

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI n-HEKSAN,
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*
[Wight.] Walp) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*
MENGUNAKAN METODE DIFUSI CAKRAM**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACTS AND n-HEXANE
FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION AND WATER FRACTION
OF BAY LEAVES (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp TO *Salmonella*
typhi BACTERIA USING DISC DIFFUSION METHOD**

SKRIPSI



Oleh:

MAHANANI EKA BARATA

4171035

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI n-HEKSAN,
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*
[Wight.] Walp) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*
MENGUNAKAN METODE DIFUSI CAKRAM**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACTS AND n-HEXANE
FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION AND WATER FRACTION
OF BAY LEAVES (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp TO *Salmonella*
typhi BACTERIA USING DISC DIFFUSION METHOD**

SKRIPSI



Oleh:

MAHANANI EKA BARATA

4171035

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI n-HEKSAN,
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*
[Wight.] Walp) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*
MENGUNAKAN METODE DIFUSI CAKRAM**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACTS AND n-HEXANE
FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION AND WATER FRACTION
OF BAY LEAVES (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp TO *Salmonella*
typhi BACTERIA USING DISC DIFFUSION METHOD**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana
Farmasi (S. Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu
Kesehatan Nasional di Surakarta**

Oleh :

**MAHANANI EKA BARATA
4171035**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI n-HEKSAN,
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*
[Wight.] Walp) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*
MENGUNAKAN METODE DIFUSI CAKRAM**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACTS AND n-HEXANE
FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION AND WATER FRACTION
OF BAY LEAVES (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp TO *Salmonella*
typhi BACTERIA USING DISC DIFFUSION METHOD**

Oleh:

**MAHANANI EKA BARATA
4171035**

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada Tanggal : 01 September 2021

Pembimbing Utama



apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc

Pembimbing Pendamping



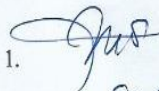

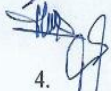

apt. Diah Pratimasari, M.Farm

Mengetahui,
**Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional**


apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc

Tim Penguji

- | | |
|--|-----------------|
| 1. apt. Novena Yety L., S.Farm., M.Sc | Ketua Penguji |
| 2. Dr. Didik Wahyudi, M. Si | Anggota Penguji |
| 3. apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc | Anggota Penguji |
| 4. apt. Diah Pratimasari, M.Farm | Anggota Penguji |

- | | |
|----|---|
| 1. |  |
| 2. |  |
| 3. |  |
| 4. |  |

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Sesungguhnya bersama kesulitan pasti ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain)”

(QS. Al-Insyirah : 6-7).

“Pandanglah hari ini. Kemarin adalah mimpi. Dan esok hari hanyalah sebuah visi. Tetapi, hari ini yang sungguh nyata. Menjadikan kemarin sebagai mimpi bahagia, dan setiap hari esok sebagai visi harapan”.

(Alexander Pope)

Kupersembahkan kepada Allah SWT atas segala Nikmat, Rahmat serta Hidayah-Nya sehingga memberikan kemudahan dan kelancaran dalam penyusunan skripsi ini dengan baik dan lancar hingga selesai serta Nabi Muhammad SAW sebagai panutan umat Muslim yang penuh dengan kemuliaan dan ketaatan kepada Allah SWT memberikan motivasi dalam beribadah kepada Allah SWT

Kedua Orang tua ku tersayang yang selalu memberikan ketenangan, kenyamanan, motivasi, doa serta mengisihkan finansialnya, sehingga aku bisa menyelesaikan skripsi ku

Kedua adikku tercinta Rasya Maulana Barata dan Arissa Azra Barata serta keluarga besar yang selalu memberikan semangat, nasihat dalam memberikan dukungan yang terbaik untuk menyelesaikan skripsi

Teman-teman ku angkatan 2017 yang selalu memberikan semangat serta motivasi dalam menyelesaikan skripsi.

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 16 Agustus 2021

Peneliti



(Mahanani Eka Barata)

PRAKATA

Segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas berkah, rahmat dan hidayah-Nya yang senantiasa dilimpahkan kepada penulis, sehingga bisa menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Menggunakan Metode Difusi Cakram” sebagai syarat untuk menyelesaikan pendidikan Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

Dalam penyusunan skripsi ini banyak hambatan serta rintangan yang penulis hadapi namun pada akhirnya dapat melaluinya berkat adanya bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. apt. Hartono, S.Farm., M.Sc., selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm, M.Sc selaku pembimbing utama dalam penyusunan skripsi, serta kaprodi S1 Farmasi dan juga dosen pembimbing akademik yang telah memberikan masukan dalam penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini.
3. apt. Diah Pratimasari, M.Farm selaku pembimbing kedua dalam penyusunan skripsi yang selalu menerima segala keluhan serta selalu memberikan semangat.

4. apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc., dan Dr. Didik Wahyudi, S.Si, M.Si selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Seluruh dosen prodi S1 Farmasi yang telah memberikan ilmu-ilmu dan pengetahuan kepada penulis selama mengikuti studi.
6. Kedua orang tua dan semua keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan semangat bagi penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Untuk teman-temanku seperjuangan sekaligus sahabatku Agnessyah, Novitasari, Novia Dewi, Novitri, dan Luciana yang senantiasa menghibur dan memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi.
8. Teman-teman angkatan 2017 yang telah menjadi keluarga dan memberikan banyak pelajaran serta pengalaman sehingga dapat menjadi pribadi yang lebih baik.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini jauh dari sempurna, semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semua pihak yang telah turut membantu penulisan dalam menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis mengharapkan semoga tujuan dari pembuatan skripsi ini dapat tercapai sesuai dengan yang diharapkan.

Surakarta, 16 Agustus 2021

PENULIS

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Salam (<i>Syzygium polyanthum</i> [Wight.] Walp)	
1. Tinjauan Tanaman	5
2. Morfologi Tanaman	5
3. Taksonomi Tanaman	6
4. Kandungan Tanaman	7
5. Manfaat Tanaman	8
B. Bakteri <i>Salmonella Typhi</i>	
1. Klasifikasi Bakteri	9
2. Morfologi dan Fisiologi	10
3. Daya Invasi	11

4. Patogenitas dan Gejala Klinis	12
C. Penyarian	
1. Ekstrak.....	13
2. Metode Ekstraksi Simplisia.....	14
3. Metode Fraksinasi	15
4. Pelarut	17
D. Skrining Fitokimia	18
E. Media.....	19
F. Uji Aktivitas Antibakteri.....	19
G. Antibiotik	21
H. Standar Mc Farland.....	23
I. Landasan Teori.....	24
J. Hipotesis.....	25
K. Kerangka Konsep Penelitian	26

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian.....	27
B. Populasi dan Sampel	27
C. Alat dan Bahan	28
D. Variabel Penelitian	29
E. Definisi Operasional.....	29
F. Jalannya Penelitian.....	31
G. Analisis Data	40
H. Alur Penelitian	42

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi	43
B. Preparasi Sampel.....	43
C. Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Daun Salam	45
D. Uji Identifikasi Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Salam	49
E. Uji Karakteristik Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	55
F. Uji Daya Hambat Ekstrak dan Fraksi Daun Salam.....	64

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan	70
B. Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN.....	81

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Salam	6
Gambar 2. Bakteri <i>Salmonella Typhi</i>	10
Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian	26
Gambar 4. Pengukuran Zona Hambat	40
Gambar 5. Alur Penelitian	42
Gambar 6. Reaksi yang Terjadi pada Proses Uji Bebas Etanol	48
Gambar 7. Reaksi Uji Mayer	50
Gambar 8. Reaksi Uji Dragendroff	51
Gambar 9. Reaksi Flavonol dengan Logam Mg dan Hcl	52
Gambar 10. Reaksi Antara Tanin dan $FeCl_3$	53
Gambar 11. Reaksi Hidrolisis Saponin dalam Air	54
Gambar 12. Reaksi Steroid dan Terpenoid dengan Reagen Liebermanbuchard	55
Gambar 13. Hasil Pertumbuhan <i>Salmonella Typhi</i> pada Media <i>Mac Conkey</i>	56
Gambar 14. Hasil Analisis Biokimia dari Bakteri <i>Salmonella Typhi</i>	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Media <i>Mueller Hinton Agar</i>	19
Tabel 2. Standar Interpretasi Diameter Zona Hambat	22
Tabel 3. Hasil Rendemen Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air Daun Salam	49
Tabel 4. Kandungan Senyawa Daun Salam	49
Tabel 5. Morfologi <i>Salmonella Typhi</i> pada Media <i>Mac Conkey</i>	56
Tabel 6. Hasil Analisis Biokimia dari Bakteri <i>Salmonella Typhi</i>	57
Tabel 7. Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak dan Fraksi n-Heksan, Etil.....	65
Asetat dan Air Dari Daun Salam	

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Hasil Determinasi Tanaman Salam.....	82
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen.....	85
Lampiran 3. Perhitungan Penimbangan Ekstrak Daun Salam	87
Lampiran 4. Tabel Baca Bakteri	88
Lampiran 5. Analisis <i>One Way Anava</i>	89
Lampiran 6. Dokumentasi Proses Penelitian	108

DAFTAR SINGKATAN

MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
MCA	<i>Mac Conkey Agar</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
KIA	<i>Kligers Iron Agar</i>
TSIA	<i>Triple Sugar Iron Agar</i>
SIM	<i>Sulfide Indol Motility</i>
MR	<i>Metyl Red</i>
VP	<i>Vorges Pascauer</i>
PAD	<i>Phenyl Alanin Diaminase</i>

INTISARI

Daun salam mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin yang mempunyai aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak dan fraksi daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan membandingkan kemampuan aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun salam terhadap kontrol positif Ciprofloxacin.

Daun salam dimaserasi dengan etanol 70% kemudian dilarutkan dengan air hangat dan difraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Hasil ekstraksi dan fraksinasi dilakukan pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% pada uji aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* menggunakan metode difusi disk. Kontrol positif yang digunakan Ciprofloxacin sedangkan kontrol negatif yang digunakan DMSO 10%. Hasil dari diameter zona hambat radikal dianalisis dengan menggunakan *Kruskal Wallis*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi daun salam mampu menghambat bakteri *Salmonella typhi*. Zona hambat radikal paling besar pada fraksi etil asetat dengan konsentrasi 75% yaitu sebesar 21,57 mm termasuk kategori sensitif namun nilai berbeda bermakna ($p \leq 0,05$) dengan kontrol positif Ciprofloxacin sebesar 42,08 mm. Hasil perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun salam dengan kontrol positif secara statistik menggunakan Uji Mann Whitney menunjukan nilai asymp sig $\leq 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan bermakna.

Kata kunci : Daun salam, antibakteri, *Salmonella typhi*

ABSTRACT

Bay leaves contain alkaloids, flavonoids, saponins and tannins which have antibacterial activity. This study aims to determine the antibacterial potential of bay leaf extract and fraction against the growth of *Salmonella typhi* bacteria and compare the antibacterial activity of bay leaf extract and fraction against Ciprofloxacin positive control.

Bay leaves were macerated with 70% ethanol then dissolved in warm water and fractionated using n-hexane and ethyl acetate as solvents. The results of extraction and fractionation were carried out at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% on the antibacterial activity test against *Salmonella typhi* using the disk diffusion method. The positive control used Ciprofloxacin while the negative control used 10% DMSO. The results of the diameter of the radical inhibition zone were analyzed using *Kruskal Wallis*.

The results showed that the ethanol extract and bay leaf fraction were able to inhibit *Salmonella typhi* bacteria. The largest radical inhibition zone was in the ethyl acetate fraction with a concentration of 75%, which was 21.57 mm, including the sensitive category but the value was significantly different ($p \leq 0.05$) with the positive control Ciprofloxacin 42.08 mm. The results of the comparison of antibacterial activity of bay leaf extract and fraction with positive control statistically using the Mann Whitney test showed a value of asymp sig 0.05, which means there is a significant difference.

Key words: bay leaf, antibacterial, *Salmonella typhi*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama kematian dan kecacatan di dunia. Berdasarkan data *World Health Organization (WHO) Surveillance Preventable Disease Typhoid and Other Invasive Salmonellosis*, diperkirakan ada 11-21 juta kasus demam tifoid dan sekitar 128.000-161.000 kematian setiap tahun, dibandingkan dengan perkiraan 6 juta kasus demam paratifoid dan 54.000 kematian setiap tahun. Mayoritas kasus terjadi di Asia Selatan, Tenggara dan Afrika sub-Sahara (WHO, 2018).

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi akut pada saluran pencernaan yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif yang masuk ke dalam tubuh melalui mulut dari makanan dan minuman yang terkontaminasi (Mutua, dkk., 2015). Bakteri ini menginfeksi usus halus dan terkadang pada aliran darah. Selain itu, juga dapat menyebabkan gastroenteritis (radang lambung) dan diare yang disertai tifoid.

Kloramfenikol adalah *drug of choice* pada pengobatan demam tifoid karena efektif, harganya murah, mudah didapatkan dan dapat diberikan secara oral (WHO, 2015). Pemberian kloramfenikol sudah menimbulkan resistensi yang disebut *Multidrug Resistant Salmonella typhii* (MDRST). Selain itu kloramfenikol dapat menyebabkan kerusakan pada sumsum tulang belakang yang dapat menyebabkan sel-sel darah merah terganggu (Rampengan, 2013). Obat

amoksisilin, siprofloksasin, dan kotrimoksazol dianjurkan untuk demam tifoid karena relatif murah, lebih cepat menimbulkan efek yang baik pada pasien demam tifoid, namun resistensi di kemudian hari masih dapat terjadi pada obat-obat tersebut.

Tahun 2014 angka kematian akibat infeksi bakteri resisten terhadap antibiotik mencapai 700 000 kasus (WHO, 2018). Diperkirakan bahwa secara global 93.800.000 kasus dan 155.000 kematian berhubungan dengan gastroenteritis karena spesies *Salmonella spp.* per tahun dan diperkirakan 85.6% dari kasus tersebut adalah *foodborne diseases* (Eguale, dkk., 2016).

Kejadian resistensi ini dapat diatasi dengan menggunakan tanaman obat sebagai alternatif antibiotik (Buhner, 2012). Upaya pengembangan bahan alam terus dilakukan. Salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan sebagai antibakteri adalah daun salam.

Daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) merupakan tanaman obat yang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Pancawati, 2019). Penghambatan ekstrak etanol daun salam terhadap bakteri *Salmonella typhi* memperlihatkan adanya zona hambat pada konsentrasi 400 µg/well sebesar 14,67 mm (Evedi, 2017).

Berdasarkan uraian tersebut perlu dikembangkan penelitian dengan menggunakan fraksi-fraksi (n-heksan, etil asetat, dan air) untuk memperoleh zat aktif yang lebih spesifik dan diharapkan memberikan potensi antibiotik yang lebih kuat daripada ekstrak. Hal ini mendasari dilakukannya uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun salam (*Syzygium*

polyanthum [Wight.] Walp) terhadap bakteri *Salmonella typhi* menggunakan metode difusi cakram.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*?
2. Apakah kemampuan ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) penghambatannya setara dengan kontrol positif Ciprofloxacin secara statistik?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai berdasarkan rumusan masalah tersebut yaitu:

1. Untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak dan fraksi daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.
2. Untuk membandingkan kemampuan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) terhadap kontrol positif Ciprofloxacin.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini di antaranya yaitu:

- 1. Bagi masyarakat**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai potensi daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* penyebab tifus.

2. Bagi peneliti

Dapat menambah pengetahuan dan wawasan peneliti khususnya untuk mengetahui aktivitas ekstrak dan fraksi daun salam menghambat bakteri *Salmonella typhi*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain ini merupakan penelitian eksperimental. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksinasi (n-heksan, etil asetat, dan air) daun salam terhadap bakteri *Salmonella typhi* dilakukan dengan menggunakan difusi cakram dengan penentuan diameter zona hambat.

Pengujian antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun salam dilakukan pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% masing-masing dilarutkan dalam larutan DMSO 10%. Kontrol positif dengan menggunakan disk Ciprofloxacin 5 μ g dan kontrol negatif dengan menggunakan DMSO 10%. Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS.

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun salam yang diperoleh dari Polokarto, Sukoharjo, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam yang diperoleh dari Polokarto, Sukoharjo, Jawa Tengah. Daun salam yang digunakan sebagai sampel dipilih yang berwarna hijau gelap, karena daun yang berwarna hijau gelap memiliki kandungan senyawa flavonoid lebih tinggi

dibanding daun yang berwarna hijau muda (Ramadhan, dkk., 2016). Waktu pemanenan dilakukan pada sore hari karena proses fotosintesis sudah selesai sehingga kandungan senyawa aktif yang dihasilkan lebih tinggi serta menghasilkan simplisia yang berkhasiat secara optimal dibandingkan waktu pagi hari. Pada waktu pagi hari tanaman mengalami proses fotosintesis karena adanya cahaya matahari. Hal ini mampu meningkatkan kandungan flavonoid yang ada dalam daun sedangkan pada sore hari intensitas cahaya matahari sudah menurun sehingga proses fotosintesis sudah selesai dan kandungan senyawa aktif yang dihasilkan lebih optimal (Dwinatari dan Murti, 2015).

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Oven (Mommert), blender (Philips), *mesh* no 60, timbangan analitik (Acis BC 500), *moisture balances* (MAC-50), cawan porselin, botol maserat, kain, *rotary evaporator* (IKA HB 10 basic), beker glass (pyrex), batang pengaduk (Iwaki ®), corong pisah (pyrex), statif, gelas ukur (pyrex), *waterbath*, tabung reaksi, tabung durham, rak tabung reaksi, corong kaca (pyrex), api bunsen, ose, cawan petri, *paper disc* (\pm 6mm), mikropipet, inkubator, jangka sorong (tricle brand), labu takar, pinset, penjepit, botol vial, alumunium foil, kapas lidi.

2. Bahan

Daun salam, etanol 70% (teknis), n-heksan (teknis), etil asetat (teknis), air, kloroform(teknis), H₂SO₄(teknis), amoniak (teknis), pereaksi

dragendroff, pereaksi mayer, serbuk Mg (E, Merck), HCL pekat (E, Merck), FeCl₃ (E, Merck), aquadest, asam asetat anhidrat (pa), asam asetat (teknis), media MHA (Mueller Hinton Agar), biakan *Salmonella typhii*, NaCl (teknis), BaCl₂ 1%, DMSO, CaSO, BHI, reagen kovack, media SIM, media MR, reagen MR, media VP, reagen barried, KOH (teknis), media TSIA, media citrat, media urea, media PAD, media fermentasi karbohidrat, Indikator Phenol Red, *disk* antibiotik Ciprofloxacin 5µg, spiritus, *blank paper disk*.

D. Variabel Penelitian

1. Klasifikasi variabel

- a. **Variabel bebas.** Variabel bebas yang dihasilkan dari penelitian ini adalah konsentrasi dari ekstrak dan fraksi daun salam.
- b. **Variabel terikat.** Aktivitas antibakteri yang dihasilkan dari ekstrak dan fraksi (n-heksan, etil asetat dan air) daun salam terhadap bakteri *Salmonella typhi*.
- c. **Variabel terkontrol.** Proses ekstraksi maserasi, media pertumbuhan bakteri, *Salmonella typhi*, lama inkubasi, suhu inkubasi, waktu panen dan metode penelitian.

E. Definisi Operasional

- a. Ekstrak etanol daun salam adalah hasil ekstraksi dari daun salam dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% lalu dipekatkan

menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak diuapkan diatas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak yang lebih kental.

- b. Fraksinasi merupakan suatu metode cair-cair di mana pemisahan didasarkan pada tingkat kepolaran. Fraksi daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) merupakan hasil fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air, lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Filtrat diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh fraksi pekat.
- c. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella typhi* yang telah diuji sebelumnya dengan menggunakan disk Ciprofloxacin 5µg di mana obat tersebut termasuk kategori sensitif terhadap antibiotik Ciprofloxacin ≥ 21 mm.
- d. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* adalah diameter zona radikal di mana bakteri tersebut sama sekali tidak tumbuh disekitar cakram yang ditandai dengan adanya daerah zona bening yang artinya pertumbuhan bakteri dihambat seluruhnya.
- e. Penghambatan ekstrak dan fraksi-fraksi daun salam dikatakan setara dengan Ciprofloxain jika memiliki nilai signifikan lebih dari 0,05 yang artinya tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Selanjutnya zona hambat dikelompokkan berdasarkan CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) dari antibiotik Ciprofloxacin (CLSI, 2018).

F. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman salam yang bertujuan untuk menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dan untuk mengidentifikasi apakah bahan yang diambil benar-benar tanaman salam, dengan mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman salam dengan acuan buku. Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Penyiapan bahan

Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) yang telah dikumpulkan dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci di bawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan. Daun salam selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C. Daun yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan menggunakan saringan berukuran 60 mesh (Hasim, 2019).

3. Pembuatan ekstrak etanol daun salam

Serbuk daun salam direndam dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Serbuk daun salam sebanyak 1 kg ditambahkan dengan etanol 70% 7,5 liter (1:7,5) di dalam bejana maserasi yang tertutup rapat dan dibiarkan selama 3 hari pada temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk setiap hari, setelah 3 hari disaring sehingga diperoleh filtrat dan ditampung dalam wadah penampung (botol maserasi). Ampas direndam kembali dengan etanol 70% sebanyak 2,5 liter (1:2,5) dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali diaduk dan disaring kembali. Seluruh

filtrat yang diperoleh dijadikan satu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, kemudian dilanjutkan di atas *waterbath* pada suhu yang sama hingga diperoleh ekstrak kental (Sugiarti dan Andriyani, 2020).

4. Penetapan rendemen

Persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil ekstrak kemudian dibagi berat serbuk daun salam kering dan dikalikan 100%.

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk daun salam}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi} = \frac{\text{Berat fraksi kental}}{\text{Berat ekstrak daun salam}} \times 100\%$$

5. Uji bebas etanol ekstrak daun salam

Uji bebas etanol daun salam dilakukan dengan cara dimasukkan sampel ke dalam tabung reaksi, tambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, bila tidak ada bau ester berarti sudah tidak terdapat etanol (Tenda, dkk., 2017).

6. Fraksinasi ekstrak daun salam

a. Pembuatan fraksi n-heksan

Ekstrak etanol daun salam yang telah dipekatkan ditimbang seksama 20,0 gram, dilarutkan dengan air hangat 100,0 mL sampai larut dan difraksinasi dengan n-heksan sebanyak 100,0 mL, fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali menggunakan corong pisah. Filtrat n-heksan dikumpulkan

kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 40°C, filtrat diuapkan diatas *waterbath*. Filtrat n-heksan yang sudah dipekatkan disebut fraksi n-heksan (Astana, 2018).

b. Pembuatan fraksi etil asetat

Residu fraksinasi n-heksan ditambahkan etil asetat dengan perbandingan (1:1) menggunakan corong pisah, fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat etil asetat dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 40°C, filtrat diuapkan diatas *waterbath*. Filtrat etil asetat yang sudah dipekatkan disebut sebagai fraksi etil asetat. Residu fraksinasi etil asetat disebut dengan fraksi air (Astana, 2018).

7. Skrining fitokimia

a. Identifikasi alkaloid. Ekstrak etanol dan fraksi ditimbang 1,0 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur dengan 2 mL kloroform dan 2,5 mL amoniak kemudian dipanaskan, dikocok dan disaring. Ditambahkan 2 tetes asam sulfat pada masing-masing filtrat, kemudian kocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Mayer dan Dragendroff. Terbentuk endapan putih pada pereaksi Mayer, dan endapan orange atau jingga pada pereaksi Dragendroff (Yusliana, dkk., 2019).

b. Identifikasi flavonoid. Ekstrak etanol dan fraksi daun salam ditimbang 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam etanol panas dan ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCL pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan

terbentuk warna kuning, orange dan merah (Setyowati, dkk., 2014). Warna merah hingga merah lembayung menunjukkan adanya senyawa flavonol, flavonon, flavonolol dan dihidroflavonol (Hanani, 2017).

c. Identifikasi tanin. Ekstrak etanol dan fraksi daun salam ditimbang sebanyak 0,1 gram ditambahkan aquadest sampai terendam dan dipanaskan selama 3 sampai 5 menit lalu direaksikan dengan menambahkan FeCl_3 . Perubahan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree, dkk., 2012).

d. Identifikasi saponin. Ekstrak etanol dan fraksi daun salam ditimbang sebanyak 0,5 g ditambahkan aquadest 1 ml, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit. Setelah dipanaskan ditunggu sampai dingin lalu dikocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil ± 1 cm (Ramyashree, dkk., 2012). Selanjutnya didiamkan selama 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk kemudian ditambahkan HCl 1N. Buih yang terbentuk selama 10 menit dengan tinggi 1-3 cm maka menandakan adanya kandungan saponin.

e. Identifikasi terpenoid. Ekstrak etanol dan fraksi daun salam ditimbang 1,0 mg ekstrak ditambahkan 2 ml kloroform dan 1 ml H_2SO_4 . Jika teramati warna coklat kemerahan maka menunjukkan adanya terpenoid (Gowri dan Vasantha, 2010).

8. Sterilisasi alat

Sterilisasi alat yang dilakukan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi dibungkus dengan kertas payung dan plastik kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C . Sterilisasi

peralatan yang lain adalah jarum ose, disterilkan dengan dibakar langsung pada api bunsen. Media pertumbuhan bakteri disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (Mpila, dkk., 2012).

9. Karakterisasi bakteri *Salmonella typhi*

a. Identifikasi bakteri

1. Bakteri ditambahkan pada media BHI cair menggunakan ose bulat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
2. Bakteri digoreskan pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
3. Diamati pertumbuhan koloni pada media.

b. Uji Biokimia

1. Uji SIM (*Sulfide Indole Motility*) (Dwinna, dkk., 2016).
 - a. Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri dari media ke tryptophan broth, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - b. Indol : ditambah 3-4 tetes reagen kovack melalui dinding tabung reaksi. Uji indol positif, ditandai dengan terbentuknya cincin merah.
 - c. Motil : hasil positif jika terdapat pertumbuhan yang menyebar disekitar tusukan atau pada permukaan media atau media menjadi keruh.
 - d. H₂S : hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media.

2. Uji MR (*Metil Red*) (Dwinna, dkk., 2016).

- a. Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media MR, diinokulasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - b. Ditambah 2-3 tetes reagen MR. MR positif, jika terbentuk warna merah pada media, artinya terbentuk asam.
3. Uji VP (*Voges Proskauer*) (Dwinna, dkk., 2016).
- a. Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media VP, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - b. Ditambah 10 tetes reagen Barried dan 3-4 tetes KOH 40%.
 - c. Uji VP positif, jika terbentuk warna pada media.
4. Uji KIA/TSIA (*Kligers Iron Agar/Triple Sugar Iron Agar*)

Isolat bakteri diinokulasikan pada media TSIA dengan cara ditusuk tegak lurus pada bagian *butt* (dasar) dan cara zig-zag pada bagian *slant* (miring). Kemudian biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati perubahan warna media. Apabila pada bagian *slant* media berwarna merah dan *butt* berwarna kuning, maka bakteri mampu memfermentasi glukosa. Apabila pada bagian *slant* dan *butt* media berwarna kuning, maka bakteri mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa (Cappuccino dan Sherman, 2014)

5. Citrat (Dwinna, dkk., 2016)

Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan gores kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna dari hijau menjadi biru pada media.

6. Urea (Dwinna, dkk., 2016).

Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji urease fermentasi ditandai dengan berubahnya warna media dari kuning menjadi merah keunguan.

7. Uji PAD (*Phenil Alanin Diaminase*) (Dwinna, dkk., 2016).

Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan warna hijau pada media setelah ditambah HCL 0,1 N sampai media berwarna kuning dan ditambahkan 5 tetes FeCl₃ 10%.

8. Fermentasi Karbohidrat (Dwinna, dkk., 2016).

Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Gula-gula positif ditandai dengan media berwarna kuning. Adanya indikator Phenol Red akan menyebabkan media menjadi kuning. Gas (+) ditandai dengan kosongnya tabung Durham.

10. Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA) dilakukan dengan melarutkan bahan sebanyak 37 g medium ke dalam 1L. Medium dipanaskan sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna selama 1 menit. Medium dimasukkan ke dalam tabung atau botol untuk disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit, pada suhu 121°C tekanan 1 atm. Medium ditunggu hingga agak dingin sekitar suhu 40-45°C kemudian dituang ke cawan petri atau tabung reaksi (Safitri dan Sinta, 2010).

11. Kultur bakteri/peremajaan biakan bakteri

Disterilkan ose dengan cara dipanaskan diatas api bunsen selama 10 detik. Lalu ose digoreskan pada biakan murni bakteri sampai terlihat bakteri menempel pada ose. Proses ini dilakukan didekat api bunsen agar tidak terkontaminasi. Kemudian ose digoreskan pada media CaSO miring yang telah membeku secara terpisah dan aseptis dengan meletakkan jarum ose yang mengandung biakan pada dasar kemiringan agar dan ditarik dengan gerakan zigzag (metode streak), setelah itu diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 36°C selama 18-24 jam.

12. Pembuatan biakan bakteri aktif

Bakteri *Salmonella typhi* diambil dengan satu ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 5 mL larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *McFarland* (Tangkuman, dkk., 2017).

13. Pembuatan larutan uji

Ekstrak dan fraksi daun salam ditimbang 1 gram dalam 1 ml DMSO 10% digunakan sebagai konsentrasi 100%. Dibuat beberapa seri konsentrasi dari ekstrak dan fraksi yang telah diencerkan dengan DMSO 10%. Diperoleh beberapa konsentrasi ekstrak dan fraksi yakni secara berturut-turut 25%, 50%, 75% dan 100% kemudian di vortex.

14. Pembuatan larutan kontrol negatif

Kontrol negatif DMSO 10% dibuat dengan cara memasukkan 1 ml DMSO ke dalam gelas ukur, kemudian ditambahkan akuades hingga

volumenya 10 ml. Kontrol positif menggunakan *disk* antibiotik Ciprofloxacin 5 μ g.

15. Uji kepekaan kontrol positif ciprofloxacin

Pengujian bakteri *Salmonella typhi* dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dengan menggunakan *disk*. Suspensi bakteri disebarkan menggunakan kapas lidi steril dengan menggunakan metode *spread plate* didiamkan selama 10 menit agar suspensi terserap pada media. Bakteri yang telah terserap dalam media diletakkan antibiotik Ciprofloxacin 5 μ g dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (CLSI, 2018).

16. Uji antibakteri secara difusi cakram

Metode difusi dilakukan secara *spread plate* dilakukan secara aseptis. 1 ml suspensi bakteri *Salmonella typhi* dan disebarkan menggunakan kapas lidi steril agar suspensi tersebar secara merata pada media dan didiamkan selama 10 menit agar suspensi bakteri terserap pada media (Nor, dkk., 2018). Setelah itu *blank disk* steril dipipet dengan menggunakan mikropipet dalam ekstrak dan fraksi daun salam dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% sebanyak 5 μ l yang terdapat 4 cakram dengan jarak yang berbeda-beda. Metode ini menggunakan *paper disc* atau cakram yang disterilkan. Selain itu disiapkan pula cawan petri untuk kontrol negatif DMSO 10% dan kontrol positif Ciprofloxacin 5 μ l dimasukkan ke dalam media yang sudah diinokulum menggunakan pinset. Selanjutnya media diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, zona hambat

diamati, diukur dengan penggaris diameter zona hambat disekitar *paper disc*, dan difoto (Cappucino, dkk., 2008).

G. Analisis Data

1. Analisis data rendemen

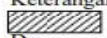
Persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil ekstrak kemudian dibagi berat serbuk daun salam kering dan dikalikan 100%.

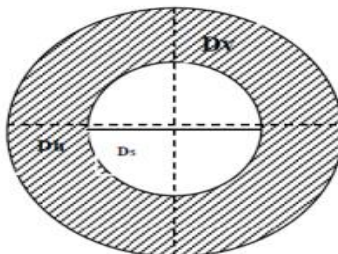
$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk daun salam}} \times 100\%$$

2. Analisis data pengukuran zona hambat

Zona hambat yang merupakan aktivitas antibakteri diukur menggunakan jangka sorong sebanyak tiga kali seperti pada gambar pada posisi yang berbeda dan dirata-ratakan nilainya (Ricko, 2011).

$$\text{Radikal} = \frac{\text{Diameter vertikal} + \text{diameter horizontal}}{2}$$

Keterangan :
 = Zona hambat
 Dv = Diameter vertikal
 Dh = Diameter horizontal
 Ds = Diameter sumur

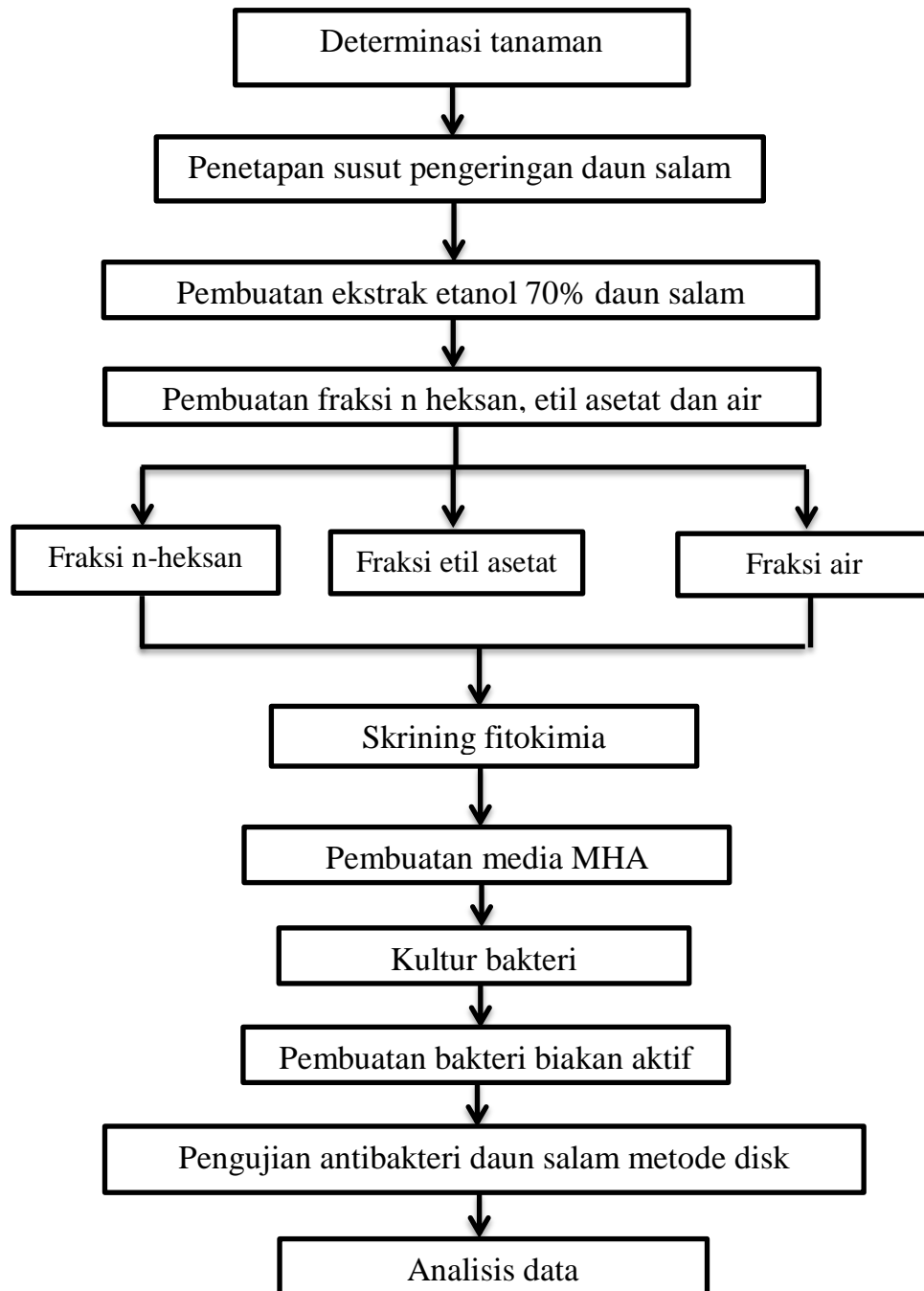


Gambar 4. Pengukuran Zona Hambat

3. Analisis data diameter zona hambat

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa diameter zona hambat ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan menggunakan metode difusi cakram *disk* yang dinyatakan dengan adanya diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk disekeliling cakram. Data zona hambat dianalisis berdasarkan beberapa konsentrasi yang dibandingkan dengan kontrol negatif DMSO 10% dan kontrol positif *disk* ciprofloxacin 5 μ g yang dapat dilihat dengan hasil uji statistik *Kruskal Wallis* menggunakan *software* SPSS.

H. Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.
2. Kemampuan ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* tidak setara dengan penghambatan kontrol positif Ciprofloxacin secara statistik menggunakan uji Mann Whitney menunjukkan nilai ($p \leq 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan bermakna aktivitas antibakteri antara ekstrak dan fraksi daun salam terhadap kontrol positif.

B. Saran

Perlu dilakukan sub fraksinasi, isolasi, serta purifikasi pada fraksi etil asetat daun salam untuk mengembangkan obat baru yang berpotensi sebagai antibakteri dari bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusmansyah, S., Ramadhian, M. R., & Mustofa, S. (2019). Uji Efektifitas Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Tua Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Majority*, 8(1), 66-70.
- Akbar, Hendra Rizki. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Cinacanthus Nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan, *Skripsi*, IPB, Depok.
- Amaliah, Z.Z.N., Bahri, S., dan Amelia, P. 2018. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta. *Jurnal Farmasi*. 5 (1) : 253-257.
- Andrianto, A. W. 2012, Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) dalam Pasta Gigi terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas, Jember.
- Anna Rizky Utami, P., Misbah, S. R., & Yunus, R., (2017). *Identifikasi Bakteri Escherichia Coli Pada Kelapa Parut Yang Dijual Di Pasar Kota Kendari* (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Kendari).
- Ardani, Y. B., Soegianto, L., & Wijaya, S. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri dan Antikuorum Sensing Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight.). *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan*, 1(1), 13-18.
- Arum. Y.P., Supartono, Sudarmin, 2012, Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal MIPA*, 35 (2) : 165-174.
- Arwin, M., F. G. Ijong, dan R. Tumbol., 2016, Characteristics of *Aeromonas hydrophila* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic science & management*, 4(2):58.
- Asra, R., Azni, N. R., Rusdi, R., & Nessa, N. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Kapulaga (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton). *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 2(1), 30-37.
- Astana, K. N. (2018) *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil asetat, dan Air dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus yang Resisten*. Universitas Setia Budi.

- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., & Omar, A. K. M. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Bailey dan Scott, 2014, *Diagnostic Microbiology*, Elveiser : China
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Bauman, R. W., 2011, *Microbiology*, Pearson, San Fransisco.
- Brooks, G.F., Morse, S.A., Butel, J.S., Carroll, K.C., Mietzner, T.A, 2013, *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*, EGC, Jakarta.
- Bhowmik, G. 2011. *Ana Techniqs in Biotechnology*. New Delhi : Tata McGraw Hill Education Private Ltd.
- Buhner, S. H., 2012, *Herbal Antibiotic Natural Alternatives For Treating Drug-Resistant Bacteria*, 45, Unites States, Mc Naughton &Gunn Inc.
- Cappuccino, James G., Natalie Sherman, 2008, *Microbiology : A Laboratory manual* (Eight edition), Perason Benjamin Cummings, San Fransisco, hal. 134, 248-285, 585-588.
- Cappuccino, J. G. and Sherman, N, 2014, *Manual Laboratorium Mikrobiologi*, 8th edn. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018, *Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing*, USA: Twenty-Sevenft Informational Supplement.
- Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2011, Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99-107.
- Dalimartha, S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid V*, Puspa Swara, Jakarta.
- Dalynn Biologicals. 2014. *Mc Farland Standard*, Dalynn Biologicals, Canada.
- Depkes RI. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*, BPOM RI, Jakarta.

- Depkes RI, 2013, *Riset Kesehatan Dasar*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Dey, P.M. 2012. *Methods in Plant Biochemistry Vol. I*, Press pp 81-82, Academic, USA.
- Dzen, S.M, Wibowati, S. Purwarini, A.W, 2003, Efek Antimikroba Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro, SMF Mikrobiologi Klinik.
- Dwina, Rika, Siska, M., 2016, Identifikasi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Yang Dibudidayakan Di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh, *Jurnal Ilmiah*, Universitas Syiah Kuala.
- Dwinatari, I.K., dan Murti, Y.B., 2015, The Effect of Harvesting TIME and Degree of Leaves Maturation on Viteksikarpin Level in Legundi Leaves (*Vitex Trifolia L.*). *Majalah Obat Tradisional (Traditional Medicine Journal)*, 20(2), 110-116.
- Eguale T, Gebreyes WA, Asrat D, Alemayehu H, Gunn JS, Engidawork E, 2015, Non-typhoidal Salmonella serotypes, antimicrobial resistance and co-infection with parasites among patients with diarrhea and other gastrointestinal complaints in Addis Ababa Ethiopia. *BMC Infect Dis.* 4(15):497.
- Ergina., Nuryati,S., dan Pursitasari, I.D., 2014, *Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (Agave angustifolia) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol*, Universitas Tadulako, palu.
- Evendi, A, 2017, Uji fitokimia dan anti bakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal*, 2(1), 1-9.
- Fadhlan. 2010. Mikrobiologi Farmasi. Salemba Medika, Jakarta.
- Gowri, S. S., & Vasantha, K. 2010. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Syzygium cumini* (L.) (Myrtaceae) Leaves Extracts. *International Journal of PharmTech Research* , 1569-1573.
- Hanani, E. (2017). *Analisisn Fitokimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Haryanti, N. A., C.S. Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (*Syzygium mytifolium* Walp) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*. *J. Kimia Mulawarman*.

- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N., 2019, Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 86-93.
- Hemraj, V., S. Diksha, dan G. Avneet. 2013. A Review on Commonly Used Biochemical Test for Bacteria. *Innovare Journal of Life Science*. 1(1): 1-7.
- Houghton, P. J. dan Raman, A., 2011, Analysis of crude extracts, fractions and isolated compounds, Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts, 113–138.
- Harismah, K. dan Chusniatun, 2016, Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Sebagai Obat Herbal dan Rempah Penyedap Makanan, *Warta LPM*, Vol 19 (2): 110–118.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S. and Williamson, E. M, 2012, *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 2nd Edition, Elsevier Health Sciences, New York.
- Istiqomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)*. *Skripsi*, Jurusan Farmasi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Indang N., Guli M.M., Alwi M., 2013, Uji Resistensi dan Sensitivitas Bakteri *Salmonella thypi* Pada Orang Yang Sudah Pernah Menderita Demam Tifoid Terhadap Antibiotik. *Jurnal Biocelbes*, 7(1) : 27–34.
- Jaroni, D. 2014, *Salmonella typhi*, Encyclopedia of Food Microbiology, 3: 349-352.
- Katrin, D., Idiawati, N. and Sitorus, B., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea graciae* Vidal) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1), pp.7–12.
- Khan, Majeed & Siddiqui, 2015, Ciprofloxacin : The Frequent Use in Poultry and Its Consequences on Human Health. *The Professional Medikal Jurnal*, 22(1), pp.1–5.
- Kundera, I.N, 2009. Crude Extract of Alkaloid Jackfruit Flowers (*Artocarpus heterophyllus* Lamk) Expression Towards Outer Membrane Protein (OMP) Virulence *Salmonella typhi*, Vol II, 83-91.
- Kurniawan, B., Aryana, W.F., 2015, Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth, *Majority*, 4(4), 100-104.

- Kurniawati, E. (2017). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan*, 2(2), 193-199.
- Kusmiyati dan Agustini, K., & Sri, N. W. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*, 8 (1): 48-53.
- Lajuck, P., 2012, Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Lebih Efektif Kolesterol Total dan LDL Dibandingkan Statin pada Penderita Dislipidemia, *Tesis*, Program Studi Ilmu Biomedik, Universitas Udayan, Denpasar.
- Mahardika, R. G., Roanisca, O., & Sari, F. I. P. (2020). Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Pelawan (*Tristaniaopsis merguensis* Griff.). *Jurnal Sains dan Edukasi Sains*, 3(1), 8-14.
- Mailoa, M.N., Mahendradatta, M., Laga, A., Djide, N., 2013. Tannin extract of guava leaves (*Psidium guajava* L) variation with concentration organic solvents. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 2(9), 106-110.
- Maravirnadita, A. H. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Dan Air Dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa* (Doctoral dissertation, Universitas Ahmad Dahlan.
- Molita, A. D, 2017, Identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada minuman susu kedelai bermerek dan tidak bermerek di kota Bandar Lampung. *Skripsi*, Fakultas Kedokteran UNILA, Lampung.
- Marliana, S. D., Saleh C. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil 72 asetat, dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari Siceraria* (Morliana) Standl. *J. Kimia Mulawarman*. 8(2): 39-63
- Marliana, S., Suryanti, Suyono, 2005, *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*, Surakarta: Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sebelas Maret
- Marjoni, Riza. (2016). *Dasar-dasarFitokimiauntuk Diploma III Farmasi*. Jakarta: CV Trans Info Media
- McMurry, J. dan Fay, R.C., 2004. McMurry fay chemistry, 4th edition. Belmont: Pearson Education Internasional

- Muhtadi, M. 2012. Potensi Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Walp.) dan Biji Jinten Hitam (*Nigella Sativa* Linn) Sebagai Kandidat Obat Herbal Terstandar Asam Urat. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 13(1), 30-36.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7 (2): 361-367, UIN Alauddin, Makassar.
- Muslim, Z., Novrianti, A., & Irnamera, D. (2020). Resistance Test of Bacterial Causes of Urinary Tract Infection Against Ciprofloxacin and Ceftriaxone Antibiotics. *SANITAS: Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan*, 11(2), 203-212.
- Mpila, D.A., Fatimawali dan Wiyono, W.I, 2012, Uji Aktivitas Antibakteri Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In-Vitro. *Skripsi*. Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Mutua, J.M., Wang, F., and Vaidya, N.K., 2015. Modelling Malaria And Typhoid Fever Co-Infection Dynamic, *Mathematical Bioscience*, 264 pp 128-144.
- Nasution, M. Y., Pulungan, A. S. S., Chairani, F., & Wulandari, W., 2020, Isolasi Dan Identifikasi Biokimia Bakteri Asal Sungai Batang Gadis Sumatera Utara. *Jurnal Biosains*, 6(3), 109-114.
- Ningsih, A. P., & Agustien, A., 2013. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kental tanaman pisang kepok kuning (*musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi UNAND*, 2(3).
- Nor, T. A., Indriarini, D. and Koamesah, S. M. J, 2018, 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara In Vitro', *Cendana Medical Journal*, 15(3), pp. 327–337.
- Pancawati, at., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan, Etil Asetat dan Air dari Ekstrak Etanol 70% Daun Salam (*syzygium polyanthum* [wight] walp) terhadap Bakteri *Escherichia Coli* atcc 25922, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Pereira, J., J. Gonçalves, V. Alves, dan J. S. Câmara, 2013, Microextraction using packed sorbent as an effective and high-throughput sample extraction technique: recent applications and future trends. *Sample Preparation*, 1:38–53.
- Prahastuti, S., Tjahjani, S., & Hartini, E. 2013. 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).

- Puspa, O. E., Syahbanu, I., & Wibowo, M. A. (2017). Uji Fitokimia dan Toksisitas Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica fragans* Houtt) dari Pulau Lemukutan. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(2).
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., Larasanty, L. P. F., 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.), *Jurnal Farmasi Udayana*, Vol. 2, No. 4.
- Putri, Dayu Nirwana. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. EGC, Jakarta.
- Radjie Maksum and Biomed. M., 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*, pp. 21-6, 153-54, EGC, Jakarta.
- Rahayu E.U., 2011, Antibiotika, Resistensi Dan Rasionalitas Terapi. *El-Hayah*, 1(4) : 191–198.
- Ramadhan, B. C., Aziz, S. A., & Ghulamahdi, M. 2016. Potensi kadar bioaktif yang terdapat pada daun kepel (*Stelechocarpus burahol*). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 26(2), 99-108.
- Rampengan, N.H., 2013, Antibiotik Terapi Demam Tifoid Tanpa Komplikasi pada Anak, *Sari Pediatri*, 14(5), 271- 276.
- Ramyashree, M., Krishna Ram, H., Shivabasavaiah., 2012, *Ethnomedicinal value of Opuntia elatior fruits and its effects in mice*, University of Mysore, Karnataka, India.
- Ricko, 2011, Uji Aktivitas Antibakteri Esktrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) Secara In Vitro Dengan Metode Difusi Agar Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif. *Thesis Magister* Fakultas Farmasi. Jakarta : Universitas Pancasila.
- Sa'adah, L. (2010). Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* l.). Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Safitri, Ratu. dan Sasika,Sinta Novel, 2010, *Medium Analisis Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur)*, CV. Trans Info Media, Jakarta.
- Saifudin, A., Rahayu, V dan Teruna, H.Y., 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu. Yogyakarta.

- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I. Dan Makang, V. M. A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog.* Vol. 1, No.1: 47-53.
- Sari, N. I, 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Pattallassang Kabupaten Gowa. *SKRIPSI*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Sarker, S. D. dan L. Nahar. 2012. *Natural Products Isolation 3ed*. Humana Press. 1.
- Senjaya, Y. A., & Surakusumah, W. (2008). Potensi Ekstrak Daun Pinus (*Pinus merkusii* Jungh. et de Vriese) Sebagai Bioherbisida Penghambat Perkecambahan *Echinochloa colonum* L. dan *Amaranthus viridis*. *Jurnal Parennial*, 4(1), 1-5.
- Seran, E. R., Palandeng, H., & Kallo, V, 2015, Hubungan Personal Hygiene dengan Kejadian Demam Tifoid di Wilayah Kerja Puskesmas Tumaratas. *Jurnal Keperawatan*, 3(2) : 1-8.
- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, M.B. & Rahmawati, C.P., 2014, Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durion zibethinus* Murr) Varietas Petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI, 271-280.
- Simaremare, E, 2014, Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (roxb.) wedd). 11(01):98–107.
- Soleha, Tri Umiana, 2015, *Uji Kepekaan terhadap Antibiotik*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Lampung.
- Staf Pengajar Departemen Mikrobiologi Klinik FKUI-RSCM, 2012, *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Kedokteran*, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Sugiarti, L., Andriyani, D. M., Pratitis, M. P., & Setyani, R. (2020). Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Air Ekstrak Etanol Daun Parijoto (*Medinilla Speciosa* Blume) Terhadap *Propionibacterium Acnes* dan *Staphylococcus Epidermidis*. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 120-130.
- Suharsanti, R., & Wibowo, F. S. (2016). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Som Jawa Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* Untuk Menjamin Mutu Penggunaan Sebagai Obat Herbal Antikeputihan. *Media Farmasi Indonesia*, 11(2).

- Sule WF, Adige AA, Abubakar MJ, Ojezele MO., 2012, Antimicrobial Resistance of Clinical Isolates of *Salmonella Typhi* in Anyigba, Kogi State, Nigeria. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*. 1(4):57-61.
- Svehla,G., (1985), Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro, Edisi kelima, Bagian I, Kalman Media Pusaka, Jakarta.
- Syarifuddin, A. N., Purba, R. A., Situmorang, N. B., & Marbun, R. A. T. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *JURNAL FARMASIMED (JFM)*, 2(2), 69-76.
- Talaro, KP, 2008, *Foundation in Microbiology*, Ed ke-6, McGraw-Hill, New York.
- Tangkuman, A. R., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Jambu Mete (*Anacardium Occidentale* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Dari Air Liur Penderita Sariawan. *PHARMACON*, 6(2).
- Tenda, P. E., Lenggu, M. Y., & Ngale, M. S., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Faloak (*Sterculia* sp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Info Kesehatan*, 15(1), 227-239.
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, dan H. Kaur., 2011, Phytochemical screening and extraction: a review, *Internasionale Pharmaceutica Scientia*. 1(1):98-106.
- Tjitda, P. J. P., & Nitbani, F. O. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol, Kloroform dan n-Heksan Daun Flamboyan. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 13(2), 70-79.
- Wahyuni, R. M., A. Sayuti., M. Abrar., Erina., M. Hasan dan Zainuddin. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Enterik Patogen pada Badak Sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) di Suaka Rhino Sumatera (SRS), Taman Nasional Way Kambas (TNWK), Lampung. *JIMVET*. 4(2) : 474-487.
- Wartini, N.M, 2010, Senyawa Penyusun Ekstrak flavor Daun Salam (*Eugenia poliantha* Wight) Hasil Distilasi Uap Menggunakan Pelarut n- Heksana dan tanpa n – Heksana, *Jurnal Agroteknologi*, 15(2), 72 – 77.
- Widoyono, 2011, Penyakit Tropis Epidemiologi, Penularan, Pencegahan dan Pemberantasannya, Edisi 2, Erlangga, Jakarta.

- Widyawati, T., Purnawan, W.W., Atangwho, I.J., Yusoff, N.A., Ahmad, M., Asmawi, M.Z., 2015, Anti-Diabetic Activity of *Syzygium polyanthum* (Wight) Leaf Extract, The Most Commonly Used Herb Among Diabetic Patients in Medan, North Sumatra, Indonesia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(4), 1698–1704.
- Wijoyo, Padmiarso M. 2008. *Sehat dengan Tanaman Obat, Seri kelima*, Bee Media Indonesia, Jakarta.
- Wilapangga, A., & Sari, L. P. (2018). Analisis Fitokimia dan Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(1).
- World Health Organization. (2015). *Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*, World Health Organization, Zimbabwe.
- World Health Organization. 2018. *Weekly Epidemiological Record*, World Health Organization, Geneva.
- Wulandari, M. A. (2014). Potensi Antibakteri Dan Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Bintaro (*Carbera Odollam Gaertn.*) Terhadap *Salmonella Typhi* Dan *Staphylococcus Aureus* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Yuliati, M., 2012, Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen Secara KLT-Bioautografi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, Makassar.
- Yusliana, Y., Heronimus, C. G. L., Pieter, J. D., & Linda, C. 2019. Uji daya hambat antibakteri air perasan daging buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr Var. Queen) terhadap bakteri *Salmonella typhi*. *Scientia Journal*, 8(1), 1-9.
- Yuwanti, R. 2010. Uji Afrodisiaka Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol 70% Kuncup Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) terhadap 75 Libido Tikus Jantan. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.