

**PROFIL SENYAWA BIOAKTIF ANTIBAKTERI DARI DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*) MENGGUNAKAN METODE KLT
BIOAUTOGRAFI DAN LC-MS/MS**

(Skripsi)

Oleh

**Pipit Dwi Haryani
2017011067**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

PROFIL SENYAWA BIOAKTIF ANTIBAKTERI DARI DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) MENGGUNAKAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI DAN LC-MS/MS

Oleh

Pipit Dwi Haryani

Meningkatnya kasus infeksi bakteri patogen yang resisten terhadap senyawa antibiotik menimbulkan kebutuhan mendesak untuk mencari alternatif senyawa aktif baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi profil senyawa bioaktif dari ekstrak daun salam (*S. polyanthum*) yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen resisten. Dalam penelitian ini bakteri resisten diperoleh dari Dinas Kesehatan Bandar Lampung dan sampel daun salam diperoleh dari Desa Candimas 2. Daun salam diekstrak menggunakan air mendidih sampai volume menyusut 60%. Komponen dalam ekstrak dianalisis menggunakan KLT, dan bioaktivitas dianalisis KLT bioautografi. Analisis selanjutnya untuk mengetahui komponen aktif yang teramati pada bioautografi menggunakan LC-MS/MS. Hasil penelitian diperoleh ekstrak daun salam fraksi butanol a2 memiliki aktivitas antibakteri melalui metode KLT bioautografi terhadap bakteri *S.aureus*. Hasil karakterisasi dengan LC-MS/MS diperoleh profil senyawa bioaktif dari ekstrak daun salam pada sampel a2 yaitu, *1-hydroxyanthraquinone*, *3- ethylamino-4-nitropyridine*, *1-Hexatriacontanamine*, *N-Octyl-N-tetradecyl-1-hexadecanamine*. Berdasarkan profil senyawa yang diperoleh dan potensi aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* sehingga dapat dikaji lebih lanjut sebagai bahan pengobatan alternatif.

Kata kunci: senyawa bioaktif, tanaman salam, antibakteri.

ABSTRACT

PROFILE OF ANTIBACTERIAL BIOACTIVE COMPOUNDS FROM BAY LEAF (*Syzygium polyanthum*) USING TLC BIOAUTOGRAPHY AND LC-MS/MS METHODS

By

Pipit Dwi Haryani

The increasing cases of pathogenic bacterial infections that are resistant to antibiotic compounds have created an urgent need to find alternative new active compounds. This study aims to evaluate the profile of bioactive compounds from bay leaf extract (*S. polyanthum*) which have antibacterial activity against resistant pathogenic bacteria. In this study, resistant bacteria were obtained from the Bandar Lampung Health Office and bay leaf samples were obtained from Candimas Village 2. Bay leaves were extracted using boiling water until the volume shrank by 60%. The components in the extract were analyzed using TLC, and bioactivity was analyzed by TLC bioautography. Further analysis to determine the active components observed in bioautography using LC-MS/MS. The results of the study showed that bay leaf extract with butanol a2 fraction had antibacterial activity through the TLC bioautography method against *S.aureus* bacteria. The results of characterization with LC-MS/MS obtained a profile of bioactive compounds from bay leaf extract in sample a2, namely, *1-hydroxyanthraquinone*, *3-ethylamino-4-nitropyridine*, *1-Hexatriacontanamine*, *N-Octyl-N-tetradecyl-1-hexadecanamine*. Based on the profile of the compounds obtained and the potential antibacterial activity against *S.aureus*, it can be studied further as an alternative medicine.

Keywords: bioactive compounds, bay leaf, antibacterial.

**PROFIL SENYAWA BIOAKTIF ANTIBAKTERI DARI DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*) MENGGUNAKAN METODE KLT
BIOAUTOGRAFI DAN LC-MS/MS**

Oleh

Pipit Dwi Haryani

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Penelitian : **PROFIL SENYAWA BIOAKTIF ANTI BAKTERI DARI DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) MENGGUNAKAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI DAN LC-MS/MS**

Nama Mahasiswa : **Pipit Dwi Haryani**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011067

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.
NIP. 195809221988111001

Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.
NIP. 197707132009122002

2. Ketua Jurusan Kimia

Dr. Mita Haryani, M. Si.
NIP. 197205302000032001

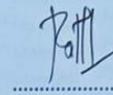
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

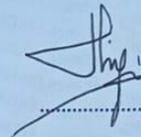
Ketua : Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.



Sekretaris : Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.



Penguji : Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 21 Januari 2025

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Pipit Dwi Haryani
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011067
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Profil Senyawa Bioaktif Antibakteri dari Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Menggunakan Metode KLT Bioautografi dan LC-MS/MS”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi

Bandar Lampung, 21 Januari 2025

Menyatakan,



Pipit Dwi Haryani
NPM. 2017011067

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Pipit Dwi Haryani, yang dilahirkan di Candimas, pada tanggal 14 April 2002. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Bapak Alm. Edi Imron Haryadi dan Ibu Sujinah. Penulis menempuh Pendidikan formal pertama kali di TK Kartika II-32 pada tahun 2007-2008, SD Negeri 1 Candimas pada tahun 2008-2014, MTs Raudlatul Jannah pada tahun 2014-2017, dan SMA Adzkia Islamic School pada tahun 2017-2020. Pada tahun 2020, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan sarjana penulis aktif mengikuti organisasi yang dimulai sejak menjadi anggota Kader Muda Himaki (KAMI) FMIPA Unila periode 2020, menjadi kader muda ROIS FMIPA unila periode 2021, menjadi anggota bidang Kajian dan Keumatan ROIS FMIPA Unila periode 2022. Sebagai bentuk aplikasi ilmu pengetahuan dan penerapan Tri Darma Perguruan Tinggi, penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) tematik pada tahun 2023 di Desa Tapak Siring 2, Kecamatan Sukau, Kabupaten Lampung Barat.

Pada Juni 2024, penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang berjudul “Skrining Antibakteri Ekstrak Air Tanaman Obat Lokal Daerah Lampung Selatan menggunakan Metoda KLT Bioautografi”, setelah itu penulis mulai mengerjakan tugas akhir sebagai salah satu syarat kelulusan sebagai sarjana sains.

MOTTO

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”

(Q.S. Al-Baqarah: 216)

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

(Q.S. Al-Insyirah: 5-6)

“Dialah yang menghidupkan dan mematikan, dan hanya kepada-Nya lah kamu akan dikembalikan.”

(Q.S. Yunus: 56)

“Cukuplah Allah menjadi penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik pelindung.”

(Q.S. Ali Imran: 173)

“Jangan dulu bicara takdir, sebelum doa dan ikhtiarmu selesai.”

(Cinta dalam Ikhlas)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya, sholawat serta salam kepada suri tauladan terbaik nabi Muhammad SAW.

Penulis mempersembahkan karya ini teruntuk:

Ibu tercinta (Ibu Sujinah) Yang telah mendidik dan membesarkanku dengan penuh kesabaran dan limpahan kasih sayang serta selalu mendo'akan, menguatkan mendukung segala langkahku untuk menuju kesuksesan.

Saudara dan keluarga besar penulis
Yang telah memberikan dukungan dan semangat

Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D dan Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si.,
M.Si Yang telah sabar membimbing, memberikan ilmu, serta saran dan masukannya kepada penulis selama menempuh Pendidikan dan penelitian di kampus.

Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah memberikan ilmunya serta membimbing penulis di Kampus Hijau ini

Sahabat-sahabatku tercinta Yang telah sabar menemani, memberikan keceriaan, motivasi, dan semangat

Almamater tercinta
Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil'alamin. Segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul berjudul "Profil Senyawa Bioaktif Antibakteri dari Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Menggunakan Metode KLT Bioautografi dan LC-MS/MS" sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Shalawat beriring salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir zaman anti.

Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari bantuan pihak yang telah mendorong dan membimbing penulis, baik tenaga, ide-ide, maupun pemikiran, dan dengan karunia Allah SWT skripsi ini dapat selesai secara bertahap meskipun masih jauh dari kesempurnaan. Dalam kesempatan ini pula dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Orang tua yang saya sayangi, Ibu Sujinah yang tiada henti mendukung, mendo'akan, memotivasi dan memberikan nasihat kepada penulis. Kata terimakasih tidak cukup untuk membalas semua kebaikan yang telah ibu berikan.
2. Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D. selaku Pembimbing I yang telah membimbing, memberikan banyak ilmu pengetahuan, nasihat, arahan, dukungan, saran dan kritik yang sangat berarti bagi penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.

3. Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing II atas semua kritik, saran, bimbingan serta motivasi dan nasihat yang selalu diberikan dengan kesabaran dan keikhlasan kepada penulis selama penelitian.
4. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si. selaku Pembahas atas segala arahan, koreksi, saran, dan kritik yang bermanfaat kepada penulis.
5. Bapak Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Pembimbing Akademik atas segala bimbingan, nasihat, serta motivasi yang telah diberikan kepada penulis
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
7. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan di kampus.
9. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
10. Kakak dan adik penulis, Heldayanti dan Muhammad Annas Tri Yudha yang selalu menghibur dan memberikan semangat kepada penulis.
11. Via Aprilia selaku teman seperjuangan yang sudah menemani penulis bahkan dititik terendah.
12. Kak Fendi Setiawan S.Si., M.Si., atas segala ilmu, motivasi, dan sarannya yang sangat bermanfaat.
13. Tim penelitianku ADS Research'20 yaitu Nadira, Adinda, dan Fayza yang telah memberikan semangat, motivasi, dan saran untuk menyelesaikan penelitian.
14. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Kimia LT-SIT, Kimia Anorganik / Fisik, Kimia Dasar, Kimia Organik, Biokimia, teman-teman kelas A yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis. Terima kasih atas kebersamaan selama ini.

15. Seluruh mahasiswa Jurusan Kimia angkatan 2020, terima kasih atas kebersamaan yang telah dilalui dalam kehidupan perkuliahan. Semoga kita semua diberikan kemudahan dalam segala urusan dan selamat berkarir.
16. Semua pihak yang terlibat membantu dan mendoakan penulis secara tulus dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Bandar Lampung, 21 Januari 2025
Menyatakan,

Pipit Dwi Haryani
NPM. 2017011067

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| DAFTAR TABEL | iii |
| DAFTAR GAMBAR | iv |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Tujuan..... | 2 |
| 1.3 Manfaat..... | 3 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1 Tanaman Salam (<i>S. polyanthum</i>)..... | 4 |
| 2.2 Kandungan Tumbuhan Salam | 5 |
| 2.3 Senyawa Metabolit Sekunder | 6 |
| 2.4 Ekstraksi | 6 |
| 2.5 Fraksinasi..... | 7 |
| 2.6 Kromatografi..... | 7 |
| 2.6.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)..... | 8 |
| 2.6.2 Kromatografi Kolom..... | 9 |
| 2.6.3 Kromatografi Lapis Tipis Bioautografi | 10 |
| 2.6.4 Karakterisasi Senyawa Menggunakan <i>Liquid Chromatography-</i> <i>Mass Spectrophotometer/Mass Spektrometry (LC-MS/MS)</i> | 11 |
| 2.7 Bakteri Patogen..... | 12 |
| 2.7.1 Antibakteri..... | 16 |
| 2.7.2 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri..... | 16 |
| III. METODE PENELITIAN..... | 18 |
| 3.1 Tempat dan Waktu..... | 18 |
| 3.2 Alat dan Bahan | 18 |
| 3.3 Metode | 19 |
| 3.3.1 Pengambilan Sampel | 19 |
| 3.3.2 Ekstraksi | 19 |
| 3.3.3 Peremajaan Bakteri..... | 19 |
| 3.3.4 Uji KLT Bioautografi | 19 |
| 3.3.5 Uji Antimikroba..... | 20 |
| 3.3.6 LC-MS/MS | 20 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 22 |
| 4.1 Tanaman Salam | 22 |
| 4.2 Ekstraksi | 22 |

| | | |
|-----------|------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.3 | Fraksinasi..... | 24 |
| 4.4 | Pemisahan Menggunakan Kromatografi Kolom | 24 |
| 4.5 | KLT Bioautografi | 26 |
| 4.6 | Analisis Menggunakan LC-MS/MS | 27 |
| 4.6.1 | <i>1-hydroxyanthraquinone</i> sebagai Agen Antibakteri..... | 29 |
| 4.6.2 | <i>3-ethylamino-4-nitropyridine</i> sebagai Agen Antibakteri | 30 |
| 4.6.3 | <i>1-Hexatriacontanamine</i> sebagai Agen Antibakteri | 31 |
| 4.6.4 | <i>N-Octyl-N-tetradecyl-1-hexadecanamine</i> sebagai Antibakteri | 32 |
| V. | SIMPULAN DAN SARAN | 33 |
| 5.1 | Simpulan..... | 33 |
| 5.2 | Saran..... | 33 |
| | DAFTAR PUSTAKA..... | 34 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Analisis Puncak Kromatogram..... | 28 |
| 2. Strukur dan Nama Senyawa Hasil Analisis Kromatogram | 29 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Tanaman Salam..... | 5 |
| 2. <i>S. aureus</i> (Riski, 2017)..... | 14 |
| 3. <i>P.aeruginosa</i> (Todar, 2012)..... | 15 |
| 4. (a) Tanaman Salam (<i>S. polyanthum</i>) (b) Serbuk Daun Salam | 22 |
| 5. Kromatogram KLT Ekstrak Kasar Daun Salam Menggunakan (a) UV 254 nm, (b) $Ce(SO_4)_2$, (c) $AlCl_3-EtOH$, (d) dan Vanilin- H_2SO_4 | 23 |
| 6. Hasil Uji KLT Menggunakan Eluen DCM:MeOH 2:1 (a) Fraksi Air dan (b) Fraksi Butanol | 24 |
| 7. Proses Pemisahan Menggunakan Kolom | 25 |
| 8. Kromatogram Hasil Kolom (a) UV 254nm (b) $Ce(SO_4)_2$ | 25 |
| 9. Hasil KLT Bioautografi (a) <i>S. aureus</i> (b) <i>P. aeruginosa</i> | 26 |
| 10. Hasil KLT Bioautografi Hasil Kromatografi Kolom (a) <i>S. aureus</i> (b) <i>P. aeruginosa</i> | 27 |
| 11. Kromatogram LC-MS/MS Sampel a2 Hasil Kromatografi Kolom Menggunakan <i>software masslynx</i> | 28 |
| 12. <i>1-hydroxyanthraquinone</i> | 29 |
| 13. <i>3-ethylamino-4-nitropyridine</i> | 30 |
| 14. <i>1-Hexatriacontanamine</i> | 31 |
| 15. <i>N-Octyl-N-tetradecyl-1-hexadecanamine</i> | 32 |

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kasus infeksi bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik terus meningkat, sehingga muncul kebutuhan mendesak untuk mencari alternatif senyawa aktif baru. Senyawa yang berasal dari tanaman obat dapat memberikan pendekatan yang inovatif dan mudah diakses dalam pengendalian bakteri patogen (Vaou *et al.*, 2021).

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat sering kali menjadi salah satu pemicu utama terjadinya resistensi antibiotik. Kasus resistensi antimikroba AMR (*Antimicrobial Resistance*) dapat menyebabkan hingga 10 juta kematian per tahun. Berdasarkan data dari *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS) selama periode 2002-2009, angka kejadian resistensi di Eropa mencapai 71% untuk kasus *Escherichia coli* dan 34% untuk *Staphylococcus aureus* (Faizah *et al.*, 2021).

Saat ini, banyak bakteri memiliki kemampuan untuk mengembangkan resistensi antimikroba, tetapi tetap rentan terhadap antimikroba lainnya. Hal ini memberikan peluang untuk keberhasilan pengobatan klinis yang tepat. Kelompok bakteri yang menjadi perhatian utama di dunia saat ini adalah bakteri penyebab infeksi nosokomial yang dikenal dengan akronim ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter sp.*). Kelompok bakteri ini menunjukkan sifat multiresistensi obat serta tingkat virulensi yang tinggi (Mulani *et al.*, 2019).

Tanaman obat diketahui kaya akan berbagai macam senyawa kimia yang secara *in vitro* telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba (Lewis *and* Ausubel, 2004). Antimikroba yang berasal dari ekstrak tanaman obat bersifat alami, lebih aman dibandingkan senyawa sintetis, tersedia di masyarakat lokal, lebih terjangkau secara ekonomi, serta memiliki manfaat terapeutik dan faktor keamanan obat yang signifikan. Selain itu, ekstrak tanaman obat dapat menjadi alternatif dalam kasus efek samping atau resistensi terhadap obat-obatan konvensional (Ingle *et al.*, 2017).

Salah satu tanaman obat yang sering dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional adalah daun salam (*S. polyanthum*). Pemilihan daun salam sebagai bahan obat didasarkan pada pengetahuan tradisional yang diturunkan secara turun-temurun, keberadaan tanaman ini yang melimpah di masyarakat, serta kemudahan dalam mendapatkannya. Aspek keamanan dan efektivitas daun salam sebagai obat masih perlu penelitian lebih lanjut (Harismah, 2016).

Penelitian sebelumnya telah banyak melakukan uji antibakteri terhadap tumbuhan yang tersebar luas di Indonesia, termasuk daun salam (*S. polyanthum*). Tanaman ini diketahui memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti fenol, polipeptida, tanin, flavonoid, kuinon, minyak atsiri, kumarin, terpenoid, lektin, alkaloid, poliamin, tiosulfinat, isotiosianat, poliasetilen, dan glikosida (Hakim dkk., 2016). Berdasarkan kapasitasnya sebagai antioksidan dan antimikroba, *S. polyanthum* memiliki potensi yang cukup baik (Julizan *et al.*, 2023).

Dalam penelitian ini, dilakukan kajian profil senyawa bioaktif pada ekstrak air daun salam yang diambil dari Desa Candimas. Komponen aktif pada ekstrak ini diuji menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bioautografi dan dianalisis menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) berbasis molecular networking.

1.2 Tujuan

Berdasarkan latar belakang di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memperoleh senyawa bioaktif dari ekstrak daun salam (*S. Polyanthum*).
2. Memperoleh aktivitas senyawa bioaktif ekstrak tanaman salam (*S. polyanthum*) sebagai antibakteri terhadap bakteri uji *S. aureus*, dan *P. aureginosa*.
3. Memperoleh profil senyawa bioaktif daun salam sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen resisten menggunakan metode kromatografi *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy/Mass Spectroscopy* (LC-MS/MS).

1.3 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Menambah informasi tentang profil ekstrak tanaman salam.
2. Memberikan informasi potensi senyawa bioaktif dari ekstrak tanaman salam sebagai antibakteri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Salam (*S. polyanthum*)

Tanaman salam tersebar di beberapa wilayah di Indonesia dengan memiliki nama yang berbeda di setiap daerah, misalnya gowok (Jawa), ubar serai (Sumatra), salam (Sunda, Madura) (Gholib, 2015). Tanaman salam merupakan tumbuhan yang hidup liar dan sering ditemukan dipekarangan rumah. Tumbuhan salam dapat ditemukan di berbagai jenis lingkungan, yaitu di daerah dataran rendah atau pun pegunungan dataran rendah. Daun salam biasa dimanfaatkan untuk berbagai makanan dan obat tradisional untuk pengobatan berbagai penyakit seperti diare, hipertensi, dan diabetes (Silalahi, 2017).

Klasifikasi Tanaman

Taksonomi tanaman salam (*S. polyanthum*) diklasifikasikan sebagai berikut :

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



Gambar 1. Tanaman Salam

2.2 Kandungan Tumbuhan Salam

Tumbuhan salam memiliki kandungan flavonoid, tanin dan senyawa fenolik, yang mampu mencegah pertumbuhan bakteri dengan mendenaturasi protein dan mengurangi tegangan pada permukaan, sehingga meningkatkan permeabilitas bakteri. Kandungan daun salam berupa tanin dan flavonoid yang menjadi bahan aktif yang mempunyai efek anti-inflamasi dan antimikroba, sedangkan minyak atsiri mempunyai efek analgesic. Kandungan bahan aktif di dalam daun salam adalah saponin, triterpenoid, flavonoid, tanin, polifenol, dan alkaloid (Wiradona, 2015).

Ekstrak daun salam mampu menghambat pertumbuhan dan kolonisasi berbagai bakteri berbahaya. Terpenoid merupakan senyawa kimia pada daun yang berperan sebagai antimikroba (Uddin *et al.*, 2022). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan daun salam mengandung senyawa steroid, fenolik, saponin, flavonoid, dan alkaloid (Liliwirianis, 2011). Senyawa utama yang terkandung di dalam daun salam adalah flavonoid. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki manfaat sebagai antivirus, antimikroba, antialergik, antiinflamasi, antitumor, dan antioksidan sebagai sistem pertahanan tubuh (Harismah dan Chusniatun, 2016). Flavonoid yang terkandung dalam daun salam yaitu kuersetin dan fluoretin (Prahastuti, *et al.*, 2011). Oleh karena itu dengan adanya kandungan senyawa kimia yang banyak, daun salam sering digunakan untuk mengobati

penyakit gastritis, diare, tekanan darah tinggi, dan kolestrol kadar total dan masih banyak penyakit lainnya (Kemenkes *et al.*, 2011).

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan metabolit yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder. Tumbuhan memanfaatkan metabolit sekunder yang disintesisnya sebagai bentuk pertahanan terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Jumlah dan jenis metabolit sekunder yang disintesis oleh tumbuhan memiliki banyak variasi baik dari kadar maupun jenisnya. Manusia memanfaatkan metabolit sekunder untuk berbagai tujuan salah satunya adalah dimanfaatkan sebagai pengobatan. Berdasarkan analisis fitokimia daun salam mengandung berbagai metabolit sekunder seperti essensial oil, tanin, flavonoid, dan terpenoid (Widyawati *et al.*, 2012). Daun salam juga mengandung tanin, saponin dan niacin yang berfungsi sebagai pengobatan untuk penurunan kadar kolesterol dalam darah (Agoes, 2010).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga menjadi terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif yang terkandung dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut sesuai, kemudian diuapkan dan diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Illing dkk., 2017).

Ekstraksi memiliki berbagai jenis yaitu maserasi, perkolasi, soklet, dekoktasi, refluks, dan destilasi. Pada penelitian ini digunakan metode dekoktasi. Dekoktasi atau perebusan adalah teknik yang digunakan untuk meningkatkan kelarutan senyawa-senyawa polar yang terkandung dalam simplisia tumbuhan, termasuk senyawa fenol, flavonoid dan tanin. Proses ekstraksi dekoktasi atau perebusan dilakukan berkisar 10-30 menit. Keuntungan cara ini adalah lebih efisien untuk

tumbuhan obat herbal sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai (Winarti dkk, 2017). Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel (Susanty dan Bachim, 2016). Pelarut-pelarut yang biasanya dipergunakan untuk senyawa-senyawa organik di antaranya adalah eter, etanol, aseton, metanol, n-heksana, petroleum eter dan lain sebagainya (Illing dkk., 2017).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolarannya. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat memiliki penggunaan pelarut yang berbeda berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda berdasarkan tingkat kepolaritasannya menghasilkan ekstrak alami yang berbeda, sehingga senyawa metabolit sekunder dapat tertarik secara maksimal oleh pelarut. Kelebihan metode fraksinasi adalah mampu memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat kepolarannya (Putri dkk., 2023).

2.6 Kromatografi

Kromatografi adalah metode pemisahan kimia berdasarkan perbedaan distribusi zat dalam dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Tujuan kromatografi adalah untuk memisahkan suatu senyawa dalam campuran. Pemisahan dapat dilakukan dengan mudah dan cepat hanya dengan menggunakan peralatan yang sederhana (Fasya, 2018). Berdasarkan jenis fase gerak dan mekanisme pemisahan kromatografi dapat dibagi menjadi beberapa jenis. Jika ditinjau dari fase gerak dapat meliputi kromatografi cair, kromatografi gas, kromatografi adsorpsi, dan kromatografi partisi. Jika ditinjau dari mekanismenya meliputi kromatografi pertukaran ion dan kromatografi gel. Jika ditinjau dari fase diamnya berupa kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi kertas (Dwiwarso, 2017).

2.6.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah teknik analisis yang banyak digunakan untuk memisahkan campuran senyawa kimia berdasarkan distribusinya di antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam merupakan bahan pelapis pada lempeng KLT yang biasanya terbentuk dari bubuk silika, aluminium oksida, atau selulosa. Fase gerak merupakan pelarut tunggal atau campuran yang menyebabkan ekstrak mengalami pemisahan. Fase gerak berinteraksi dengan fase diam melalui daya kapilaritas yang memungkinkan terjadinya pemisahan beragam komponen berdasarkan kelarutan dan retensinya dalam fase diam dan fase gerak. Pemisahan dicapai melalui kompetisi antara molekul sampel dan fase gerak untuk berikatan atau berinteraksi dengan fase diam (Lade *et al.*, 2014).

Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan dengan cara meneteskan masing-masing fraksi pada plat KLT menggunakan pipa kapiler sehingga berbentuk spot. Plat dimasukkan ke dalam tempat yang telah diisi eluen. Eluen yang digunakan sebagai pengembang. Eluen dibiarkan bergerak ke atas dan diakhiri setelah ujung eluen pada plat mencapai kira-kira $\frac{3}{4}$ tinggi plat. Plat KLT diambil dan dikeringkan, kemudian spot diidentifikasi dengan menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Cahaya UV membuat spot-spot pada plat menjadi berwarna sehingga akan terlihat spot-spot hasil KLT. Spot-spot pada plat KLT dibandingkan dengan menggunakan nilai satuam tertentu yaitu *Retention factor* (Rf). Nilai Rf adalah perbandingan jarak dari titik awal spot hingga sejauh spot itu berada dibandingkan dengan jarak pelarut hingga mencapai titik tertinggi yang dihitung dari titik awal yang sama

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Harga Rf ini bergantung pada beberapa parameter yaitu sistem pelarut, adsorben, jumlah bahan yang ditotolkan pada plat dan suhu. Secara teori senyawa flavonoid akan menghasilkan bercak warna kuning pada hasil penotolan apabila diamati

pada sinar tampak dan akan menghasilkan noda kuning yang berfluoren apabila dideteksi menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Angka Rf berjangka 0,00 dan 1,00 bercak yang terlihat kebanyakan disebabkan oleh flavonoid. Bercak glikosida flavon dan glikosida flavonoid yang khas tampak berwarna lembayung tua dengan sinar UV dan menjadi kuning atau hijau kuning bila di uap amonia (Djamil *and* Yenni, 2014).

Nilai Rf berkarakteristik untuk senyawa tertentu paada eluen tertentu. Nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi senyawa (Pratiwi *et al.*, 2021). Jika nilai Rf yang diidentifikasi sama, hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang serupa atau mirip. Namun jika terdapat perbedaan dalam nilai Rf menandakan bahwa senyawa tersebut berbeda atau memiliki sifat yang berbeda (Sunu, 2018). Jika niali Rf yang dihasilkan terlalu tinggi, maka perlu dilakukan pengurangan eluen atau sebaliknya (Nafisa *et al.*, 2023).

Penggunaan instrumen identifikasi berupa kromatografi lapis tipis perlu adanya eluen. Eluen merupakan larutan atau campuran larutan yang digunakan sebagai fase gerak. Bila sampel semakin mendekati kepolaran eluen maka sampel akan lebih terbawa dan akan terpisah oleh fase gerak. Eluen sangat berperan penting dalam kromatografi lapis tipis dengan membawa sampel ke atas plat dan memungkinkan komponen analit terpisah berdasarkan afinitasnya (Jusnita, 2016).

2.6.2 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan preparatif yang dapat menghasilkan isolat dalam jumlah yang cukup besar. Efisiensi pemisahan menggunakan kromatografi kolom dipengaruhi oleh adsorben, eluen, diameter kolom dan laju alir. Adsorben memiliki peran penting sebagai fase diam dari suatu kromatografi kolom terhadap pengaruhnya dalam efisiensi pemisahan. Pemisahan yang efisien menggunakan kromatografi kolom dapat dilakukan salah satunya dengan cara memperkecil jumlah sampel dalam proses elusi serta memperpanjang kolom (Fasya, 2018).

Prinsip kerja kromatografi kolom adalah adanya perbedaan absorpsi dari masing-masing senyawa campuran yang akan dipisahkan. Senyawa polar lebih kuat diserap dalam gel silika, menyebabkannya turun lebih lambat, sedangkan senyawa non-polar lebih lemah diserap dan bergerak lebih cepat. Senyawa dalam kolom terpisah membentuk pita serapan sesuai dengan polaritas senyawa dan mengalir keluar kolom dengan fase gerak dengan polaritas yang sama. Fase gerak yang digunakan dapat berupa pelarut murni atau campuran dua pelarut yang bersesuaian dengan perbandingan tertentu. Optimasi pelarut dilakukan melalui uji pendahuluan menggunakan plat KLT dengan pelarut yang sama namun volume yang diperkecil (Syahmani, 2017).

2.6.3 Kromatografi Lapis Tipis Bioautografi

Metode skrining digunakan untuk mendeteksi aktivitas antimikroba dari produk alam terbagi dalam tiga kelompok, yaitu metode difusi, dilusi dan bioautografi. Metode bioautografi dan difusi dikenal sebagai teknik kualitatif karena metode ini hanya untuk menentukan ada atau tidaknya zat antimikroba. Sedangkan metode difusi merupakan teknik kuantitatif, teknik ini dapat menentukan konsentrasi hambat minimum suatu zat antimikroba tersebut (Valgas *et al.*, 2007).

Bioautografi adalah suatu metode pendeteksian untuk menentukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisasi aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengertian kromatografi lapis tipis (Yumita dkk., 2019). Metode skrining ini memberikan sensitivitas yang lebih tinggi daripada metode lainnya. Metode ini juga memiliki kelebihan yaitu, sederhana, murah, hemat waktu, dan tidak memerlukan peralatan yang canggih (Choma, 2010). Jenis dari KLT bioautografi sebagai berikut:

1. Bioautografi Kontak

Bioautografi kontak memiliki prinsip dengan cara, plat KLT diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi mikroba uji selama beberapa menit atau jam sehingga proses difusi dapat terjadi. Plat kromatografi diambil dan media agar

diinkubasi. Daerah hambatan ditunjukkan dengan adanya spot antimikroba yang menempel pada permukaan media agar setelah diinkubasi pada waktu dan suhu yang tepat sampai noda yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji tampak pada permukaan membentuk zona jernih.

2. Bioautografi Imersi

Bioautografi imersi memiliki prinsip dengan cara, plat KLT dicelup pada medium agar, setelah ditambahkan mikroorganisme uji lalu diinkubasi. Metode ini merupakan kombinasi dari bioautografi kontak dan langsung, karena senyawa antimikroba ditransfer dari kromatogram ke media agar, seperti dalam bioautografi kontak, tetapi lapisan agar tetap pada permukaan kromatografi selama inkubasi dan visualisasi seperti pada bioautografi langsung.

3. Bioautografi Langsung

Bioautografi langsung memiliki prinsip dengan cara, plat KLT dicelupkan pada suspensi mikroorganisme yang kemudian diinkubasi. Visualisasi dari zona ini biasanya dilakukan dengan menggunakan dehydrogenase untuk mendeteksi aktivitas, yang paling umum adalah garam tetrazolium. *Dehydrogenase* mikroorganisme mengkonversi garam tetrazolium menjadi berwarna, sehingga terlihat spot krem-putih dengan latar belakang ungu pada permukaan plat KLT menunjukkan keberadaan agen antibakteri (Choma, 2010).

2.6.4 Karakterisasi Senyawa Menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometer/Mass Spektrometry (LC-MS/MS)*

Liquid Chromatography- Mass Spectrophotometer/Mass Spektrometry (LC-MS/MS) dianggap sebagai alat standar di laboratorium analitis untuk mengkarakterisasi struktural dan menghitung nilai-nilai berat molekul dalam sampel tanaman yang dikenal dan tidak diketahui. Analisis secara kualitatif dilakukan dengan menghitung massa dan informasi struktural yang relevan sedangkan kuantifikasi dicapai dengan hubungan antar puncak dan kandungan senyawa yang mewakili puncak (Pang *et al.*, 2016). MS dibagi menjadi tiga langkah yaitu ionisasi, massa analisis dan deteksi. Sampel akan terionisasi ketika diinjeksi ke spektrometer massa dan massa molekul senyawa dihitung berdasarkan rasio m/z . Resolusi, kisaran massa, tingkat

pemindaian dan batas deteksi adalah komponen kunci yang diperlukan untuk pemilihan saat menganalisis berat senyawa.

Pola fragmentasi ion sebagian besar diatur oleh ionisasi semprot elektron dan ionisasi kimia tekanan atmosfer. Kedua mode ionisasi ini menyediakan pola fragmentasi yang cepat dan komprehensif dalam menganalisis komposisi senyawa metabolit. Metode ini umumnya digunakan untuk analisis LC-MS/MS metabolit sekunder dari tanaman. Teknik ionisasi ini mampu menghasilkan pola fragmentasi melalui energi listrik, memungkinkan ion-ion berpindah dari fase cair ke fase gas sebelum dianalisis dalam spektrometer massa. Mode ionisasi positif dan negatif digunakan dalam analisis produk alami seperti flavonoid (Cuykens *and* Cleys, 2004).

LC-MS/MS merupakan salah satu teknik analisis dengan resolusi tinggi dan dapat digunakan dalam analisis kuantitatif maupun analisis struktural sehingga dapat memberikan pendekatan yang sangat berguna dalam menentukan profil suatu metabolit. MZ mine mencakup semua tahapan pada tahap pemrosesan data awal kromatogram LC-MS/MS dan utamanya digunakan dalam tujuan metabolomik seperti pengidentifikasikan suatu senyawa dalam suatu sampel (Katajama dan Oresic, 2005). MZ mine mengolah kromatogram LC-MS/MS menjadi bentuk mass array. Mass array adalah matriks data tiga dimensi yang mengandung informasi massa akurat dari puncak terdeteksi, waktu retensi, dan intensitas puncak (Tanaka *et al.*, 2011).

2.7 Bakteri Patogen

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik (bersel tunggal) yang hidup berkoloni, dan tidak mempunyai selubung inti, dan mampu hidup dimana saja. Bakteri umumnya mempunyai struktur sel, yang terdiri dari dinding sel. Dinding sel berfungsi untuk memberikan bentuk sel dan melindungi isi sel dari pengaruh luar sel. Dinding sel tersusun atas makromolekul peptidoglikan yang terdiri dari disakarida dan polipeptida. Susunan pada dinding bakteri inilah yang

membedakan bakteri berdasarkan respon dinding sel terhadap bakteri. Terdapat kelompok bakteri, mencakup enam patogen dengan peningkatan resistensi dan virulensi obat dengan banyak obat berbeda yaitu, *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* dan *Enterobacter spp.* Bakteri patogen bertanggung jawab atas sebagian besar infeksi nosocomial dan memiliki kemampuan untuk melarikan diri dari efek bakterisidal zat antibakteri (Mulani *et al.*, 2019).

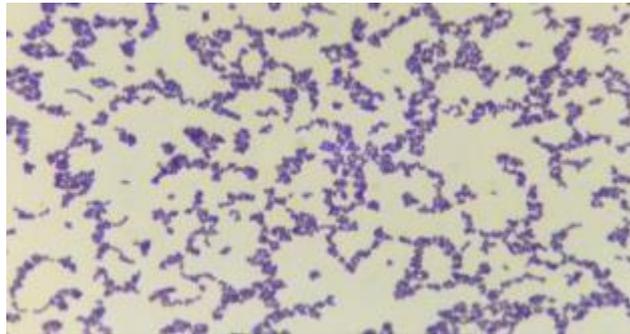
Resistensi adalah kondisi di mana bakteri menjadi kebal terhadap antibiotik. Bakteri yang sangat resisten muncul karena penggunaan antibiotik yang terus menerus, pengobatan sendiri, dan paparan infeksi di rumah sakit. Bakteri ini menjadi penyebab atas 15,5% infeksi yang terjadi di rumah sakit di seluruh dunia (Mulani *et al.*, 2019). Banyak spesies bakteri telah mengembangkan kemampuan untuk menahan antibiotik jauh sebelum manusia mulai memproduksi antibiotik secara massal untuk mencegah dan mengobati penyakit menular. Pengenalan antibiotik sebagai agen klinis baru telah secara drastis mengubah prasyarat evolusi dan resistensi dengan memberikan tekanan seleksi yang belum pernah terjadi sebelumnya, terutama pada mikroba dari manusia dan hewan peliharaan. Tekanan seleksi ini telah mendorong mobilisasi dan transfer horizontal banyak spesies bakteri, terutama pada bakteri patogen (Larsson *and* Flach, 2022). Bakteri patogen yang menyebabkan penyakit infeksi pada manusia contohnya adalah *S. aureus* dan *P. aeruginosa*.

a. *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri Gram-positif yang berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1,0 μm dan tersusun bergerombol tidak beraturan seperti buah anggur yang berada di selaput lendir dan kulit. *S. aureus* dapat bergerak dan tergolong bakteri aerob sampai anaerob fakulatif, *S. aureus* juga merupakan mikroorganisme yang normal ada di kulit, hidung, tenggorokan, dan saluran pencernaan manusia. Bakteri ini juga banyak dijumpai pada selaput hidung, kulit dan kantung rambut (Krieg *et al.*, 2011).

S. aureus menghasilkan enzim katalase. Bakteri ini merupakan kelompok bakteri yang dapat meragi karbohidrat (antara lain manitol) dan menghasilkan asam laktat. Klasifikasi *S.aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Monera
Divisi : Firmicutes
Kelas : Firmibacteria
Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. *S. aureus* (Riski, 2017).

S. aureus mengeluarkan enterotoksin pada makanan yang berprotein tinggi. Enterotoksin ini bersifat termotabil, tahan terhadap aktivitas pemecahan oleh enzim-enzim pencernaan dan relatif tahan terhadap pengeringan. Patogenitas *S. aureus* merupakan efek gabungan dari berbagai macam metabolit yang dihasilkan. Setiap jaringan atau organ tubuh dapat diinfeksi oleh *S. aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. *S. aureus* adalah pathogen utama pada manusia, karena menyebabkan keracunan pada makanan dan infeksi kulit. Infeksi pada kulit dapat berupa jerawat, infeksi folikel rambut atau abses. Jika *S. aureus* menyebar dan terjadi bakteremia, maka dapat terjadi endokarditis, osteomyelitis, meningitis atau infeksi paru-paru (Brooks *et al.*, 2007).

b. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa adalah bakteri Gram-negatif berbentuk batang pendek dengan ukuran lebar 0,5-0,8 μm dengan panjang 1,5-3,0 μm , dan mempunyai flagella untuk bergerak. *P. aeruginosa* mempunyai 2 tipe pigmen yaitu, pyoverdin atau pigmen yang berwarna hijau dan pyocyanin yang berwarna biru (Todaro, 2006). Bakteri ini umumnya ditemukan dalam biofilm, menyerang permukaan atau substrat dalam bentuk planktonic. *P. aeruginosa* adalah bakteri aerob obligat yang tumbuh optimal pada suhu 37 °C dan dapat beradaptasi pada suhu tinggi 42 °C, resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik, garam kadar tinggi dan antiseptik. *P. aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik yang banyak ditemukan pada pasien dengan komplikasi pasien cystic fibrosis (Baldan *et al.*, 2014). Klasifikasi *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Monera
Divisi : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Pseudomonadales
Famili : Pseudomonadaseae
Genus : *Pseudomonas*
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 3. *P.aeruginosa* (Todaro, 2012).

2.7.1 Antibakteri

Antibakteri merupakan obat yang paling banyak digunakan untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibakteri adalah zat yang dapat membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri dan termasuk dalam antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu senyawa aktif dapat merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, menghambat sintesis asam nukleat dan protein bakteri. Salah satu yang dapat digunakan untuk mencegah dan menghambat resistensi bakteri adalah dengan memanfaatkan tumbuhan herbal. Tumbuhan herbal sangat bagus sebagai oabt-obatan karena mengandung senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Setiabudy, 2012).

Senyawa flavonoid pada beberapa tumbuhan diketahui memiliki sifat antibakteri. Flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri. Mekanisme lainnya gugus hidroksil pada struktur flavonoid yang dapat mengakibatkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi, sehingga menimbulkan efek toksik bakteri (Manik dkk., 2014). Flavonoid pada konsentrasi tinggi memiliki efek bakterisidal baik pada bakteri Gram-negatif bakteri Gram-positif. Mekanisme flavonoid sebagai bakterisidal yaitu dengan cara menyebabkan kerusakan pada membran sitoplasma dan dinding sel baketeri (Christabel *et al.*, 2018).

2.7.2 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dibedakan menjadi dua, yaitu bakterisida yang memiliki sifat membunuh bakteri dan bakteriostatika yang memiliki sifat menghambat bakteri. Mekanisme kerja antibakteri adalah sebagai berikut:

1. Perusakan dinding sel, struktur sel dirusak dengan menghambat saat pembentukan atau setelah pembentukkan dinding sel.

2. Mengubah permeabilitas sel kerusakan pada membrane sitoplasma berfungsi mempertahankan bagian-bagian tertentu dalam sel serta mengatur aktivitas difusi bahan penting.
3. Menghambat kerja enzim yang akan menyebabkan aktivitas sel tidak berjalan normal terutama pada aktivitas sintesis yang akan terganggu.
4. Menghambat sintesis asam nukleat dan protein, dengan adanya peran penting DNA dan RNA sebagai bahan baku pembentukan sel bakteri karena jika terjadi penghambatan maka mengakibatkan kerusakan pada sel.
5. Mengubah molekul protein dan asam nukleat, suatu sel hidup tergantung pada terpeliharanya molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasi protein dan asam nukleat sehingga merusak sel secara permanen (Rollando, 2019).

Mekanisme kerja dari senyawa flavonoid yaitu mengganggu fungsi dinding sel bakteri melalui pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler dan menghambat bakteri. Rusaknya dinding sel bakteri yang terdiri dari lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol dari senyawa flavonoid sehingga menimbulkan senyawa tersebut ke dalam inti sel bakteri. DNA yang terdapat di dalam inti sel bakteri akan bereaksi dengan senyawa flavonoid melalui perbedaan kepolaran antara gugus alkohol dan lipid penyusun DNA sehingga menyebabkan inti sel bakteri lisis (Sadiah dkk., 2022).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung pada bulan Oktober 2023-Juli 2024.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, aluminium foil, neraca analitik (Wigen Hausser JD-300-3), tabung sentrifus, sentrifus, plat kaca Silika Gel 60 F₂₅₄, lampu UV Kohler, *chamber*, kertas saring, pinset, cawan petri, *oven* (*Precision Vacuum Oven*), *autoclave* (Tomy SX-700 *High Pressure Steam Sterilizer*), inkubator (Memmert CO₂ *Incubator*), mikropipet 10-100 µL dan 200-1000 µL (DragonLab), tip mikropipet (OneMed), spatula, *hot plate stirrer* (Sojiky HS-12), *laminar air flow* (Esco), bunsen, jarum ose, korek api, dan *liquid chromatography-mass spectroscopy* (LC-MS/MS).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel tanaman salam (*S. polyanthum*) akuades, etanol p.a, metanol, etil asetat, pereaksi serium (IV) sulfat, media MH (*Mueller Hinton*), media TSB (*Trypticase Soy Broth*), pereaksi resazurin, suspensi bakteri *S. aureus*, dan *P. aureginosa* (dari deposit UPT LTSIT).

3.3 Metode

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan merupakan bagian daun dari tanaman salam. Sampel diambil secara acak di sepanjang jalan daerah Natar, Lampung Selatan. Sampel dikeringkan dengan cara dikering anginkan selama 2 hari diletakkan di atas alumunium foil. Sampel daun yang sudah kering dihaluskan dan serbuk yang dihasilkan ditimbang sebanyak 100 gram, disimpan pada wadah plastik tertutup untuk percobaan selanjutnya.

3.3.2 Ekstraksi

Serbuk tanaman kering sebanyak 20 gram diekstrak dengan pelarut air sebanyak 250 mL menggunakan suhu 100°C hingga air mendidih. Ekstraksi dilakukan \pm 2 jam hingga volume air menyusut hingga 200 mL, dan diperoleh ekstrak. Ekstrak dipisahkan dari endapan menggunakan sentrifus, dan kemudian disimpan pada suhu 4°C (dalam refrigerator) untuk penggunaan lebih lanjut.

3.3.3 Peremajaan Bakteri

Sebanyak 1 ose bakteri uji *S. aureus* dan *P. aeruginosa* masing-masing dibiakkan dalam 20 mL kultur media MH yang terdiri dari 100 mL akuades, 4 gram MH, dan 1 gram agar, pada cawan petri. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam bakteri uji pada cawan petri diambil sebanyak 1 ose untuk diinokulum pada 2 mL media TSB yang terdiri dari 100 mL akuades, 3 gram TSB, dan 2 gram agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam.

3.3.4 Uji KLT Bioautografi

Uji KLT bioautografi menggunakan metode agar *overlay* (Nuthan *et al.*, 2020) dengan modifikasi. Sebanyak \pm 20 mmL sampel ditotolkan pada plat SiO₂ Gel F₂₅₄. Sampel KLT dielus dengan pelarut etil asetat atau EtOAc : MeOH (5:1) dan diamati komponen UV-Aktif dan pereaksi Ce(SO₄)₂. Setelah mendapatkan

kondisi elusi yang sesuai, pekerjaan yang sama dilakukan untuk uji bioautografi. Plat yang telah dielusi diletakkan dipermukaan cawan petri steril, dengan posisi spot menghadap ke atas. Selanjutnya, sebanyak 10 mL MH agar dengan campuran 100 mL bakteri 0,5 McFarland dituangkan ke dalam cawan berisi plat, dan ditunggu 5 menit hingga agar mengeras. Cawan petri diinkubasi selama 18 jam, pada suhu 37°C. Pemeriksaan hasil uji dilakukan menggunakan pereaksi warna resazurin. Sebanyak 100 mL resazurin 0,05% disemprotkan di atas permukaan agar dan ditunggu 15 menit. Perubahan warna diamati, warna ungu mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan oleh sampel, sedangkan warna merah muda mengindikasikan bakteri tumbuh.

3.3.5 Uji Antimikroba

Metode difusi sumur agar mengacu pada metode sebelumnya (Perez *et al.*, 1990). Secara sederhana 0,1 mL inokulum encer (10^5 CFU/mL) organisme uji disebarkan pada pelat MHA (Hi-Medis Pvt Ltd., Mumbai, India). Sumur berdiameter 8 mm dilubangi ke dalam media agar dan diisi dengan 50 mL ekstrak tumbuhan konsentrasi 2 mg/mL dan kontrol negatif pelarut (DMSO) secara terpisah. Larutan stok antibiotik (kloramfenikol atau strain yang sensitif) dibuat pada konsentrasi 100 mg/mL, selanjutnya digunakan dalam sistem pengujian sebagai kontrol positif (2 mg/mL). Mikro plat 96 whel diinkubasi pada suhu 37°C, semalaman. Daya hambat pertumbuhan bakteri di sekitar masing-masing sumuran diukur pada λ 520 nm.

3.3.6 LC-MS/MS

Senyawa ekstrak tanaman yang diperoleh dari daun salam dielusi melalui mini kolom C18. Selanjutnya, sampel hasil kolom dipekatkan dengan nitrogen hingga didapat larutan 2mg/mL. Larutan sampel dianalisis menggunakan LC-MS/MS dalam mode positif, menggunakan peralatan ACQUITY UPLC sistem H-Class (Waters, Beverly, MA, USA), kolom ACQUITY UPLC HSS C18 (1,8 μ m, 2,1 mm \times 100 mm) (Waters, Beverly, MA, USA), menggunakan fase gerak metanol

air (MeOH/H₂O) dan dideteksi menggunakan detektor Xevo G2-S *Qtof Mass Spectro* (Waters, Beverly, MA, USA).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan, simpulan yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

1. Senyawa bioaktif dari ekstrak daun salam yang memiliki aktivitas sebagai agen antibakteri.
2. Pada penelitian ini, telah berhasil didapatkan ekstrak daun salam fraksi butanol a2 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus*, namun tidak terdeteksi pada bakteri *P. aeruginosa* melalui metode KLT bioautografi.
3. Profil senyawa bioaktif dari ekstrak daun salam pada fraksi butanol a2 yaitu, *1-hydroxyanthaquinone*, *3-ethylamino-4-nitropyridine*, *1-Hexatriacontanamine*, *N-Octyl-N-tetradecyl-1-hexadecanamine*.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran untuk penelitian selanjutnya yaitu melakukan penelitian lebih lanjut terhadap sampel fraksi butanol daun salam sehingga sehingga diperoleh informasi lebih tentang jenis senyawa yang terkandung didalamnya serta dilakukan uji toksisitas sebelum pengaplikasian terhadap manusia sebagai temuan obat baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdehagh, N., Tezel, F. H., dan Thibault, J. 2014. Separation Techniques in Butanol Production: Challenges and Developments. *Biomass and Bioenergy*. 60: 222-246.
- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Salemba Medika. Jakarta. Indonesia.
- Aji, O. R. 2020. Analisis Resistensi Antibiotik pada Bakteri yang Berasosiasi dengan Lalat (*Musca Domestica*). *Diklabio*. 12(1): 11-16.
- Altaf, A. A., Shahzad, A., Gul, Z., Rasool, N., Badshah, A., Lal, B., and Khan, E. 2015. A review on the Medicinal Importance of Pyridine Derivatives. *J. Drug Des. Med. Chem*. 1(1): 1-11.
- Badave, P., Gaikwaid, S., and Jagtap, S. V. 2020. Versatile Remarkable Potent Bioactivity of Quinone Based Compounds to Beat the Diseases. *Eng. Manag.* 83: 25605-25608.
- Baldan, R., Cigana, C., Testa, F., Bianconi, I., De Simone, M., and Pellin, D. 2014. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis Airways Influences Virulence of *Staphylococcus aureus* in Vitro and Murine Models of Coinfection. *PloS one*. 9: 89614.
- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., and Morse, S.A. 2007. *Medical Microbiology, 24th Edition*. McGraw Hill Professional.
- Choma, I. 2005. The Use of Thin-Layer Chromatography with Direct Bioautography for Antimicrobial Analysis. *Chromatography Online*. 18: 482-488.
- Christabel, P. F., Hernando, M.V., Sutanto, K., and Parisihni. 2018. Exploration of *Chlorella Sp.* as Antibacterial to *Aggregatibacter atinomycesmcomitans* Biofilm. *IOP Publishing*. 217(1): 1-5.
- Cuyckens, M., and Claeys. 2004. Mass Spectrometry in the Structural Analysis of Flavonoids. *J. Mass. Spectrom.* 39(1): 1-15.
- Daly, S. M., Elmore, B. O., Kavanaugh, J. S., Triplett, K. D., Figueroa, M., Raja, H. A., and Hall, P. R. 2015. ω -Hydroxyemodin Limits *Staphylococcus aureus* Quorum Sensing-Mediated Pathogenesis and Inflammation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 59(4): 2223-2235.

- Denyer, S.P., Hodges, N., Gorman, S.P., and Gilmore, B.F. 2011. *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*. John Wiley and Sons.
- Djamil, R., and Yenni, C. 2014. Isolation and Identification of Flavonoid Compounds in nButhanol Fraction of Dewa Leaves (*Gynura pseudochina* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 12(1): 93-98.
- Dwiarso R. 2017. *Metode Kromatografi: Prinsip Dasar, Praktikum dan Pendekatan Pembelajaran Kromatografi*. Deepublish, Yogyakarta.
- Faizah, N., Sulistyowati, E., dan Hakim, R. 2021. Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun *Syzygium polyanthum* dengan Kotrimoksazol Pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *JKKT*. 9(1): 2.
- Fasya, A. G., Tyas, A. P., Mubarokah, F. A., Ningsih, R., and Madjid, A. D. R. 2018. Variasi Diameter Kolom dan Rasio Sampel-Silika Pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Euclima Cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *Alchemy*. 6(2): 1-57.
- Fosso, M. Y., Chan, K. Y., Gregory, R., dan Chang, C. W. T. 2012. Library Synthesis and Antibacterial Investigation of Cationic Anthraquinone Analogs. *ACS Combinatorial Science*. 14(3): 231-235.
- Gholib, D. 2015. *Tanaman Herbal Anti Candawan*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian :Jakarta.
- Hakim, R. F., Fakhrurrazi, dan Ferisa, W. 2016. Pengaruh Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha wight*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *JDS*. 1(1): 21-28.
- Handayani, N. C., Shafira, P. N., dan Fadhilah, S. G. 2021. Potensi Pengembangan Agen Antibakteri dari Senyawa Kompleks Logam Transisi di Indonesia. *The Indonesian Green Technology Journal*. 10(1).
- Harismah, K., dan Chusniatun. 2016. Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Sebagai Obat Herbal dan Rempah-rempah Penyedap Makanan. *Jurnal WARTA LPM*. 19(2): 110-118.
- Illing, I., Safitri, W. dan Erfiana. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Degen Ilmiati. *Dinamika*. 8(1): 66-84.
- Ingle, K. P., Deshmukh, A. G., Padole, D. A., Dudhare, M. S., Moharil, M. P., and Khelurkar, V. C. 2017. Phytochemicals: Extraction Methods, Identification and Detection of Bioactive Compounds From Plant Extracts. *J. Pharmacogn. Phytochem*. 6(1): 32-36.
- Julizan, N., Ishmayana, S., Zainuddin, A., Van Hung, P., and Kurnia D. 2023. Potential of *Syzygium polyanthum* as Natural Food Preservative: A Review. *Foods*. 12(12): 2275.

- Jusnita, N. 2016. Identifikasi Rhodamin B pada Sediaan Lipstik yang Beredar di Pasar Jakarta Utara dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. 1(2).
- Katajama, M., and Oresic, M. 2005. Processing Method For Differential Analysis of LC/MS Profile Data. *BMC Bioinformatics*. 6(1): 1-12.
- Kemegne, G. A., Mkounga, P., Essia Ngang, J. J., Sado Kamdem, S. L., and Nkengfack, A. E. 2017. Antimicrobial Structure Activity Relationship of Five Anthraquinones of Emodine Type Isolated from *Vismia Laurentii*. *BMC Microbiology*. 17: 1-8.
- Kemenkes, R. I. 2011. Kementerian Kesehatan RI. *Buletin Jendela, Data dan Informasi Kesehatan: Epidemiologi Malaria Di Indonesia*. Jakarta: Bhakti Husada.
- Krieg, N.R., Parte, A., Ludwig, W., Whitman, W.B., Hedlund, B.P., and Paster, B.J. 2011. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer.
- Kumar, A., P, N., Kumar, M., Jose, A., Tomer, V., Oz, E., dan Oz, F. 2023. Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Method. *Molecules*. 28(2): 887.
- Lade, B., Patil, A., Paikrao, H., and Hire, A. K. 2014. A Comprehensive Working, Principles and Applications of Thin Layer Chromatography. *RJPBCS*. 5(4): 486-503.
- Larsson, D. G. J., and Flach, C. F. 2022. Antibiotic Resistance in the Environment. *Nature Rev. Microbial*. 20(5): 257-269.
- Lewis, K., and Ausubel, F. M. 2006. Prospects for Plant Derived Antibacterials. *Nature biotechnology*. 24(12): 1504-1507.
- Liliwirianis, N., N.L.W. Musa, W.Z.W.M. Zain, J. Kassim, and S.A. Karim. 2011. Preliminary Studies on Phytochemical Screening of Ulam and Fruit from Malaysia. *E-Journal of Chemistry*. 8(1): 285-288.
- Manik, D. F., Hertiani, T., dan Anshory, H. 2014. Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah: JM*. 6(2): 1-12.
- Marinescu, M. 2021. Biginelli Reaction Mediated Synthesis of Antimicrobial Pyrimidine Derivatives and their Therapeutic Properties. *Molecules*. 26(19): 6022.
- Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., and Pardesi, K. R. 2019. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of

- Antimicrobial Resistance: A Review. *Frontiers in microbiology. Nature rev. microbiol.* 20(5): 257-269.
- Nafisa, S., Rohmah, S., Nihan, Y. A., Nurfadhila, L., dan Utami, M. R. 2023. Analisis Senyawa Obat Warfarin dalam Plasma Darah dengan Metode HPLC/KCKT. *Journal of Pharmaceutical and Sciences.* 6(2): 479-494.
- Pang, Y., Zhu, L., and Lu, Z. 2016. The Applications and Features of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in The Analysis of Traditional Chinese Medicine. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 1(16): 7.
- Perez, C., Pauli, M., and Bazerque, P. 1990. An Antibiotic Assay by Agar-well Diffusion Method. *Acta biol. med. exp.* 15(1): 113-115.
- Prahastuti, S., Tjahjani, S., Hartini, E., Kedokteran, F., and Maranatha, U. K. 2011. The effect of Bay Leaf Infusion (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp*) to Decrease Blood Total Cholesterol Level in Dyslipidemia Model Wistar Rats. *Jurnal Medika Planta.* 1(4): 27-32.
- Pratiwi, D. N., Utami, N., dan Pratimasari, D. 2021. Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak, Fraksi Polar, Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya L.*). *Jurnal Farmasi.* 2(1): 25-31.
- Putri, F. E., Diharmi, A., dan Karnila, R. 2023. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumpun Laut Coklat (*Sargassum Plagyophyllum*) dengan Metode Fraksinasi. *JTIP.* 15(1): 40-46.
- Rabbani, J. H., Achmad, G., dan Tantin, E. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* (Antibacterial Activity of Manalagi Apple Peel (*Malus sylvestris Mill.*) Extract on The Growth of *Streptococcus mutans*). *Pustaka Kesehatan.* 2(1): 23-28.
- Rahayu, S. 2021. Detection of Essential Oils of Patchouli Leaves (*Pogostemon cablin Benth*) with Combination of 2, 4-Dichlorofenoxyacetate and Coconut Water In Vitro. *International Journal of Ecophysiology.* 3(1): 96-117.
- Riski, K. 2017. Isolasi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Ikan Asin Talang-Talang (*Scomberoides Commersonianus*) di Kecamatan Leupung Kabupaten Aceh Besar (The Isolation of *Staphylococcus Aureus* Bacteria On Talang-Talang Salted Fish (*Scomberoides Commersonianus*) in Leupung, Aceh Besar). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner.* 1(3): 366-374.
- Rollando. 2019. Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit. Seribu Bintang. Malang.
- Sadiyah, H. H., Cahyadi, A. I., dan Windria, S. 2022. Kajian Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L*) Sebagai Antibakteri. *JSV.* 40(2): 128-138.

- Sandron, S., Rojas, A., Wilson, R., Davies, N. W., Haddad, P. R., Shellie, R. A., dan Paull, B. 2015. Chromatographic Methods for the Isolation, Separation and Characterisation of Dissolved Organic Matter. *Environmental Science: Processes and Impacts*. 17(9):1531-1567.
- Setiabudy, R. 2012. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. BPFKUI. Jakarta.
- Sharma, D., Patel, R. P., Zaidi, S. T. R., Sarker, M. R., Lian, Q. Y., and Ming, M. C. 2017. Interplay of The Quality of Ciprofloxacin and Antibiotic Resistance in Developing Countries. *Front. Pharmacol.* 8(1): 1-7.
- Silalahi, M. 2021. Pemanfaatan Sukun (*Artocarpus Altilis*) Sebagai Obat Tradisional dan Bahan Pangan Alternatif. *BEST*. 4(1): 9-18.
- Sunu, B. 2018. Penggunaan Zat Pewarna Sintetis pada Sirup yang Dijual di Pasar Modern Kota Makassar: Use of Synthetic Syrup Dyes on The Sell at Makassar Modern Market. *Jurnal Kesmas Untika Luwuk: Public Health Journal*. 9(2): 11-17.
- Susanty, dan Bachdim, F. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Konversi*. 5(2): 87-93.
- Syahmani, Leny, Iriani R., dan Elfa N. 2017. Penggunaan Kitin Sebagai Alternatif Fase Diam Kromatografi Lapis Tipis dalam Praktikum Kimia Organik. *Jurnal Vidya Karya*. 1(32).
- Syamsudin, D., Ismiyanto, I., and Ngadiwiyana, N. 2018. Synthesis and Antibacterial Testing of Imina Derivative Compounds from Piperonal and Anilin. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 21(1): 44-48.
- Tanaka, K., Li, F., Morikawa, K., Nobukawa, T., and Kadota, S. 2011. Analysis of Biosynthetic Fluctuations of Cultured Taxus Seedling Using a Metabolomic Approach. *Phytochemistry*. 72(14): 1760-1766.
- Todar, K. 2012. *Bacterial Resistance to Antibiotics*. The Microbial World. Lectures in Microbiology. University of Wisconsin-Madison.
- Todar, K. 2006. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Tortora, G., Funke, B., and Case, C. 2010. *Microbiology: An Introduction*. Pearson Benjamin Cummings, San Fransisco. 554-579, 572-575.
- Trisia, A., Philyria, R., dan Toemon, A. N. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia Lam.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior jurnal*. 17(2): 136-143.
- Uddin, A. N., Hossain, F., Reza, A. A., Nasrin, M. S., and Alam, A. K. 2022. Traditional Uses, Pharmacological Activities, and Phytochemical

- Constituents of the Genus *Syzygium*: A review. *Food Sci. Nutr.* 10(6): 1789-1819.
- Utomo, R. S., Wibowo, M. A., Alimuddin, A. H., and Novrianto, A. 2018. Antibacterial Activity of N-Hexane Extracted of *Ploiarium Alternifolium* Leaf. *Orbital: Jurnal Ilmu dan Terapan Kimia.* 3(1).
- Valgas, C., Souza, S. M. D., Smania, E. F., and Smania Jr, A. 2007. Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products. *Brazilian Journal of Microbiology.* 38: 369-380.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., and Bezirtzoglou, E. 2021. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspective. *Microorganism ms.* 9(10): 2041.
- Widyawati, T., Yusof, N. A., Asmawi, M. Z., and Ahmad, M. 2015. Antihyperglycemic Effect of Methanol Extract of *Syzygium polyanthum* (Wight.) Leaf in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Nutrients.* 7(9): 7764-7780.
- Winarti, C., Yuliana, N. D., Spirawati, T., dan Broto, W. 2017. Ekstraksi Antimikroba dari Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Menggunakan Metode Dekoktasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan.* 6(3): 125-130.
- Wiradona, I., Mardiaty, E., dan Sariyem. 2015. Pengaruh Berkumur Ekstrak Daun Salam (*Eugenia Polyantha Wight*) Terhadap Pembentukan Plak Gigi. *JRK.* 4(2): 768-772.
- Yumita., Abd. Rahman. R., Indriani., dan Syaiful. B. 2019. Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Kulit Batang Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Kovalen.* 2477-5398.