

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Salam Tua (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Escherichia coli* secara *In Vitro*

Agus Evendi^{1*}, Maria Eka Suryani¹, Nurul Anggrieni¹

¹Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Kalimantan Timur, Samarinda, Indonesia

email Korespondensi: agusevendi.biomed@gmail.com

ABSTRAK. Infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* masih menjadi salah satu penyebab utama diare di Indonesia. Penggunaan antibiotik sintesis secara berlebihan dapat memicu resistensi, sehingga diperlukan alternatif antibakteri alami. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun salam tua terhadap *E. coli* secara *in vitro*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Uji fitokimia dilakukan untuk identifikasi senyawa aktif, uji antioksidan menggunakan metode DPPH, dan uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran pada media *Mueller Hinton Agar* dengan variasi konsentrasi ekstrak 25, 50, 100, 200, dan 400 µg/well. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan karbohidrat. Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada konsentrasi 50 ppm dengan penghambatan 73,48%. Uji antibakteri menunjukkan zona hambat terbesar pada konsentrasi 100 µg/well sebesar 12,78 mm yang termasuk kategori sedang-kuat. Mekanisme penghambatan diduga melalui kerusakan membran sel oleh flavonoid dan tanin. Simpulan penelitian ini adalah ekstrak metanol daun salam tua memiliki aktivitas antibakteri sedang terhadap *E. coli* dan berpotensi dikembangkan sebagai bahan antibakteri alami untuk mencegah infeksi akibat bakteri Gram-negatif.

Kata kunci: *Syzygium polyanthum*, antibakteri, *Escherichia coli*, daun salam tua, ekstrak metanol

ABSTRACT. Infection with *Escherichia coli* remains a significant cause of diarrhea in Indonesia. The overuse of synthetic antibiotics has led to increased bacterial resistance, thereby encouraging the exploration of natural antibacterial agents. Bay leaf (*Syzygium polyanthum*) contains various secondary metabolites that potentially act as antibacterial compounds. This study aimed to determine the antibacterial activity of the methanolic extract of old bay leaves against *E. coli* *in vitro*. The extraction process was conducted by maceration with methanol. Phytochemical screening was performed to identify secondary metabolites; antioxidant activity was determined using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method; and antibacterial activity was tested using the well-diffusion method on *Mueller-Hinton Agar* with extract concentrations of 25, 50, 100, 200, and 400 µg/well. Phytochemical results indicated the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, steroids, and carbohydrates. The highest antioxidant activity was observed at 50 ppm, with an inhibition percentage of 73.48%. The antibacterial test showed the largest inhibition zone at 100 µg/well (12.78 mm), categorized as moderate to strong activity. The inhibition mechanism is likely due to membrane disruption and protein denaturation caused by flavonoids and tannins. In conclusion, the methanolic extract of old bay leaves demonstrates moderate antibacterial activity against *E. coli*. It has potential as a natural antibacterial agent to control infections caused by Gram-negative bacteria.

Keywords: *Syzygium polyanthum*, antibacterial, *Escherichia coli*, old bay leaves, methanol



This is an open access article distributed under the terms of [CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) 4.0 license.

PENDAHULUAN

Infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di berbagai negara, termasuk Indonesia. Bakteri ini merupakan flora normal usus manusia, namun dapat menjadi patogen oportunistik yang menyebabkan diare, infeksi saluran kemih, dan sepsis pada individu dengan sistem imun lemah. Penggunaan antibiotik sintesis secara berlebihan dan tidak tepat telah memicu munculnya resistensi bakteri terhadap

berbagai golongan antibiotik, sehingga efektivitas terapi konvensional menjadi menurun. Kondisi tersebut mendorong perlunya eksplorasi bahan alam sebagai alternatif antibakteri yang lebih aman, mudah diperoleh, dan berkelanjutan.

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan tanaman rempah yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di Indonesia dan Malaysia. Selain sebagai bumbu dapur, daun salam dipercaya memiliki khasiat untuk menurunkan

tekanan darah, mengontrol kadar gula, serta mengatasi gangguan pencernaan. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa daun salam mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid yang berperan dalam aktivitas antibakteri dan antioksidan (Ismail & Wan Ahmad, 2019; Wahab & Ja'afar, 2021; Wahdaniah, 2024; Rumyaan, 2025). Senyawa-senyawa tersebut mampu mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat sintesis protein, serta menonaktifkan enzim-enzim penting dalam proses metabolisme bakteri.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun salam memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Wahab dan Ja'afar (2021) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun salam menghasilkan zona hambat antara 8–14 mm terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Klebsiella pneumoniae*, namun tidak menunjukkan hambatan terhadap *E. coli*. Sebaliknya, Evendi (2017) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun salam muda dengan konsentrasi 25–400 µg/well menghasilkan zona hambat sebesar 10,44–12,11 mm terhadap *E. coli*. Perbedaan ini mengindikasikan bahwa potensi antibakteri daun salam dapat dipengaruhi oleh tingkat kematangan daun, jenis pelarut, serta metode ekstraksi yang digunakan.

Ismail dan Wan Ahmad (2019) juga menyatakan bahwa ekstrak metanol daun salam mengandung senyawa bioaktif yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan dan antibakterinya. Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan merusak integritas membran bakteri dan menghambat enzim metabolik yang penting bagi pertumbuhan mikroba.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, diperlukan kajian lanjutan mengenai aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun salam tua terhadap *Escherichia coli* untuk mengetahui pengaruh tingkat kematangan daun terhadap efektivitas antibakteri. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun salam tua terhadap *E. coli* secara *in vitro* sebagai kelanjutan dari penelitian Evendi (2017) yang menggunakan daun salam muda.

METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode eksperimental dengan desain *post-test only control group design* yang dilakukan secara *in vitro* untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun salam tua (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Escherichia coli*.

Alat yang digunakan meliputi timbangan analitik, oven, rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, autoklaf, water bath, penggaris. Bahan yang digunakan yaitu daun salam tua sega, pelarut metanol teknis (Merck®), reagen fitokimia (Mayer, Wagner, Liebermann-Burchard, Fehling, dan NaOH 10%), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif, serta isolat *Escherichia coli*.

Prosedur penelitian meliputi tiga tahapan utama, yaitu ekstraksi daun salam tua, uji fitokimia, uji aktivitas antioksidan, dan uji aktivitas antibakteri.

Tahap pertama, ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 72 jam. Filtrat disaring menggunakan kertas Whatman No.1 dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Tahap kedua adalah uji fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid menggunakan metode Harborne (1987). Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna spesifik sesuai reagen yang digunakan.

Tahap ketiga yaitu uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Larutan ekstrak disiapkan dalam lima konsentrasi (3,125; 6,25; 12,5; 25; dan 50 ppm). Serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Persentase penghambatan dihitung dengan rumus $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100\%$, dengan A_0 adalah absorbansi kontrol dan A_1 adalah absorbansi sampel (Mashuri et al., 2019).

Tahap terakhir yaitu uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran (well diffusion method) pada media MHA. Suspensi bakteri *E. coli* disesuaikan dengan standar kekeruhan 0,5 McFarland ($\pm 1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Sumuran dibuat dengan diameter 6 mm, kemudian diisi dengan ekstrak daun salam tua pada konsentrasi 25, 50, 100, 200, dan 400

$\mu\text{g/well}$. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dan metanol sebagai kontrol negatif. Setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter menggunakan jangka sorong digital.

Data hasil pengukuran dianalisis secara deskriptif kuantitatif dengan menghitung rata-rata zona hambat dan mengklasifikasikan daya hambat berdasarkan kriteria Davis dan Stout (1971), yaitu <5 mm (lemah), 5–10 mm (sedang), 10–20 mm (kuat), dan >20 mm (sangat kuat).

HASIL

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun salam tua (*Syzygium polyanthum*) mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan karbohidrat, sedangkan triterpenoid tidak terdeteksi (Tabel 1). Keberadaan senyawa metabolit sekunder ini mendukung aktivitas biologis ekstrak karena masing-masing senyawa diketahui memiliki potensi antibakteri dan antioksidan (Tabel 1).

Tabel 1. Uji fitokimia ekstrak daun salam tua

| Senyawa metabolit sekunder | Hasil |
|----------------------------|---------|
| Alkaloid | Positif |
| Flavonoid | Positif |
| Saponin | Positif |
| Tanin | Positif |
| Steroid | Positif |
| Triterponoid | Negatif |
| Karbohidrat | Positif |

Kandungan flavonoid dan tanin berperan penting dalam penghambatan pertumbuhan bakteri melalui mekanisme pengendapan protein, peningkatan permeabilitas membran, dan gangguan proses metabolisme sel (Wahab & Ja'afar, 2021). Hasil ini sejalan dengan penelitian Ismail dan Wan Ahmad (2019) yang melaporkan bahwa ekstrak metanol daun salam kaya akan senyawa fenolik seperti asam galat dan asam kafeat yang berkontribusi terhadap efek antibakteri dan antioksidan.

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Hasil pengujian menunjukkan bahwa persentase penghambatan meningkat seiring dengan peningkatan

konsentrasi ekstrak, dengan aktivitas tertinggi pada konsentrasi 50 ppm sebesar 73,48% (Tabel 2).

Nilai penghambatan di atas 70% menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat (Blois, 1958). Aktivitas ini berkaitan dengan kandungan fenolik dan flavonoid yang berfungsi sebagai donor elektron untuk menetralkan radikal bebas. Sapotri et al. (2022) juga melaporkan bahwa flavonoid dan tanin dari daun salam memiliki kemampuan *radical scavenging* yang tinggi, sehingga berkontribusi terhadap stabilitas senyawa antibakteri dalam ekstrak metanol.

Tabel 2. Uji antioksidan ekstrak daun salam tua

| Konsentrasi (ppm) | Penghambatan (%) |
|-------------------|------------------|
| 50 | 73.48 |
| 25 | 63.02 |
| 12.5 | 44.04 |
| 6.25 | 28.22 |
| 3.125 | 18.73 |

Hasil uji antibakteri ekstrak metanol daun salam tua terhadap *Escherichia coli* menunjukkan adanya zona hambat pada semua konsentrasi uji, dengan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/well}$ sebesar 12,78 mm.

Tabel 3. Diameter zona hambat ekstrak daun salam tua terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*

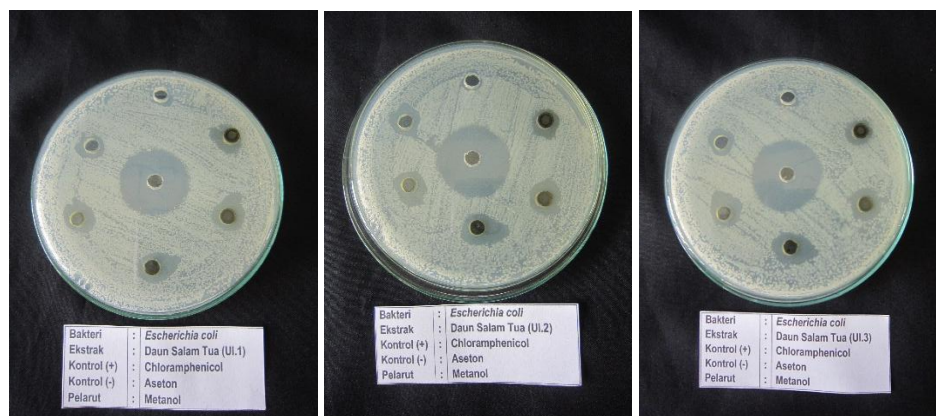
| Sampel uji | Rata-rata diameter zona hambat (mm) | Daya hambat relatif (%) |
|--|-------------------------------------|-------------------------|
| Kontrol positif | 25.22 | 100 |
| Konsentrasi ekstrak 25 $\mu\text{g/well}$ | 10.44 | 41 |
| Konsentrasi ekstrak 50 $\mu\text{g/well}$ | 10.78 | 43 |
| Konsentrasi ekstrak 100 $\mu\text{g/well}$ | 12.78 | 51 |
| Konsentrasi ekstrak 200 $\mu\text{g/well}$ | 10.67 | 46 |
| Konsentrasi ekstrak 400 $\mu\text{g/well}$ | 10.44 | 41 |

Berdasarkan klasifikasi Davis dan Stout (1971), zona hambat 10–20 mm tergolong aktivitas antibakteri kuat. Pola penghambatan menunjukkan hubungan non-linier antara peningkatan konsentrasi ekstrak dan diameter zona hambat, yang dapat

disebabkan oleh efek kejenuhan senyawa aktif pada difusi agar (Rizkiana et al., 2022).

Hasil ini sejalan dengan penelitian Evendi (2017) yang melaporkan bahwa ekstrak metanol daun salam muda pada konsentrasi 25–400 $\mu\text{g/well}$ menghasilkan zona hambat 10,44–12,11 mm terhadap *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa daun salam tua memiliki efektivitas antibakteri yang relatif setara dengan daun muda, namun berpotensi lebih stabil karena akumulasi senyawa fenolik selama proses pematangan daun.

Mekanisme penghambatan diduga melibatkan interaksi flavonoid, tanin, dan alkaloid dengan protein membran bakteri sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler dan gangguan metabolisme (Ismail & Wan Ahmad, 2019; Wahab & Ja'afar, 2021, Musyida, 2021; Husnia, 2022). Selain itu, sifat antioksidan kuat yang dimiliki ekstrak metanol daun salam tua berperan dalam mencegah oksidasi senyawa aktif sehingga memperkuat stabilitas aktivitas antibakterinya.



Gambar 1. Aktivitas antibakteri *Escherichia coli* (a) Ulangan pertama; (b) Ulangan kedua; (c) Ulangan ketiga. Nomor 1 = Konsentrasi ekstrak 25 $\mu\text{g/well}$, 2 = Konsentrasi ekstrak 50 $\mu\text{g/well}$, 3 = Konsentrasi ekstrak 100 $\mu\text{g/well}$, 4 = Konsentrasi ekstrak 200 $\mu\text{g/well}$, 5 = Konsentrasi ekstrak 400 $\mu\text{g/well}$, tanda + = Kloramfenikol, dan tanda - = Aseton

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun salam tua (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan zona hambat terbesar pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/well}$ sebesar 12,78 mm yang tergolong kategori kuat. Aktivitas ini sejalan dengan hasil penelitian Evendi (2017) yang melaporkan zona hambat 10,44–12,11 mm pada ekstrak daun salam muda terhadap *E. coli*. Kesamaan hasil ini menunjukkan bahwa daun salam tua masih memiliki efektivitas antibakteri yang baik meskipun terjadi perubahan kadar metabolit seiring proses pematangan daun.

Kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid yang terdeteksi pada uji fitokimia berperan penting terhadap aktivitas antibakteri. Flavonoid diketahui dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, sehingga menyebabkan kebocoran

komponen intraseluler. Tanin berfungsi sebagai astringen yang dapat mengendapkan protein dinding sel bakteri dan menghambat enzim metabolik (Ismail & Wan Ahmad, 2019). Selain itu, saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Wahab & Ja'afar, 2021).

Aktivitas antioksidan kuat yang ditunjukkan dengan persentase penghambatan DPPH sebesar 73,48% pada konsentrasi 50 ppm juga mendukung aktivitas antibakteri ekstrak. Senyawa fenolik dan flavonoid berperan ganda sebagai antioksidan dan antibakteri karena kemampuan mereka dalam mendonorkan proton dan menstabilkan radikal bebas, sehingga memperkuat kestabilan struktur senyawa bioaktif (Sapoetri et al., 2022). Hasil ini konsisten dengan laporan Bhakti (2024) yang menyebutkan bahwa aktivitas antioksidan yang tinggi berkorelasi positif dengan peningkatan daya hambat pertumbuhan bakteri Gram negatif.

Mekanisme penghambatan *E. coli* oleh ekstrak metanol daun salam tua diduga melalui interaksi senyawa flavonoid dan tanin dengan protein membran luar, yang menyebabkan kerusakan permeabilitas dan gangguan respirasi sel bakteri. Selain itu, senyawa alkaloid dapat menghambat pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sementara steroid berfungsi memperkuat efek antibakteri melalui stabilisasi membran lipid (Wahab & Ja'afar, 2021; Ismail & Wan Ahmad, 2019).

Berdasarkan hasil tersebut, daun salam tua memiliki potensi yang sebanding dengan daun muda sebagai sumber antibakteri alami terhadap *E. coli*. Kelebihan daun tua terletak pada kestabilan kandungan fenolik dan flavonoidnya yang lebih tinggi, yang menjadikannya lebih tahan terhadap degradasi oksidatif. Penelitian ini memperkuat bukti bahwa tingkat kematangan daun mempengaruhi konsentrasi metabolit sekunder dan efektivitas antibakteri tanaman herbal. Dengan demikian, ekstrak metanol daun salam tua berpotensi dikembangkan sebagai bahan baku antibakteri alami untuk mencegah infeksi akibat bakteri Gram negatif secara berkelanjutan.

SIMPULAN

Ekstrak metanol daun salam tua (*Syzygium polyanthum*) terbukti mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan karbohidrat yang berperan dalam aktivitas biologisnya. Hasil uji menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan persentase penghambatan DPPH sebesar 73,48% pada konsentrasi 50 ppm serta kemampuan antibakteri kategori sedang hingga kuat terhadap *Escherichia coli* dengan zona hambat terbesar sebesar 12,78 mm pada konsentrasi 100 µg/well. Mekanisme antibakteri diduga melalui kerusakan membran sel dan penghambatan enzim metabolik oleh senyawa flavonoid dan tanin. Dengan demikian, ekstrak metanol daun salam tua berpotensi dikembangkan sebagai bahan antibakteri alami terhadap bakteri Gram negatif dan dapat menjadi dasar penelitian lanjutan dalam formulasi fitofarmaka berbasis tanaman herbal Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kalimantan Timur atas dukungan pendanaan melalui skema Penelitian Pemula Tahun Anggaran 2025.

REFERENSI

- Bhakti, U. K., Sasmito, E., & Santoso, J. (2024). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kesehatan Republik Indonesia*, 1(7), 90–96.
- Evendi, A. (2017). Uji fitokimia dan anti bakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal*, 2(1), 1–9.
- Haerussana, A. N. E. M., Dwiastuti, W. P., Sukowati, C. A., & Widyastiwati, W. (2022). Inhibitory test of bay leaf (*Eugenia polyantha*) extract against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education*, 4(2), 223–228.
- Husnia, R., Vitayani, S., Polanunu, N. F. A., Sodikah, Y., & Dahlia, D. (2022). Uji efektivitas ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Fakumi Medical Journal*, 2(1), 25–29.
- Ismail, N., & Wan Ahmad, W. A. N. (2019). *Syzygium polyanthum*: A potential phytochemistry. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2), 685–692.
- Mursyida, E., Almira, R., Widiyastuti, S., & Misfa, O. (2021). Antibacterial activity of bay leaf (*Syzygium polyanthum*) ethanol extract on *Escherichia coli* growth. *Photon Journal*, 12(1), 12–16.
- Rumyaan, E. F., Putri, M. K., & Sari, E. K. (2025). Formulation and antibacterial activity test of bay leaf (*Syzygium polyanthum*) ethanol extract hand sanitizer preparation against *Staphylococcus aureus* bacteria. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 8(1), 73–82.
- Sapoetri, G. I., Revina, R., & Muti, A. F. (2022). Antibacterial activity test of bay leaf extract (*Syzygium polyanthum*) against *Staphylococcus*

aureus and Escherichia coli: Systematic literature review. *Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 36–40.

Wahab, N. Z., & Ja'afar, N. S. A. (2021). Phytochemical composition and antibacterial activities of Syzygium polyanthum methanolic leaves extract. *Pharmacognosy Journal*, 13(6), 1355–1358.

Wahdaniah, W., Rukman, N., & Arifin, R. (2024). The effect of bay leaf (Syzygium polyanthum) extract hand washing liquid soap preparation on the growth of Escherichia coli bacteria in vitro. *International Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*, 4(2), 55–63.