

Efek Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Salam (*Syzygium polianthum* [Wight.] Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Listiana Masyita Dewi^{1*}, Shella Asfiria Arlita²

¹Pendidikan Dokter/Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta

²Pendidikan Dokter/Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta

*Email: lmd123@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:

Antibacterial; Bay

Leaves;

Staphylococcus aureus

Latar Belakang: *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab utama terjadinya infeksi secara global. *Staphylococcus aureus* mampu menghasilkan enzim β -laktamase yang dapat mengakibatkan resistensi. Daun salam mengandung zat aktif yang memiliki sifat antibakteri seperti tanin, flavonoid, minyak atsiri, dan alkaloid. *Tujuan:* Untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun salam (*Syzygium polianthum* [Wight.] Walp.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Metode:* Tiap bakteri dibagi menjadi 5 kelompok, cefazoline sebagai kontrol positif, CMC 1% sebagai kontrol negatif, ekstrak 5%, 10%, dan 20% sebagai kelompok perlakuan. Zona hambat disekitar sumuran diukur menggunakan jangka sorong. *Hasil:* Zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* terbentuk pada konsentrasi 5% sebesar $10,5 \pm 0,44$ mm, pada konsentrasi 10% sebesar $12,25 \pm 0,47$ mm, dan pada konsentrasi 20% sebesar $16,58 \pm 0,89$ mm. Analisis statistik Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p=0,00$ pada masing-masing bakteri. *Kesimpulan:* Fraksi daun salam (*Syzygium polianthum* [Wight.] Walp.) memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan secara statistik terhadap *Staphylococcus aureus*.

1. PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus adalah salah satu flora normal tubuh namun juga dapat bersifat patogen pada manusia. Proses infeksi bakteri ini dapat menyebabkan terjadinya beberapa masalah kesehatan seperti bakterimia, endokarditis, osteoartikular, osteomielitis akut, infeksi pada kulit dan jaringan lunak, meningitis dan infeksi paru-paru. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab utama terjadinya infeksi secara global dengan angka prevalensi 18-30%. Di benua Asia *Staphylococcus aureus* memiliki angka

prevalensi kejadian infeksi mencapai 21% [1-3]

Patogenesis bakteri *Staphylococcus aureus* ditemukan di lubang hidung manusia dan di permukaan kulit pada host dengan kondisi lemah. Disamping itu bakteri dapat masuk ke dalam organ tubuh manusia melalui membran mukosa dan dapat menyebabkan munculnya manifestasi klinis yang disebabkan oleh faktor virulensi [4]

Bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai protein pada permukaan yang akan memperantarai adanya perlekatan

antara bakteri dan jaringan inang. Adanya faktor tersebut memiliki pengaruh terjadinya kasus endokarditis, osteomielitis, dan septik arthritis [1]

Staphylococcus aureus mampu menghasilkan protein yaitu enzim β -laktamase yang dapat mengakibatkan terjadinya resistensi. Enzim tersebut berperan dalam proses menghilangkan daya anti bakteri khususnya penisilin dengan cara merusak cincin β -laktam yang dapat mengakibatkan antibiotik tidak dapat bekerja optimal [5]. Diperkirakan sekitar 90% *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap obat golongan penisilin [2].

Staphylococcus aureus merupakan bakteri penyebab infeksi tersering yang memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi sehingga menjadi resisten terhadap banyak antibiotik. Pada 60 tahun yang lalu, dilaporkan untuk pertama kalinya bahwa *Penicillin* merupakan *antibiotic resistant Staphylococcus aureus*. Untuk menangani *Penicillin resistant Staphylococcus aureus* muncullah *Methicillin*, namun hanya dua tahun setelah di perkenalkan telah dilaporkan kasus *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Terjadinya resistensi ini mendorong untuk dilakukannya penelitian mengenai bahan aktif baru untuk digunakan sebagai alternatif antibiotik, salah satunya adalah daun salam.

Di Indonesia tanaman salam (*Syzygium polianthum* [Wight.] Walp.) merupakan salah satu bahan alami yang tersedia dalam jumlah banyak dan mudah didapatkan. Beberapa penelitian membuktikan bahwa kandungan daun salam bermanfaat dalam berbagai bidang pengobatan seperti antioksidan, antimikroba, antidiare, antikanker, antitumor, dan antihipertensi. Daun salam juga bersifat diuretik sehingga mampu memperbanyak produksi urin, sehingga menurunkan kadar asam urat dalam darah diabetes mellitus, gangguan lambung, untuk mengatasi penyakit hemoroid, diare, hipertensi dan kolesterol [6,7].

Daun salam memiliki kandungan berbagai senyawa kimia seperti tanin (21,7%), flavonoid (0,4%), dan minyak atsiri (0,05%) yang memiliki aktivitas

antibakteri. Senyawa kimia yang lain adalah alkaloid, saponin, polifenol, dan triterpene. Kandungan senyawa kimia tersebut mampu mengkoagulasikan protein dan mengganggu permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan inaktivasi fungsi bakteri kemudian akan menghambat pertumbuhan bakteri [7,8].

Penelitian terdahulu menjelaskan bahwa ekstrak etanol daun salam memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dan menunjukkan peningkatan daya hambat sebanding dengan peningkatan konsentrasi [7].

Penelitian lain dengan konsentrasi 12,5% fraksi etil asetat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sudah mempunyai kadar hambat minimum sebesar $8,85 \pm 0,26$ mm dan konsentrasi 12,5% pada *Staphylococcus aureus* mempunyai kadar hambat minimum sebesar $9,47 \pm 0,08$ mm. Menurut Manik, 2014 fraksi etil asetat merupakan fraksi paling aktif dibandingkan dengan fraksi lainnya pada konsentrasi yang sama sebagai antibakteri. [9].

2. METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental sejati (*true experiment*) dengan rancangan *posttest only control group design*. Surat Kelayakan Etik dikeluarkan oleh Komisi Etik dan Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UMS dengan nomor 3191/A.1/KEPK-FKUMS/I/2021.

Tanaman uji yaitu salam diambil dari Tawangmangu, Karanganyar. Bagian tanaman yang diambil untuk dijadikan fraksi yaitu bagian daun yang masih utuh. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu dengan nomor YK.01.03/2/2540/2020. Hasil determinasi menunjukkan spesies tanaman adalah Salam dengan spesies *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. dengan sinonim *Eugenia polyantha* Wight. *Eugenia lucidula* Miq.

Fraksi daun salam dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan tujuan melarutkan senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun salam yaitu flavonoid, alkaloid, tannin, dan minyak atsiri. Serbuk daun salam dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 3 hari kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator dan waterbath hingga terbentuk ekstrak kental. Fraksinasi daun salam dilakukan dengan melarutkan ekstrak etanol 96% daun salam dengan aquadest ditambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:3 kedalam corong pisah. Simplisia dikocok secara perlahan-lahan lalu didiamkan 24 jam hingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Hasil fraksinasi etil asetat yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator untuk mendapatkan fraksi kental. Kemudian fraksi etil asetat daun salam dibagi menjadi tiga konsentrasi 5%, 10%, dan 20%.

Penentuan konsentrasi berdasarkan rumus progresi geometris sebagai berikut:

$$Y_n = Y_1 \times R^{(n-1)}$$

Keterangan:

Y₁ : Konsentrasi pertama

Y_n : Konsentrasi ke-n

R : Faktor geometris ≠ 0 atau 1
 kelipatan konsentrasi

$$Y_1 = 5\%$$

$$Y_n = Y_1 \times R^{(n-1)}$$

$$Y_2 = 5\% \times 2^{(2-1)}$$

$$Y_2 = 5\% \times 2^1$$

$$Y_2 = 10\%$$

$$Y_3 = Y_1 \times R^{(n-1)}$$

$$Y_3 = 5\% \times 2^{(3-1)}$$

$$Y_3 = 5\% \times 2^2$$

$$Y_3 = 20\%$$

Berdasarkan perhitungan di atas, didapatkan nilai konsentrasi fraksi etil asetat daun salam sebesar 5%, 10%, 20%. Kemudian larutan uji diencerkan dengan menggunakan CMC 1% hingga mendapatkan konsentrasi 5%, 10%, 20%.

$$V_s \times C_s = V_n \times C_n$$

Keterangan :

V_s : volume awal

C_s : konsentrasi awal

V_n : volume yang diharapkan

C_n : konsentrasi yang diharapkan (5%, 10%, dan 20%)

Jika larutan awal 100% dan volume yang diharapkan untuk masing-masing konsentrasi 5 ml maka:

Konsentrasi 5%

$V_s = (V_{5\%} \times C_{5\%}) / C_s = (5 \text{ ml} \times 5\%) / (100\%) = 0,25 \text{ ml}$ Jumlah CMC 1% yang ditambahkan pada konsentrasi 5% adalah 4,75 ml.

Konsentrasi 10%

$V_s = (V_{10\%} \times C_{10\%}) / C_s = (5 \text{ ml} \times 10\%) / (100\%) = 0,5 \text{ ml}$

Jumlah CMC 1% yang ditambahkan pada konsentrasi 10% adalah 4,5 ml.

Konsentrasi 20%

$V_s = (V_{20\%} \times C_{20\%}) / C_s = (5 \text{ ml} \times 20\%) / (100\%) = 1 \text{ ml}$ Jumlah CMC 1% yang ditambahkan pada konsentrasi 20% adalah 4 ml.

Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran. Subjek penelitian adalah biakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UMS. Bakteri dibiakkan dalam media agar Mueller-Hinton. Bakteri terbagi menjadi 5 kelompok yang terbagi dalam pada 3 kelompok perlakuan, dengan 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif. Kelompok perlakuan terdiri dari fraksi daun salam konsentrasi 20%, 10%, dan 5%, kontrol positif yaitu cefazoline dan kontrol negatif yaitu CMC 1%. Jumlah minimal pengulangan tiap kelompok dihitung dengan rumus Federer:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

n: jumlah minimal pengulangan

t: jumlah kelompok

Dari rumus Federer, didapatkan jumlah minimal pengulangan tiap kelompok adalah 5 kali.

Fraksi etil asetat daun salam yang telah dicairkan, diambil sebanyak 30µl kemudian diteteskan ke sumuran. Kontrol positif menggunakan antibiotik cefazoline dan kontrol negatif menggunakan CMC 1% yang diteteskan pada sumuran sebanyak 30µl.

Dilakukan standarisasi kepadatan bakteri dengan McFarland 0,5. Bakteri dioleskan secara merata ke media agar

Mueller-Hinton. Disk yang telah berisi fraksi, kontrol positif, dan kontrol negatif diletakkan diatas media yang telah dioles bakteri. Media berisi bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37o C.

Setelah inkubasi, dilihat zona hambat yang muncul di sekitar sumuran, kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan perangkat lunak statistika. Data diuji normalitas dengan *Saphiro Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's test*. Kemudian dilakukan uji beda non parametik *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan *Post Hoc Mann-Whitney*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel I. Diameter zona hambat *Staphylococcus aureus*

Kelompok	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)
Kontrol Positif	51,67±1,66
Kontrol Negatif	0
Ekstrak 5%	10,5±0,44
Ekstrak 10%	12,25±0,47
Ekstrak 20%	16,58±0,89



Kelompok Kontrol Kelompok Fraksi

Gambar I. Hasil uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Tabel I menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan

bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan kontrol negatif CMC. Namun, efektivitas dari ketiga konsentrasi tersebut masih belum sebaik kontrol positif (cefazolin). Perbandingan antara ketiga konsentrasi tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi etil asetat daun salam, semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk.

Selisih diameter zona hambat pada tiap konsentrasi menunjukkan hasil yang signifikan secara statistik. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun salam pada konsentrasi 20% paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 10%, tetapi tidak seefektif cefazolin.

Fraksi etil asetat daun salam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* terkait aktivitas antibakteri dari daun salam karena adanya senyawa flavonoid, tanin, dan minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid dapat mendenaturasi protein yang menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri. Tanin dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dan memiliki kemampuan mencegah koagulasi plasma pada *Staphylococcus aureus*. Minyak atsiri dapat mengganggu enzim yang membantu pembentukan energi sehingga memperlambat pertumbuhan sel dan dalam jumlah banyak dapat juga mendenaturasi protein. Alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri.

Hasil pemeriksaan zona hambat *Staphylococcus aureus* pada tabel 1 diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Hal ini disebabkan karna semakin banyak senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak tersebut. Ningtyas (2010) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak kandungan bahan aktif antibakterinya. Penambahan konsentrasi senyawa antibakteri diduga

dapat meningkatkan penetrasi senyawa antibakteri ke bagian dalam sel mikroba yang akan merusak sistem metabolisme sel dan dapat mengakibatkan kematian sel.

Dilakukan analisis data terhadap data diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri. Uji normalitas data untuk diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan uji *Saphiro Wilk* memberikan hasil data tidak normal dan uji homogenitas dengan *Levene's test* memberikan hasil data tidak homogen. Selanjutnya dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok. Hasil analisis *Kruskal Wallis* pada data diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan nilai p sebesar 0,000 sehingga $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang perbedaan signifikan antara rerata diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada tiap-tiap kelompok. Kemudian, dilakukan uji lanjutan (*Post Hoc*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang bermakna. Pada *Staphylococcus aureus*, Uji *Post Hoc* dilakukan dengan uji *Man Whitney*.

Dari hasil analisis *Post-Hoc* zona hambat dengan metode *Mann Whitney* didapatkan hasil bahwa setiap kelompok uji bernilai signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* hal ini dilihat dari nilai $p < 0,05$. Kelompok dengan nilai signifikansi tertinggi adalah kelompok 5% vs 20% dengan nilai $p = 0,002$ dan kelompok dengan nilai signifikansi paling rendah adalah kelompok 5% vs CMC, 5% vs cefazolin, 10% vs CMC, 10% vs cefazolin, 20% vs CMC dan 20% vs cefazolin dengan nilai p masing-masing 0,024.

Hasil analisis *Post-Hoc* zona hambat dengan metode *Mann Whitney* diketahui bahwa setiap kelompok memiliki nilai yang signifikan ($p < 0,05$) dan didapatkan bahwa pada fraksi dengan konsentrasi 20% dibanding kelompok kontrol negatif (CMC) memiliki selisih rerata diameter zona hambat (mm) tertinggi yakni 16,58 ($p = 0,024$), namun masih lebih rendah dibanding dengan kelompok kontrol positif

(cefazolin) dengan selisih rerata diameter zona hambat (mm) sebesar 35,09 ($p = 0,024$). Nilai perbedaan selisih dari setiap kelompok fraksi dibanding kelompok negatif (CMC) terbesar ialah pada kelompok 20%, hal ini selaras dengan teori sebelumnya yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin banyak senyawa aktif yang terkandung. Namun jika kelompok fraksi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (cefazolin) masih memiliki selisih yang cukup besar yakni 35,09 mm, maka dari itu masih diperlukan penelitian lebih lanjut dengan meningkatkan konsentrasi pada kelompok fraksi.

Hipotesis penelitian diterima yaitu fraksi etil asetat daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Efek antibakteri terlihat pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% yang mengalami kenaikan sesuai besarnya konsentrasi [10].

4. KESIMPULAN

Daun salam (*Syzygium polianthum* [Wight.] Walp.) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksi etil asetat daun salam (*Syzygium polianthum* [Wight.] Walp.) pada konsentrasi 5%, 10%, 20% memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai efektivitas tertinggi pada konsentrasi 20%. Efek antibakteri oleh fraksi etil asetat konsentrasi 5%, 10%, dan 20% belum bisa menyamai daya hambat cefazoline 30 µg.

Perlu pemeriksaan kuantitatif kandungan zat aktif daun salam untuk mengetahui keefektifan masing-masing zat. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek antibakteri daun salam dengan konsentrasi ekstrak lebih besar. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek antibakteri daun salam pada hewan uji.

REFERENSI

- [1] Gillaspay A. F, Iandolo J. J, Tang Y. W, & Stratton C. W. *Staphylococcus*. In *Encyclopedia of Microbiology*. 2019

- [2] Gnanamani A, Hariharan P, & Paul-Satyaseela M. *Staphylococcus aureus* : Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. In *Frontiers in Staphylococcus aureus* . 2017.
- [3] WHO. Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) Report. WHO. 2017.
- [4] Grace D, Fetsch A. *Staphylococcus aureus* - a foodborne pathogen: epidemiology, detection, characterization, prevention, and control: an overview. In *Staphylococcus aureus* . 2018.
- [5] Kittl S, Brodard I, Heim D, Andina-Pfister P, & Overesch G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* str. *Applied and Environmental Microbiology*. 2020.
- [6] Tammi A, Apriliani E, & Ramadhian M. R. Potensi Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *J. Agromedicine Unila*. 2018; 5(2), p. 562.
- [7] Utami P. R. & Ramadhani R. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] Walp) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Pannmed*, 2020;15(2)..
- [8] Aini S. N, Effendy R. & Widjiastuti I. Konsentrasi Efektif Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) Terhadap Hambatan Biofilm *Enterococcus faecalis*. *Conservative Dentistry Journal*. 2016; 6(2), pp. 87-92.
- [9] Ardani Y, Soegianto L, & Wijaya S. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antikorum Sensing Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight.). *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan*, 2013; 1(1), 13–18
- [10] Ningtyas R. Uji Antioksidan, Antibakteri Ekstrak Air Daun Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith) Sebagai Pengawet Alami Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* . Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta. 2010.