Diplazium dilatatum* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Ilmiah Sains*, 15(1), 54
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S., 1988, *Dasar-dasar mikrobiologi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 25-30
- Santoso, S., 2012, *Panduan Lengkap SPSS Versi 20*, PT Elex Media Komputindo Jakarta, 28-34

- Saputri, A.W., 2019, Uji Antimikroba Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*, *Jurnal Insan Cendekia*, 6(2), 70
- Trisnawati, E.E., Astuti, W., Kartika, R., 2020, Kemampuan Ekstrak Metanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, *Jurnal Atomik*, 5(1), 53-56