




Antibacterial Test of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Extract on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Mouthwash

Elisabeth Carolina Pangestu , Samuel Budi Wardhana Kusuma

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Diterima : 19-09-2023

Disetujui : 20-10-2023

Dipublikasikan: 30-11-2023

Keywords:

antibakteri; ekstrak daun salam; infeksi; mouthwash

Abstrak

masyarakat. Pemanfaatan *mouthwash* ekstrak daun salam sebagai antibakteri mampu menekan pertumbuhan bakteri, sehingga kesehatan rongga mulut terjaga. Daun salam diekstrak menggunakan metode maserasi dengan beberapa jenis pelarut seperti etanol 96%, etil asetat, n-heksana dan kloroform dengan nilai rendemen sebesar 4,6%, 4%, 3,6%, dan 3,8%. Ekstrak akan melalui uji fitokimia, identifikasi menggunakan FTIR dan GC-MS serta uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* untuk mendapatkan ekstrak daun salam terbaik. Berdasarkan hasil analisis dengan GC-MS, pelarut etanol 96% mampu mengekstrak 21 senyawa metabolit sekunder, sedangkan pada pelarut lain hanya mampu mengekstrak 16 senyawa. Hasil uji antibakteri menunjukkan diameter zona hambat ekstrak pelarut etanol 96% dan etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 12 mm, sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* tidak muncul diameter zona hambat. Ekstrak daun salam pelarut etanol 96% dipilih sebagai bahan aktif pada sediaan *mouthwash* karena terkandung senyawa aktif antibakteri dari golongan alkaloid dan terpenoid. Hasil uji antibakteri terhadap sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam diperoleh diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 2 mm, sedangkan pada *Escherichia coli* tidak membentuk zona hambat. Hal ini disebabkan oleh penggunaan konsentrasi ekstrak daun salam yang rendah saat formulasi sediaan *mouthwash*.

Abstract

Oral infections caused by bacteria are a public health concern. The use of bay leaf extract mouthwash as an antibacterial can suppress bacterial growth so that oral health is maintained. The maceration method was used with different solvents, such as 96% ethanol, ethyl acetate, n-hexane, and chloroform, with yields of 4.6%, 4%, 3.6%, and 3.8%, respectively. The extract will go through phytochemical tests, identification using FTIR and GC-MS, as well as antibacterial tests against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria, to get the best bay leaf extract. Based on the results of the analysis using GC-MS, the 96% ethanol solvent was able to extract 21 secondary metabolite compounds, whereas other solvents were only able to extract 16 compounds. In the antibacterial test, the diameter of the zone of inhibition for 96% ethanol and ethyl acetate solvent extract against *Staphylococcus aureus* bacteria was 12 mm, but there was no diameter of inhibition for *Escherichia coli* bacteria. Bay leaf extract dissolved in 96% ethanol was chosen as the active ingredient in mouthwashes because it contains alkaloid and terpenoid compounds that kill bacteria. The results of the antibacterial test on the bay leaf extract mouthwash preparation showed that the diameter of the inhibition zone against *Staphylococcus aureus* bacteria was 2 mm, whereas *Escherichia coli* did not form an inhibition zone. This is caused by the use of a low concentration of bay leaf extract when formulating mouthwash preparations.

© 2023 Universitas Negeri Semarang

□ Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229

E-mail: elisabeth.carol62@students.unnes.ac.id

p-ISSN 2252-6951

e-ISSN 2502-6844

Pendahuluan

Infeksi yang diakibatkan oleh mikroba menjadi perhatian dalam kesehatan masyarakat. Antibakteri merupakan salah satu komponen dari antimikroba yang memiliki kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri sekaligus membunuh bakteri patogen penyebab infeksi Ming *et al* (2021). Jenis bakteri yang dapat ditemukan hidup dalam tubuh manusia, khususnya pada rongga mulut yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* McCormack *et al* (2015) dan bakteri *Escherichia coli* Moloji *et al* (2021). Dalam menangani permasalahan kesehatan mulut akibat bakteri, Rumah Sakit di Indonesia cenderung menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak didasari pada indikasi mampu memicu resistensi oleh bakteri. Daun salam dikembangkan dalam penelitian ini karena memiliki zat antibakteri dan berpotensi sebagai antibiotik alami dalam mengobati infeksi di rongga mulut.

Tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dikenal sebagai tanaman semak cemara liar yang termasuk ke dalam famili Myrtaceae yang mudah ditemukan di Indonesia Dewijanti *et al* (2019). Bagian dari tumbuhan salam yang dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia yaitu daun. Daun salam sering digunakan masyarakat sebagai bumbu masak dengan tujuan untuk meningkatkan cita rasa dan penambah aroma pada masakan. Tidak hanya sebagai bumbu masak, daun salam juga digunakan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti hipertensi, diabetes melitus, gangguan pada lambung, asam urat dan radang sendi Widyawati *et al* (2015).

Kandungan kimia di dalam daun salam antara lain alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin dan tanin memiliki aktivitas antibakteri Kilis *et al* (2020). Menurut Liu *et al* (2016), alkaloid dapat dikembangkan sebagai pengobatan terhadap infeksi karena memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Tammi *et al* (2018), ekstrak daun salam pelarut etanol dengan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai rata-rata diameter zona hambat berurutan sebesar 18,75 mm; 20 mm; 20 mm; 20,25 mm; dan 22,75 mm. Berdasarkan penelitian Manurung *et al* (2022), ekstrak daun salam yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% lalu dibuat variasi konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, lalu diuji daya hambat menggunakan metode difusi hingga diperoleh diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* masing-masing sebesar 9,8 mm; 15,2 mm; 19,2 mm; dan 21,6 mm.

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan dalam rongga mulut. Pada jumlah normal, bakteri ini tidak menyebabkan suatu penyakit. Namun jika jumlahnya melebihi kadar normal, bakteri tersebut dapat berubah menjadi patogen hingga menimbulkan infeksi. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan tanda-tanda seperti nekrosis, peradangan dan pembentukan abses Risky *et al* (2019). Berbeda dengan bakteri *S. aureus*, bakteri *Escherichia coli* menjadi penyebab terbentuknya plak gigi. Menurut Kaligis *et al* (2017), membersihkan rongga mulut dengan bantuan obat kumur dapat membantu mengurangi plak gigi. Bakteri *Escherichia coli* ditemukan dalam rongga mulut akibat mengonsumsi makanan maupun menggunakan alat makan yang terkontaminasi oleh bakteri tersebut. Bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi nosokomial Baharutan *et al* (2015).

Berdasarkan penelitian terkait uji antibakteri ekstrak daun salam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun salam mengandung senyawa aktif yang bersifat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri yang dimiliki ekstrak daun salam dapat dijadikan sebagai bahan aktif dalam sediaan *mouthwash*. *Mouthwash* dipilih karena mampu menekan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* penyebab infeksi di rongga mulut. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rahayu *et al* (2022), sediaan *mouthwash* yang berisi bahan-bahan seperti ekstrak daun salam (ekstraksi dengan pelarut etanol 96%) dengan variasi konsentrasi 2,5%; 5%; dan 7,5%, *peppermint oil*, sorbitol, natrium benzoat, gliserin dan aquadest dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan diameter zona hambat yang diperoleh sebesar 7,5 mm; 8,5 mm; dan 9,17 mm. Oleh sebab itu, dalam penelitian ini dilakukan uji antibakteri terhadap ekstrak daun salam dengan variasi pelarut diantaranya etanol 96%, etil asetat, n-heksana, dan kloroform terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstrak daun salam yang menghasilkan zona hambat terbesar akan dijadikan sebagai bahan aktif dalam sediaan *mouthwash*. Sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam akan melalui uji daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang merupakan bakteri patogen penyebab infeksi di rongga mulut. Uji pH terhadap sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam bertujuan untuk memenuhi standar pH *mouthwash* herbal yang berkisar 5,0-7,0 Hidayanto *et al* (2017).

Metode

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *blender* (Tokebi), necara analitik (Ohaus Analytical Plus), *rotary evaporator* (Eyela N1300 SWB), *waterbath*, inkubator, FTIR spectrophotometer (Alpha II Bruker), GC-MS spectrophotometer (Agilent Technologies 7890B series), autoklaf, *hotplate* (Thermo), *nephelometer* (BD PhoenixSpec™), *laminar air flow*, botol vial 500 mL, gelas kimia 100 mL (Iwaki), spatula, pipet volume 5 mL (Iwaki), pipet ukur 2 mL (Iwaki), pipet tetes, tabung reaksi (Iwaki), erlenmeyer 100 mL (Iwaki), mortar dan alu, gelas arloji, labu ukur 100 mL (Iwaki), corong kaca (Herma), indikator pH universal (Macherey Nagel REF 92110), dan *vortex mixer* (Scilogex). Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah serbuk simplisia daun salam, etanol 96% (Merck p.a), etil asetat (Merck p.a), n-heksana (Merck p.a), kloroform (Merck p.a), kloroform-amoniak, larutan H₂SO₄ 2N, reagen Dragendorff, aquadest, serbuk norit, larutan HCl pekat, serbuk Mg (Merck), kertas saring No. 41 dan 42 (Whatman), bakteri uji *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli*, media agar *Brain Heart Broth Infusion* (BHIB) Merck, media *Braid Parker Agar* (BPA) Merck, dan media *Nutrient Agar* (NA) Merck, larutan NaCl 0,9% steril, kertas cakram 6 mm (Macherey Nagel MN 827 ATD), antibiotik Eritromisin 15 µg/mL (Oxoid™), gliserin (*Vegetable Glycerine*), xylitol (Soho), peppermint oil, PEG-40 HCO, natrium benzoat.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun salam, seperti etanol 96%, etil asetat, n-heksana dan kloroform serta bahan-bahan dalam sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas senyawa antibakteri pada masing-masing ekstrak daun salam serta ekstrak yang terkandung dalam sediaan *mouthwash* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Variabel terikat lainnya yaitu konsentrasi dari setiap bahan yang ditambahkan saat pembuatan sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam. variabel terkendali dalam penelitian ini antara lain bobot serbuk simplisia daun salam, metode ekstraksi, perbandingan antara serbuk simplisia dengan volume pelarut dan nilai pH sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam.

Penelitian ini diawali dengan mencuci daun salam segar menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada daun, kemudian daun salam dijemur di bawah sinar matahari selama 3 hari hingga kering. Daun salam kering selanjutnya digiling hingga diperoleh serbuk simplisia daun salam Kusuma *et al* (2019).

Langkah berikutnya yaitu ekstraksi serbuk simplisia daun salam dengan metode maserasi menggunakan variasi pelarut yaitu etanol 96%, etil asetat, n-heksana dan kloroform. Perbandingan antara serbuk simplisia daun salam dengan pelarut sebesar 1:10 dengan waktu perendaman selama 72 jam Widiastuti *et al* (2023). Hasil maserasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu di bawah 50°C hingga diperoleh ekstrak kental Haerussana *et al* (2021). Hasil evaporasi selanjutnya dianalisa meliputi rendemen, uji fitokimia senyawa aktif golongan alkaloid, terpenoid dan flavonoid Ayu & Wardhani (2015), serta identifikasi menggunakan instrumen spektrofotometer FTIR dan GC-MS Istiqomah & Ayuska (2020).

Uji daya hambat antibakteri ekstrak daun salam variasi pelarut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram. Uji aktivitas antibakteri diawali dengan inokulasi kultur murni bakteri ke dalam media BHIB Umar *et al* (2015), kemudian subkultur dibuat dengan menggunakan media selektif BPA untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan NA untuk bakteri *Escherichia coli*. Amati karakteristik koloni yang tumbuh pada masing-masing media. Suspensi bakteri dibuat dengan mengambil bakteri yang tumbuh pada media BPA dan NA menggunakan jarum ose, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril berisi 2-3 mL larutan NaCl 0,9% steril lalu uji tingkat kekeruhan menggunakan instrumen *nephelometer* hingga diperoleh kekeruhan yang setara standar McFarland 0,5 Ngajow *et al* (2013).

Sebanyak 1 mL suspensi bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri steril, lalu tambahkan media NA cair bersuhu 45-50°C sebanyak 15-20 mL, kemudian homogenkan dan tunggu sampai media NA memadat. Kertas cakram berdiameter 6 mm direndam pada ekstrak daun salam selama 15 menit, sementara siapkan antibiotik Eritromisin 15 µg/mL sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif. Kertas cakram selanjutnya diletakkan pada permukaan media NA dan atur posisi peletakannya. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan amati zona bening yang terbentuk di sekitar cakram Juariah (2021).

Ekstrak daun salam yang mengandung senyawa aktif berdasarkan hasil uji fitokimia dan identifikasi menggunakan FTIR dan GC-MS, serta menghasilkan zona bening terbesar pada uji daya hambat antibakteri akan dipilih sebagai bahan aktif yang ditambahkan dalam sediaan *mouthwash*. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan *mouthwash* diantaranya 2 gram ekstrak daun salam, 0,4 mL peppermint oil, PEG-40 HCO sebanyak 0,2 mL, 5 mL gliserin, natrium benzoat sebanyak 0,1 gram, xylitol sebanyak 0,6 gram dan aquadest yang ditambahkan hingga didapatkan volume akhir sebesar 100 mL Rahayu *et al* (2022). Sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam yang terbentuk akan melalui uji daya hambat dengan bakteri dan metode yang sama

seperti uji daya hambat antibakteri pada ekstrak daun salam. Uji pH dilakukan terhadap sediaan *mouthwash* untuk memperoleh pH yang sesuai standar Permatasari *et al* (2022).

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) meliputi beberapa tahapan yaitu preparasi sampel, proses ekstraksi dan proses pemekatan ekstrak. Rendemen ekstrak daun salam terbesar didapatkan dari pelarut etanol 96% sebesar 4,6% dengan warna ekstrak hitam kecoklatan, sedangkan rendemen yang dihasilkan dari pelarut etil asetat, n-heksana dan kloroform masing-masing sebesar 4%, 3,6%, dan 3,8% dengan warna ekstrak coklat kehijauan. Dari hasil ini menunjukkan bahwa serbuk simplisia dan salam yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% akan menghasilkan nilai rendemen terbesar. Hasil ini sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan Suhendra *et al* (2019) yang menyatakan bahwa etanol 96% mampu melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran rendah hingga tinggi. Etanol 96% merupakan jenis pelarut yang bersifat universal dan mampu mengekstrak senyawa metabolit sekunder baik yang bersifat polar maupun non polar. Hasil uji fitokimia ekstrak daun salam variasi pelarut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak daun salam variasi pelarut

Uji Golongan	Ekstrak Etanol 96%	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Kloroform	Perubahan warna yang terjadi
Alkaloid	Negatif (-)	Positif (+)	Negatif (-)	Positif (+)	Endapan merah-jingga
Terpenoid	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)	Larutan berwarna merah-ungu
Flavonoid	Positif (+)	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)	Timbulnya warna merah

Keterangan:

Positif (+) = mengandung golongan senyawa

Negatif (-) = tidak mengandung golongan senyawa

Pada **Tabel 1**, secara umum ekstrak daun salam mengandung golongan senyawa alkaloid, terpenoid, dan flavonoid. Namun, ketiga golongan senyawa tersebut dapat teridentifikasi hanya pada ekstrak daun salam pelarut etil asetat. Hal ini dapat terjadi karena etil asetat merupakan pelarut semi polar. Menurut Putri *et al* (2013), alkaloid dengan sifat semi polar, terpenoid yang bersifat non polar, dan flavonoid yang memiliki sifat polar akan mudah ditarik dari serbuk simplisia daun salam oleh etil asetat karena memiliki rentang polaritas yang lebar.

Untuk memperkuat hasil skrining fitokimia, maka dilakukan identifikasi gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FTIR dan identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun salam variasi pelarut menggunakan GC-MS. Hasil identifikasi ekstrak daun salam variasi pelarut menggunakan spektrofotometer FTIR dengan bilangan gelombang 3500-500 cm^{-1} disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil spektra FTIR ekstrak daun salam variasi pelarut

	Ekstrak Etanol 96%	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Kloroform	Gugus Fungsi
	3320,95	-	-	-	Peregangan O-H
Bilangan Gelombang (cm^{-1})	2972,82	2984,50	2957,53	-	Peregangan C-H
	-	1736,46	-	-	Peregangan C=O
	1418,23	1372,47	1378,48	-	Pembengkokan H-C-H
	1087,41	1043,6	-	1214,11	Peregangan C-O-C

Pada **Tabel 2** menunjukkan hasil adanya gugus fungsi O-H, C-H, H-C-H, dan C-O-C pada ekstrak daun salam pelarut etanol 96%, sedangkan pada ekstrak daun salam pelarut etil asetat menunjukkan gugus fungsi C-H, C=O, H-C-H, dan C-O yang mengindikasikan adanya golongan senyawa alkaloid, terpenoid, dan flavonoid. Namun pada identifikasi ini tidak mendeteksi adanya keberadaan gugus fungsi N-H yang menjadi karakteristik dalam struktur golongan senyawa alkaloid. Berdasarkan hasil karakteristik ekstrak daun salam pelarut etil asetat yang dilakukan Ferdinal *et al* (2023) menggunakan spektroskopi FTIR, menunjukkan

adanya peregangan O-H pada rentang bilangan gelombang 3500-3200 cm^{-1} . Selain itu, terdapat pula peregangan gugus fungsi C-H pada bilangan gelombang 2933,78 cm^{-1} , C=C pada bilangan gelombang 1663,63 cm^{-1} dan C-O alkohol pada bilangan gelombang 1047,36 cm^{-1} . Adanya pembengkokan gugus fungsi C-H dari CH_2 pada bilangan gelombang 1464,00 cm^{-1} dan C-H dari CH_3 pada bilangan gelombang 1376,23 cm^{-1} menunjukkan serapan khas yang dimiliki senyawa terpenoid. Hasil identifikasi ekstrak daun salam variasi pelarut menggunakan GC-MS disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Senyawa kimia ekstrak daun salam variasi pelarut

Ekstrak Daun Salam	Nama Senyawa	Area (%)
Pelarut Etanol 96%	Alkaloid=Quinoline,1,2,3,4-tetrahydro-1-((2-phenylcyclopropyl)sulfonyl)-,trans-	0,49
	Terpenoid = 1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl- ; Squalene	18,62 ; 31,15
	Vitamin E	2,53
Pelarut Etil asetat	Terpenoid = 1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl- ; Squalene	14,87 ; 53,31
	Vitamin E	4,10
Pelarut n-heksana	Terpenoid = 1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl- ; Squalene	15,55 ; 60,77
	Vitamin E	3,73
Pelarut Kloroform	Terpenoid = 1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl- ; Squalene	22,51 ; 36,54

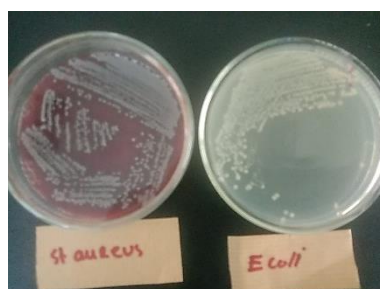
Berdasarkan identifikasi menggunakan instrumen GC-MS pada **Tabel 3**, ditemukan senyawa kimia 1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl- dan Squalene yang merupakan senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid pada keempat ekstrak daun salam. Pelarut etanol 96% mampu mengekstrak golongan senyawa alkaloid dan terpenoid, sehingga dapat disimpulkan bahwa pelarut etanol 96% merupakan pelarut terbaik yang mampu menarik golongan senyawa alkaloid, terpenoid dan flavonoid pada daun salam. Hal ini diperkuat dengan perolehan kromatogram yang dimana ekstrak daun salam pelarut etanol 96% diperoleh 21 puncak utama, sedangkan ekstrak daun salam pelarut etil asetat, n-heksana, kloroform diperoleh 16 puncak utama. Komponen senyawa kimia ekstrak daun salam variasi pelarut disajikan pada Tabel 4.

1

Tabel 4. Komponen senyawa kimia utama ekstrak daun salam

Nama Senyawa	Golongan Senyawa	Ekstrak Daun Salam Variasi Pelarut			
		Etanol 96%	Etil asetat	n-heksana	Kloroform
1,2-Diazaspiro(2.5)octane		+	-	-	-
Pentanoic acid, ethyl ester	Asam lemak	+	-	-	-
1-Methoxy-1-methyl-1-silacyclohexane		+	-	-	-
.alpha.-Humulene	Terpenoid	+	-	-	+
2-Isopropenyl-4a,8-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene		+	-	-	+
.beta.-Selinene	Terpenoid	+	-	-	+
7-epi-.alpha.-selinene	Terpenoid	+	-	-	-
1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl-	Terpenoid	+	+	+	+
Dodecanoic acid (Asam laurat)	Asam lemak	+	-	-	-
(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-dien		+	-	-	-
2-Cyclohexen-1-one,4-(3-hydroxy-1-butenyl)-3,5,5-trimethyl-.beta.-Selinene		+	-	-	-
trans-Farnesol	Terpenoid	+	+	+	+
Neophytadiene	Terpenoid	+	+	+	+
Farnesyl Acetate	Terpenoid	+	+	-	+
(3S*,5R*,6R*,7E,9.xi.)-3,6-Epoxy-7-megastigmene-5,9-diol		+	-	-	-
n-Hexadecanoic acid	Asam lemak	+	+	+	+
Quinoline,1,2,3,4-tetrahydro-1-((2-phenylcyclopropyl)sulfonyl)-,trans-	Alkaloid	+	-	-	-
Squalene	Terpenoid	+	+	+	+
.beta.-Tocopherol	Terpenoid	+	+	+	+
Eicosane		+	+	+	-
Vitamin E		+	+	+	-

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun salam variasi pelarut dilakukan terhadap 2 bakteri yang berasal dari jenis gram yang berbeda, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan teknik difusi cakram dengan metode tuang. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Eritromisin 15 µg/mL dan kontrol negatif yaitu aquadest. Diawali dengan menumbuhkan bakteri pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) yang mengandung karbohidrat dan protein yang cocok sebagai media pertumbuhan bakteri jenis aerob dan anaerob Hayati *et al* (2019). Bakteri yang telah tumbuh di media BHIB selanjutnya diinokulasi pada media selektif, seperti media *Braid Parker Agar* (BPA) untuk bakteri *S.aureus* dan media *Nutrient Agar* (NA) untuk bakteri *E.coli*. Hasil penanaman koloni bakteri disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil penanaman koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media BPA dan *Escherichia coli* pada media NA

Pada **Gambar 1**, koloni bakteri *S.aureus* yang tumbuh pada media BPA menunjukkan karakteristik berupa koloni yang berwarna abu-abu, dikelilingi oleh zona bening dan berbentuk bulat. Sedangkan koloni bakteri *E.coli* yang tumbuh pada media NA menunjukkan karakteristik berupa koloni berwarna putih dan berbentuk bulat. Hasil penanaman ini telah sesuai dengan penelitian yang dilakukan Amirah *et al* (2022) dan Gufron *et al* (2022).

Pembuatan suspensi bakteri dengan cara mengambil koloni bakteri yang tumbuh pada media BPA dan NA, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 2-3 mL larutan NaCl 0,9%. Menurut Azizah *et al* (2020), penggunaan larutan NaCl 0,9% steril bertujuan untuk menjaga keseimbangan ion sel bakteri, agar bakteri dapat tetap hidup. Selain itu, larutan NaCl 0,9% juga berfungsi sebagai pengencer bakteri, sehingga jumlah sel bakteri yang terkandung dapat diperkirakan sekaligus memudahkan dalam pencampuran dengan media agar pada uji antibakteri. Tingkat kekeruhan suspensi bakteri disetarakan dengan standar 0,5 McFarland yang mempunyai populasi bakteri sebesar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL yang diukur menggunakan instrumen *nephelometer*. *Nephelometer* merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur kekeruhan suspensi bakteri dengan keunggulan konsentrasi suspensi bakteri yang didapatkan akan lebih akurat.

Hasil uji daya hambat antibakteri pada ekstrak daun salam variasi konsentrasi terhadap bakteri *S.aureus* menunjukkan hasil yang berbeda jika dibandingkan terhadap bakteri *E.coli*. Hasil uji antibakteri ekstrak daun salam variasi pelarut, kontrol positif dan kontrol negatif terhadap bakteri *S.aureus* serta *E.coli* disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Diameter zona hambat ekstrak daun salam variasi pelarut, antibiotik Eritromisin 15 µg/mL dan aquadest

Ekstrak Daun Salam Variasi Pelarut	Diameter Zona Hambat (mm)		Interpretasi
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
Etanol 96%	12	0	Resisten
Etil asetat	12	0	Resisten
n-heksana	8,6	0	Resisten
Kloroform	0	0	Resisten
Kontrol positif	21	20	Sensitif
Kontrol negatif	0	0	Resisten

Berdasarkan uji antibakteri ekstrak daun salam variasi pelarut memberikan hasil bahwa ekstrak daun salam pelarut etanol 96%, etil asetat dan n-heksana memiliki diameter zona hambat yang cenderung kecil pada bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi pada pelarut kloroform tidak memiliki diameter zona hambat. Namun pada bakteri *Escherichia coli*, keempat ekstrak tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini dapat terjadi karena lapisan lipopolisakarida yang dimiliki bakteri *E.coli* yang mampu menghambat senyawa aktif antibakteri dalam menembus pertahanan dinding sel Bertani & Ruiz (2018).

Dari hasil skrining fitokimia, identifikasi dengan instrumen FTIR dan GC-MS serta uji daya hambat antibakteri yang telah dilakukan, maka dipilihlah ekstrak daun salam yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% sebagai bahan aktif yang ditambahkan pada formulasi sediaan *mouthwash*. Pembuatan sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam berdasarkan dengan modifikasi formulasi yang dikembangkan oleh Rahayu *et al* (2022), Rahman *et al* (2021) dan Rachmawati *et al* (2022). Formulasi sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam disajikan pada Tabel 6 dan sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam disajikan pada Gambar 2.

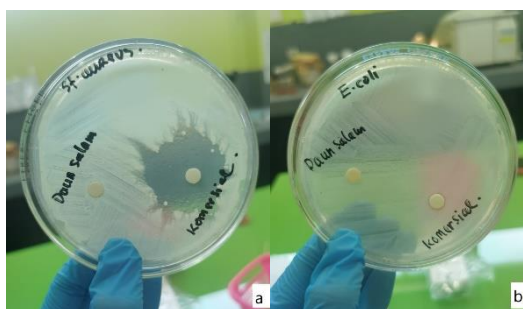
Tabel 6. Formulasi sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam

Bahan	Satuan	Fungsi Bahan	Jumlah
Ekstrak daun salam pelarut etanol 96%	gram	Bahan aktif	2
Peppermint oil	mL	Pemberi aroma	0,4
PEG-40	mL	Surfaktan	0,2
Gliserin	mL	Humektan	5
Xylitol	gram	Pemberi rasa	0,6
Natrium benzoat	gram	Pengawet	0,1
Aquadest	mL	Pelarut	Ditambahkan sampai 100 mL



Gambar 2. Sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam

Sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam yang telah terbentuk akan melalui uji daya hambat antibakteri dengan tujuan untuk mengetahui apakah produk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada uji ini digunakan *mouthwash* komersial dari salah satu merek yang beredar di pasaran dengan tujuan sebagai pembanding. Hasil uji daya hambat antibakteri sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam dan *mouthwash* komersial disajikan pada Gambar 3. dan Tabel 7.



Gambar 3. Hasil uji antibakteri terhadap bakteri (a) *Staphylococcus aureus* dan (b) *Escherichia coli*

Tabel 7. Diameter zona hambat *mouthwash*

Mouthwash	Diameter Zona Hambat (mm)		Interpretasi
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
Mouthwash ekstrak daun salam	2	0	Resisten
Mouthwash komersial	31,3	3	Sensitif dan Resisten

Diameter zona hambat yang dihasilkan kedua *mouthwash* terhadap bakteri *S.aureus* berbanding terbalik dengan hasil yang ditunjukkan terhadap bakteri *E.coli*. Hal ini disebabkan karena struktur dinding sel yang dimiliki bakteri *E.coli* cenderung lebih kompleks jika dibandingkan dengan bakteri *S.aureus*, sehingga senyawa aktif antibakteri yang terkandung pada *mouthwash* tidak dapat menembus dinding sel bakteri *E.coli* Handrianto (2016). Menurut Karlina *et al* (2013), diperlukan konsentrasi ekstrak daun salam yang tinggi pada formulasi *mouthwash* untuk menghasilkan daya hambat yang besar serta efek antibakteri pada bakteri *E.coli* jika dibandingkan terhadap *S.aureus*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rahayu *et al* (2022) yaitu uji antibakteri *mouthwash* ekstrak daun salam terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan bakteri gram positif menunjukkan hasil yang resisten dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 8,39 mm.

Uji pH dilakukan terhadap sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam dengan tujuan untuk memperoleh nilai pH yang sesuai standar pH *mouthwash* herbal yaitu sebesar 5,0-7,0. Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dapat hidup pada rentang pH 6,0-7,5, sehingga pH dari *mouthwash* harus berada di rentang pH pertumbuhan bakteri (Yelfi *et al.*, 2022). Nilai pH yang diperoleh dari kedua jenis *mouthwash* yang diuji yaitu sebesar 5, sehingga pH *mouthwash* ekstrak daun salam telah memenuhi standar dan sesuai dengan nilai pH yang dimiliki *mouthwash* komersial. Uji pH *mouthwash* disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil pH sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam dan *mouthwash* komersial

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa persentase rendemen terbesar dihasilkan dari pelarut etanol 96% yaitu sebesar 4,6%. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan instrumen spektrofotometer FTIR dan GC-MS, ekstrak daun salam pelarut etanol 96% teridentifikasi mengandung 21 senyawa, sedangkan pada ekstrak dengan 3 pelarut lainnya hanya mengandung 16 senyawa. Ekstrak daun salam pelarut etanol 96% dan etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai diameter zona hambat sebesar 12 mm, namun tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal yang sama juga terjadi pada hasil uji daya hambat antibakteri sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 2 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil ini dipengaruhi oleh perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki *Staphylococcus aureus* (merupakan bakteri gram positif) dengan *Escherichia coli* (merupakan bakteri gram negatif). Oleh karena itu, diperlukan ekstrak daun salam dengan konsentrasi tinggi untuk menembus dinding sel bakteri gram negatif sehingga senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun salam dapat menghambat maupun membunuh bakteri penyebab infeksi rongga mulut secara maksimal. Berdasarkan hasil uji pH menunjukkan bahwa pH sediaan *mouthwash* ekstrak daun salam telah memenuhi standar *mouthwash* herbal berdasarkan dengan perbandingan pH *mouthwash* komersial.

Daftar Referensi

- Amirah, A., Sahputri, J., Zubir, Z., & Khairunnisa, C. (2022). Deteksi Tingkat Cemaran Bakteri *Staphylococcus Aureus* pada Daging Ayam Broiler yang Dijual di Pasar Tradisional Kota Lhokseumawe. *COMSERVA Indonesian Journal of Community Services and Development*, 1(12). <https://doi.org/10.36418/comserva.v1i12.183>
- Ayu, R., & Wardhani, P. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Bakteri. *IJCS - Indonesia Journal of Chemical Science*, 4(1).
- Azizah, M., Lingga, L. S., & Rikmasari, Y. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Madu Hutan Terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Penyakit Kulit. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(1). <https://doi.org/10.56064/jps.v22i1.547>
- Baharutan, A., Rares, F. E. S., & Soeliongan, S. (2015). Pola Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial pada Ruang Perawatan Intensif Anak di Blu RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik*, 3(1). <https://doi.org/10.35790/ebm.3.1.2015.7417>
- Bertani, B., & Ruiz, N. (2018). Function and Biogenesis of Lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*, 8(1). <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0001-2018>
- Dewijanti, I. D., Mangunwardoyo, W., Artanti, N., & Hanafi, M. (2019). Bioactivities of Salam leaf (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp). *AIP Conference Proceedings*, 2168. <https://doi.org/10.1063/1.5132499>

- Ferdinal, N., Fadli, M., Septiardi, R., & Santoni, A. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak Etil Asetat Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) serta Uji Sitotoksik Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Kimia Unand*, 12(1), 1–7. <http://jku.fmipa.unand.ac.id/index.php/jku/article/view/26/23>
- Gufron, G. N. R., Pestariati, & Syamsul Arifin. (2022). Ability Analysis Of Waste Milkfish (*Chanos chanos*) As Alternative Medium Of Nutrient Agar on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Growth. *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 5(2). <https://doi.org/10.21070/medicra.v5i2.1646>
- Haerussana, A. N. E. M., Dwiastuti, W. P., & Sukowati, C. A. (2021). Antibacterial Activity of Salam (*Syzygium polyanthum*) Leaves 70% Ethanolic Extract on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 5(4). <https://doi.org/10.25026/jtpc.v5i4.352>
- Handrianto, P. (2016). Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah *Zingiber officinale* var. *Rubrum* Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Research and Technology*, 2(1), 1–4.
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2). <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>
- Hidayanto, A., Shuria Manikam, A., Pertiwi, W. S., Harismah, K., Studi, P., Kimia, T., & Surakarta, U. M. (2017). Formulasi Obat Kumur Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L) dengan Pemanis Alami Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *University Research Colloquium*, 189-194.
- Istiqomah, H., & Ayuska, A. (2020). Karakterisasi Minyak Atsiri Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) Asal Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(3).
- Juariah, S. (2021). Media Alternatif Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dari Biji Durian (*Durio zibethinus* murr). *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, 9(1). <https://doi.org/10.33992/m.v9i1.1400>
- Kaligis, F. R., Fatimawali, & Lolo, W. A. (2017). Identifikasi Bakteri pada Plak Gigi Pasien di Puskesmas Bahu dan Uji Resistensi Terhadap Antibiotik Kloramfenikol dan Linkosamida (Klindamisin). *Pharmakon*, 6(3).
- Karlina, C. Y., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*, 2(1), 87-93.
- Kilis, T. N. I. M., Karauwan, F. A., Sambou, C. N., & Lengkey, Y. K. (2020). Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Salam *Syzygium polyanthum* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 3(1). <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i1.255>
- Kusuma, A. G., Suwanti, L. T., & Handijatno, D. (2019). The effect of bay leaves (*Syzygium polyanthum*) administration towards the final weight and carcass percentage of laserpuncture-induced Male hybrid ducks. *Journal of Global Pharma Technology*, 11(4), 327-332.
- Liu, L., Song, C. W., Khan, A., Li, X. N., Yang, X. W., Cheng, G. G., Liu, Y. P., & Luo, X. D. (2016). A potent antibacterial indole alkaloid from *Psychotria pilifera*. In *Journal of Asian Natural Products Research* (Vol. 18, Issue 8). <https://doi.org/10.1080/10286020.2016.1158710>
- Manurung, M. E. M., Hepni, H., (2022). Uji Potensial Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Seminar Nasional Multi*, 117–127. <http://jurnal.abulyatama.ac.id/index.php/semduinaya/article/view/3391>

- McCormack, M. G., Smith, A. J., Akram, A. N., Jackson, M., Robertson, D., & Edwards, G. (2015). *Staphylococcus aureus* and the oral cavity: An overlooked source of carriage and infection? *American Journal of Infection Control*, 43(1). <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2014.09.015>
- Ming, Z., Han, L., Bao, M., Zhu, H., Qiang, S., Xue, S., & Liu, W. (2021). Living Bacterial Hydrogels for Accelerated Infected Wound Healing. *Advanced Science*, 8(24). <https://doi.org/10.1002/advs.202102545>
- Moloi, M., Lenetha, G. G., & Malebo, N. J. (2021). Microbial levels on street foods and food preparation surfaces in Mangaung metropolitan municipality. *Health SA Gesondheid*, 26. <https://doi.org/10.4102/hsag.v26i0.1407>
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2). <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
- Permatasari, A. S., Susilowati, D., & Endrawati, S. (2022). Uji aktivitas antibakteri sediaan obat kumur infusa daun salam (*Syzygium polyanthum* W.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal on Medical Science*, 9(1).
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining fitokimia ekstrak etik asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Journal Pharmacon*, 09(4), 56-60.
- Rachmawati, N., Ramayani, S. L., & Pradana, R. C. (2022). Formulasi dan Uji Stabilitas Obat Kumur Ekstrak Etanol 70% Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Jamu Kusuma*, 2(2). <https://doi.org/10.37341/jurnaljamukusuma.v2i2.30>
- Rahayu, Y. P., Sutikno, & Sirait, U. S. (2022). Formulasi Sediaan Obat Kumur (Mouthwash) Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dan Uji Antibakterinya Terhadap *Streptococcus mutans* Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian*, 5(1), 370-379.
- Rahman, S., Ariastuti, R., & Ahwan, A. (2021). Formulation of Mouthwash Preparations Ethanol Extract of Coffee Beans Roasted Robusta (*Coffea canephora*) and Effectiveness Test on Bacteria *Streptococcus mutans*. *Journal of Nutraceuticals and Herbal Medicine*, 4(1). <https://doi.org/10.23917/jnhm.v4i1.15670>
- Risky, Y. T., Agrijanti, A., & Inayati, N. (2019). Uji Screening Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Menggunakan Antibiotik Cefoxitin (fox) 30 µg Pada Pasien Penderita Abses Gigi di Klinik BPJS Mataram. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(2). <https://doi.org/10.32807/jambs.v6i2.140>
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1). <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i01.p04>
- Tammi, A., Apriliana, E., Sholeha, T. U., & Ramadhian, M. R. (2018). Potensi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Journal Agromedicine Unila*, 5(2), 562-566.
- Umar, D., Basheer, B., Husain, A., Baroudi, K., Ahamed, F., & Kumar, A. (2015). Evaluation of bacterial contamination in a clinical environment. *Journal of International Oral Health : JIOH*, 7(1).

- Widiastuti, T. C., Rahayu, T. P., Lestari, A., & Kinanti, A. P. (2023). Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Terstandar Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Walp.) dan Daun Ganitri (*Elaeocarpus ganitri* Roxb.) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Streptozotosin. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 8(1). <https://doi.org/10.20961/jpscr.v8i1.64765>
- Widyawati, T., Yusoff, N. A., Asmawi, M. Z., & Ahmad, M. (2015). Antihyperglycemic effect of methanol extract of *Syzygium polyanthum* (Wight.) leaf in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrients*, 7(9). <https://doi.org/10.3390/nu7095365>
- Yelfi, Y., Susilo, H., & Kurnia, N. M. (2022). Mouthwash of *Amaranthus hybridus* L. Leaf Extract With Ethyl Acetate As a *Streptococcus mutans* Antibacterial. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 5(1). <https://doi.org/10.29313/jiff.v5i1.8379>