

# LAMPIRAN

ISSN 10248-2083

# MEDIA FARMASI



Vol. XIII. No. 22, APRIL 2015



Diselenggarakan oleh  
POLI EKSPERIMEN KESIHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN MAKASSAR  
JURUSAN FARMASI

# **MEDIA FARMASI**

## **POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR**

---

Penasehat : Direktur Politeknik Kementerian Kesehatan Makassar  
Penanggung Jawab : Ketua Jurusan Farmasi Poltekkes Kementerian Kesehatan Makassar

Dewan Redaksi  
Ketua : Drs. Jumain, M.Kes, Apt.  
Wakil Ketua : Ronny Horax, S.Si.,M.Sc.,PhD.  
Muhammad saud, SH, S.Farm, M.Kes.  
Drs. H. Tahir Ahmad, Apt.  
Drs. H. Ismail Ibrahim, Apt.  
Drs. Rusli, Sp.FRS.,Apt.

Redaksi Pelaksana  
Ketua : Rusdiaman, S.Si.,M.Si.,Apt.  
Wakil Ketua : Drs. H. Asyhari Asyikin, S.Farm., M.Kes.  
Sekretaris : DR. Hj. Nurisyah, M.Si.,Apt.  
Bendahara : Tajuddin Abdullah, ST.,M.Kes.  
Anggota : Dra. Hiany Salim, M.MKes., Apt.  
Djuniasti Karim, S.Si., M.Si., Apt.  
Sultan, S.Farm., M.MKes.  
Harbiah, ST., M.Si.

Humas : Mispari, SH., S.Farm., M.Kes.  
Rusdiaman, S.Si., M.Si.,Apt.  
Raimundus Chaliks, S.Si  
Arisanty, S.Si.,Apt.

Sirkulasi : Ahmad Murad, S.Sos.  
Hendra Stevani, S.Si., Apt

Alamat Redaksi : Jurusan Farmasi Politeknik Kementerian Kesehatan RI Makassar  
Jl. Baji Gau No. 10 Makassar  
Telp. +62411-854021  
Fax. +62411-830883  
e-mail : [farmasibajigau@ymail.co.id](mailto:farmasibajigau@ymail.co.id)  
Kode Pos 90134

# DAFTAR ISI

---

MEDIA FARMASI POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR		i
EDITORIAL		ii
DAFTAR ISI		lii
1.	POLA PENGGUNAAN VITAMIN DAN MINERAL PADA IBU HAMIL DI RSIA PERTIWI MAKASSAR. Oleh <i>Rusdiaman, Rusli</i> .....	1
2.	UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK BUAH CABAI ( <i>Capsicum frutescens</i> L) TERHADAP <i>Candida albicans</i> . Oleh <i>Rusli, Rusdiaman, Nurul Ilmi</i> .....	8
3.	UJI DAYA HAMBAT SARI BUAH TOMAT ( <i>Solanum lycopersicum</i> L) TERHADAP PERTUMBUHAN <i>Propionibacterium acnes</i> . Oleh <i>Sainal Edi Kamal, Zulfiah, AM Iin Mareo</i> .....	13
4.	ANALISIS LOGAM Pb PADA PERONA KELOPAK MATA (EYE SHADOW) YANG BEREDAR DI PASARAN KOTA MAKASSAR SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM. Oleh <i>Tajuddin Abdullah</i> .....	17
5.	PENGETAHUAN KELUARGA TENTANG DIET HIPERTENSI DI WILAYAH KERJA PUSKESMAS KANJILO KECAMATAN BAROMBONG KABUPATEN GOWA Oleh <i>H. baharuddin K, Sri Rezky Syam</i> .....	21
6.	STUDI KUALITAS PENANGANAN VAKSIN PADA BEBERAPA PUSKESMAS DI KOTA MAKASSAR. Oleh <i>Asyhari Asyikin</i> .....	28
7.	UJI EFEKTIVITAS FORMULA SIRUP ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRSAK ( <i>Annona muricata</i> L) TERHADAP <i>Staphylococcus aureus</i> . Oleh <i>Arisanty, Dwi Rachmawaty Daswi</i> .....	37
8.	UJI EFEKTIVITAS SEDIAAN KRIM EKSTRAK ETANOL TAUGE KACANG HIJAU ( <i>Phaseolus radiates</i> L) TERHADAP <i>Staphylococcus aureus</i> . Oleh <i>Muh Saud, Alfrida Monica Salasa</i> .....	43
9.	EKSTRAKSI DAN IDENTIFIKASI DAUN ARTEMISIN DALAM EKSTRAK DAUN <i>Artemisia annua</i> L. DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT). Oleh <i>Ida Adhayanti</i> .....	48
10.	ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA KAROTENOID EKSTRAK LOMBOK ( <i>Capsicum annum</i> L). ASAL RANTEPANGLI KABUPATEN TANA TORAJA. Oleh <i>H. Ismail Ibrahim, St. Ratnah</i> .....	52
11.	UJI EFEKTIVITAS SEDIAAN PASTA GIGI YANG MENGANDUNG EKSTRAK DAUN GAMASI ( <i>Artocarpus gamansi</i> Park) TERHADAP <i>Streptococcus mutans</i> PENYEBAB KARIES GIGI. Oleh <i>Syamsuddin Abu Bakar, Muhammad Saleh, Jumain</i> .....	57
12.	ANALISIS KADAR NATRIUM BENZOAT PADA MI INSTAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. Oleh <i>Sisilia Tresia Rosmala Dewi</i> .....	64
13.	EFEK EMULGATOR NONIONIK TERHADAP KESTABILAN FISIS KRIM LUKA BAKAR DARI PEGAGAN ( <i>Centela asiatica</i> (L) Urban) DAN	69

	LIDAH BUAYA ( <i>Aloe vera</i> (L). <i>Burm</i> ) Oleh <i>Santi Sinala</i> .....	
14.	TINJAUAN ASPEK FARMASEUTIKA PADA RESEP RACIKAN PASIEN PEDIATRIK PADA APOTIK DI KOTA MAKASSAR. Oleh <i>Jumain, Asmawati, Dewi Astuti</i> .....	77
15.	PERBANDINGAN DAYA BEBERAPA SEDIAAN OBAT KUMUR TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA DALAM MULUT. Oleh <i>Djuniasti Karim, Hianny Salim</i> .....	85
16.	PENERAPAN STRATEGI PENUGASAN INOVATIF UNTUK MENINGKATKAN KEMAMPUAN PRAKTIS PENGGUNAAN PROGRAM MICROSOFT EXCEL MAHASISWA. Oleh <i>Hianny Salim, Hasnah Ibrahim</i> .....	90
17.	PENENTUAN KONDISI OPTIMAL PADA ANALISIS KADAR PARACETAMOL SECARA SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK MENGGUNAKAN PEREAKSI KALIUM BIKROMAT. Oleh <i>Hj. Nurisyah..</i>	98
18.	FAKTOR-FAKTOR YANG MEMENGARUHI KEJADIAN POSTPARTUM BLUES DI RUMAH SAKIT KHUSUS IBU DAN ANAK (RSKDIA) PERTIWI MAKASSAR TAHUN 2014. Oleh <i>Hidayati</i> .....	103
19.	KAJIAN INTERAKSI OBAT PADA PASIEN DIABETES MELITUS TIPE 2 RAWAT INAP DI RSUD HAJI MAKASAR. Oleh <i>Raimundus Chaliks, Muh Saud, Hasnah Ibrahim</i> .....	108
20.	TINGKAT PEGGUNAAN INSULIN PADA PASIEN DIABETES MELITUS TIPE 2 RAWAT INAP DI RSUD LABUANG BAJI MAKASAR. Oleh <i>Mispari, Raimundus Chaliks</i> .....	113
21.	UJI CEMARAN <i>Escherichia coli</i> dan <i>Salmonella thypi</i> PADA JAJANAN AIR TAHU DI DAERAH DAYA KOTA MAKASSAR. Oleh <i>H. Sultan, Muh Saud, Isnaini Rahman</i> .....	117
22.	PERBANDINGAN KADAR KOFEIN DALAM KOPI ( <i>Coffea Arabica</i> ) SEDUHAN DAN DIDIHAN SECARA IODOMETRI. Oleh <i>Ratnasari Dewi, Tajuddin Abdullah, H. Sultan</i> .....	125
23.	PENGARUH EKSTRAK DAUN SALAM ( <i>Syzygium polyanthum</i> Wight) TERHADAP PERTUMBUHAN <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Oleh <i>Sesilia Rante Pakadang</i> .....	130
24.	UJI STABILITAS FISIK SEDIAAN KRIM VCO ( <i>Virgin coconut oil</i> ) KELAPA MERAH ( <i>Cocos rubescens</i> ) Oleh <i>Edi Sutarmanto, Ariyani Buang, Hendra Stevani</i> .....	135
25.	ISOLASI FUNGI ENDOFIT DARI DAUN SRIKAYA ( <i>Annona squamosal</i> L). DAN UJI DAYA HAMBAT TERHADAP BAKTERI <i>Staphylococcus aureus</i> DARI METABOLIT SEKUNDERNYA. Oleh <i>Andi Irdawati, Rina Asriana, Muhammad Farid Hasyim</i> .....	143

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum* WIGHT)  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* dan  
*Pseudomonas aeruginosa***

Sesilia Rante Pakadang\*)

\*)Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Desain penelitian adalah eksperimental menggunakan bahan daun salam yang diekstraksi dengan pelarut etanol 70% menggunakan metode maserasi kemudian dipekatkan dan dibagi menjadi menjadi 3 konsentrasi yaitu 5%, 10%, dan 15%. Sampel bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kontrol negatif digunakan Na. CMC 1% sedangkan kontrol positif digunakan Klindamisin 30 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% memberikan hambatan sebesar 23 mm, 26 mm dan 34,67 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan 12,67 mm, 14,33 mm dan 17,33 mm *Pseudomonas aeruginosa*. Uji Kruskal Wallis menunjukkan ada pengaruh pemberian sampel terhadap zona hambat Berdasarkan besar zona hambat dan uji mann whitney diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam memberikan aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap *Staphylococcus aerius* dibanding *Pseudomonas aeruginosa*.

**Kata Kunci :** Daya hambat, Daun salam, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

**PENDAHULUAN**

**Latar Belakang**

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati lebih dari 30.000 spesies tanaman dan 940 spesies diantaranya diketahui sebagai tanaman obat (Pratiwi. dkk, 2013). Penggunaan dan permintaan terhadap tanaman obat tradisional saat ini semakin bertambah sehingga penelitian ke arah obat-obatan tradisional juga semakin meningkat. Perkembangan ini didukung oleh kecenderungan manusia melakukan pengobatan secara alam atau kembali ke alam (*back to nature*), selain itu disebabkan oleh efek samping dari obat tradisional yang sangat kecil dan harga yang lebih terjangkau dibanding obat sintetik dan juga pengobatan secara tradisional dianggap lebih efisien karena sudah berlangsung turun temurun (Tjahjohutomo. R, 2010).

Salah satu jenis tanaman obat yang potensial adalah salam yang kerap hadir di dapur sebagai penambah aroma sedap pada masakan. Daun salam mengandung minyak atsiri, alkaloid, tannin, dan flavonoid. Ekstrak etanol dari daun tersebut berfungsi sebagai zat antijamur, antibakteri (Kurniawati, 2010).

Berbagai jenis bakteri hidup sebagai flora normal pada kulit manusia, sebagian besar adalah bakteri gram positif (*S. aureus*, *S. Epidermidis* dan *S. pyogenes*) serta sebagian lainnya merupakan gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi dan kelainan pada kulit seperti impetigo, ruam, infeksi kulit, serta infeksi pada folikel rambut sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* sendiri dapat menyebabkan infeksi oportunistik pada luka bakar, dermatitis, otitis

eksterna serta sering kali dihubungkan dengan penyakit yang ditularkan secara nosokomial pada manusia (Radji, 2011).

Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukan penelitian terhadap ekstrak daun salam dengan maksud untuk menentukan aktivitas antibakteri daun salam dengan parameter daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

**A. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol daun salam memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?
2. Bagaimana perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun salam terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?

**B. Tujuan Penelitian**

1. Menentukan zona hambat ekstrak etanol daun salam terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Mengetahui perbedaan aktivitas ekstrak etanol daun salam terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

**METODE PENELITIAN**

**1. Bahan**

Air suling, Kapas, Tissue, Na. CMC, Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) daun salam

(*Syzygium polyanthum* Wight) yang diambil dari Kelurahan Limbung, Kecamatan Bajeng, Kabupaten Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan, Nutrient Agar (NA), Bakteri *Staphylococcus aureus*, Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan Klindamisin 300 mg (Novell).

## 2. Sampel

Sampel yang diteliti yaitu kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* dan kultur Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam cawan petri.

## 3. Prosedur Kerja

### a. Penyiapan Bahan

#### 1) Pengambilan bahan uji

Bahan uji daun salam berasal dari daerah Kelurahan Limbung Kecamatan Bajeng Kabupaten Gowa Provinsi Sulawesi Selatan.

#### 2) Pengolahan bahan

Daun salam yang masih segar dipotong ukuran kecil kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

#### 3) Ekstraksi bahan secara maserasi

Daun salam yang telah kering kemudian ditimbang sebanyak 300 gram dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% selama 5 hari, kemudian diserkai dan disaring. Maserasi diulangi sebanyak dua kali (BPOM, 1986). Maserat yang diperoleh kemudian dirotavapor pada suhu 60°C hingga etanolnya menguap.

## 4. Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas distrerilkan di oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat plastik distrerilkan pada otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 2 atm. Jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung pada lampu spiritus selama 30 detik.

## 5. Uji daya hambat Ekstrak Etanol Daun Salam

### a. Penyiapan sampel Bakteri Uji

Diambil 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* lalu digores pada media Nutrien Agar (NA) miring. Diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Hasil biakan bakteri diambil 1 ose, lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologis, dikocok

sampai homogen kemudian dibuat pengenceran sesuai Mc Farland 0,5. Hal yang sama dilakukan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

### b. Penyiapan Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol positif menggunakan Kloramfenikol 300 mg kapsul dengan konsentrasi 30 ppm. Ditimbang kloramfenikol setara 300 mg ditambahkan aqua steril hingga 100 ml (labu 1). dibuat pengenceran bertingkat. Diambil 10 ml diencerkan hingga 100 ml (labu 2). Dari labu kedua diambil 10 ml kemudian diencerkan hingga 100 ml (labu 3 yang menjadi bahan uji).

Kontrol negatif menggunakan Na. CMC 1%. Ditimbang 1 g Na CMC ditambahkan air panas 30 ml diaduk hingga terbentuk koloidal kemudian dicukupkan hingga volume 100 ml.

### c. Pembuatan Ekstrak Konsentrasi 5%, 10% dan 15%

Ditimbang 0,5 gram ekstrak, disuspensikan dengan Na CMC 1% hingga 10 ml (untuk konsentrasi 5%). Selanjutnya dengan cara yang sama dibuat konsentrasi 10% (ditimbang 1 g) dan 15% (ditimbang 1,5g).

### d. Uji daya hambat ekstrak etanol daun salam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Dituang secara aseptis media Nutrient Agar (NA) ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml dan dibiarkan hingga memadat. Kemudian bakteri uji yang telah disiapkan disebar merata menggunakan cotton swab pada media NA yang telah memadat.

*Blank disk sterille* direndam dalam ekstrak etanol daun salam yang telah dibagi dalam beberapa konsentrasi, kontrol positif serta kontrol negatif kemudian diletakkan ke dalam cawan petri yang berisi medium nutrient agar (NA) tadi searah jarum jam secara berurutan mulai dari konsentrasi 5%, 15%, 10%, kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan di tengah-tengah cawan. Cawan petri tersebut ditutup kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambatan menggunakan mistar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

Hasil Penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh diameter zona hambatan untuk bakteri pada tabel 1 di bawah ini :

**Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambatan (mm) ekstrak etanol daun salam dengan berbagai konsentrasi**

Bakteri uji	Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)
-------------	-----------	---------------------------

		5% b/v	10% b/v	15% b/v	Kontrol (+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I	12	14	15	12
	II	14	15	17	15
	III	12	14	20	11
Rata-rata		12,67	14,33	17,33	12,67
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	27	31	36	34
	II	21	26	34	34
	III	21	21	34	28
Rata-rata		23	26	34,67	32

Tabel 2 hasil analisis kruskal wallis test

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	zonahambat
Chi-Square	21.335
df	7
Asymp. Sig.	.003

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

Tabel 3 hasil analisis perbedaan antar perlakuan dengan statistik metode mann whitney

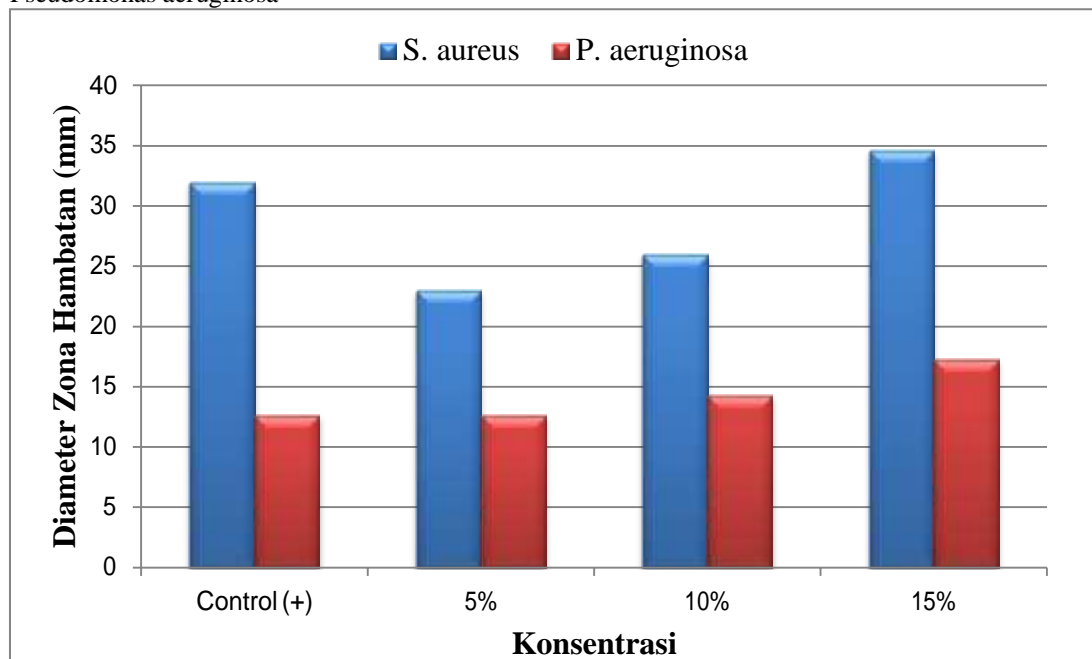
No	perlakuan	Sig.	keterangan
1	1-2	0.099	Tidak Berbeda
2	1-3	0.046	Berbeda
3	1-4	0.817	Tidak Berbeda
4	1-5	0,043	Berbeda
5	1-6	0.046	Berbeda
6	1-7	0,043	Berbeda
7	1-8	0,043	Berbeda
8	2-3	0.072	Tidak Berbeda
9	2-4	0.369	Tidak Berbeda
10	2-5	0,043	Berbeda
11	2-6	0.046	Berbeda
12	2-7	0,043	Berbeda
13	2-8	0,043	Berbeda
14	3-4	0.077	Tidak Berbeda
15	3-5	0.046	Berbeda
16	3-6	0.05	Berbeda
17	3-7	0.046	Berbeda
18	3-8	0.046	Berbeda
19	4-5	0.046	Berbeda
20	4-6	0.05	Berbeda
21	4-7	0.046	Berbeda
22	4-8	0.046	Berbeda
23	6=7	0.487	Tidak Berbeda
24	6-8	0,043	Berbeda
25	7-8	0,043	Berbeda



keterangan;

1. Perlakuan konsentrasi 5% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Perlakuan konsentrasi 10% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
3. Perlakuan konsentrasi 15% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
4. Perlakuan control positif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

5. Perlakuan konsentrasi 5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*
6. Perlakuan konsentrasi 10% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*
7. Perlakuan konsentrasi 15% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*
8. Perlakuan control positif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



**Gambar 1. Histogram Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) Dengan Diameter Zona Hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa***

## B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antibakteri dari ekstrak etanol daun salam dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan metode difusi agar. *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dipilih sebagai bakteri uji karena kedua bakteri tersebut mewakili jenis bakteri gram positif dan negatif.

Penyarian zat aktif daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dilakukan secara maserasi karena tekstur sampel yang lunak. Penyarian menggunakan pelarut etanol karena etanol dapat menarik senyawa atau komponen kimia yang bersifat polar, selain itu etanol juga lebih selektif dan tidak beracun.

Dari hasil penelitian ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya

daerah hambatan disekitar *blank disc* pada masa inkubasi 1 x 24 jam dengan diameter hambatan rata-rata 23 mm, 26 mm, dan 34,67 mm sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan diameter zona hambat rata-rata 12,67 mm, 14,33 mm dan 17,33 mm. Dari hasil yang diperoleh, zona hambatan terbesar dimiliki oleh bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan komponen dinding sel antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Komponen dinding sel bakteri gram positif tersusun atas satu lapisan peptidoglikan sedangkan dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks karena terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan luar yang meliputi peptidoglikan dan lipopolisakarida sedangkan lapisan dalam bersifat impermiabel terhadap molekul besar sehingga zat aktif tidak dapat masuk ke dalam sel bakteri, akibatnya dinding sel tidak dapat dirusak atau dihambat pertumbuhannya.

Hasil pengukuran diameter zona hambatan memperlihatkan terjadinya peningkatan diameter zona hambatan seiring dengan kenaikan

konsentrasi dimana semakin tinggi konsentrasi sampel uji maka semakin besar pula daya hambatannya terhadap pertumbuhan bakteri uji yang disebabkan karena zat aktif yang berfungsi sebagai antimikroba semakin meningkat pada ekstrak etanol daun salam. Menurut Retno (1992) dalam Khairun, dkk (2012) uji mikrobiologi dengan metode cakram menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*, *Vibrio cholera* dan *Salmonella sp.* Salah satu senyawa yang berperan sebagai antibakteri dalam daun salam adalah flavonoid. Menurut Gisvold (1982) dalam Khairun, dkk (2012) disebutkan bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Adapun menurut Naim (2004) dalam Khairun, dkk (2012) flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri. Kemudian senyawa tannin diduga berhubungan dengan kemampuannya dalam menginaktivasi adhesi mikroba, enzim dan protein transport pada membran sel. Selain itu senyawa terpen atau terpenoid diketahui dapat bersifat aktif terhadap bakteri, fungi, virus dan protozoa.

Berhubung data yang diperoleh tidak homogen dan tidak normal maka dilakukan uji beda dengan metode kruskal wallis dan dilanjutkan dengan uji beda antar perlakuan mann whitney. Berdasarkan hasil analisis statistik dengan metode Kruskal Wallis diperoleh hasil dengan nilai signifikan = 0.003 atau  $p < 0.05$  sehingga dinyatakan bahwa ada perbedaan zona hambat. Selanjutnya hasil uji beda mann whitney diperoleh data bahwa terdapat 6 pasangan perlakuan yang tidak berbeda nyata. Pada umumnya terjadi perbedaan antar perlakuan kecuali perlakuan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu konsentrasi 5% dengan 10%; 5% dengan control positif; 10% dengan 15% dan control positif; 15% dengan control positif; terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ternyata perlakuan konsentrasi 10% dengan 15% tidak berbeda nyata.

Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam memberikan aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap *Staphylococcus aureus* dibanding *Pseudomonas aeruginosa*, karena memberikan daya hambat yang lebih besar dan berbeda dengan perlakuan lainnya. Aktivitas antibakteri dari ekstrak daun salam lebih efektif dibandingkan dengan control positif yang digunakan dalam penelitian ini.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona hambatan sebesar 23 mm, 26 mm dan 34,67 mm untuk *Staphylococcus aureus* dan 12,67 mm, 14,33 mm dan 17,33 mm untuk *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Ekstrak daun salam memberikan aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap *Staphylococcus aerius* dibanding *Pseudomonas aeruginosa*.

### B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri penyebab penyakit kulit lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Pratiwi, dkk. 2013. *Uji Aktivitas Antifungi rimpang kunyit*. Traditional Medicine Journal, Vol 18(1)
- Tjahjohutomo, R. 2010. *Tanaman Obat*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Vol 5 : 33-48.
- Kurniawati, N. 2010. *Sehat Dan Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur*. Bandung : Penerbit Qanita. pp. 89-91.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: ECG
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal 3-26
- Khairun, dkk. 2012. *Uji Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Salam (Syzygium polyanthum) Terhadap Bakteri Escherichia Coli dan Salmonella sp.* Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara

**PERBEDAAN ZONA HAMBAT PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* PADA BERBAGAI KONSENTRASI REBUSAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) SECARA *IN VITRO***

*Luh Kadek Suciari*<sup>1</sup>, *Nyoman Mastra*<sup>2</sup>, *Cok. Dewi Widhya HS*<sup>3</sup>

**Abstract**

**Background** *Staphylococcus aureus* is one of the causes of infection and this bacteria has been resistant to many antibiotics. Bay leaf has antibacterial substances, which stewed leaves can be used to treat infections caused by *Staphylococcus aureus*. The purpose of this study was to determine differences in the growth inhibition zone of *Staphylococcus aureus* at various concentrations of water stewed bay leaf.

**Method** The method of this study is a true experiment with a posttest only control design, and used the Kirby-Bauer disk diffusion method with various concentrations of water stewed bay leaf (20%, 40%, 60%, 80%, 100%), positive control (chloramphenicol 30 µg) and negative control (sterile distilled water).

**Result** The result showed that the average diameter of the inhibition zone in concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% is 7 mm, 8.4 mm, 9.6 mm, 10.5 mm, and 11.5 mm. Based on statistical analysis using one-way ANOVA, the value of  $p (0,000) < \alpha (0,05)$ , so there is a significant difference in the growth inhibition zone of *Staphylococcus aureus* at various concentrations of stewed water bay leaf.

**Conclusion** Water stewed bay leaf can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*, and there are differences in the growth inhibition zone of *Staphylococcus aureus* at various concentrations of water stewed bay leaf.

**Keywords:** stew of bay leaf; *Staphylococcus aureus*; inhibition zone

**PENDAHULUAN**

Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) merupakan infeksi akut yang menyerang salah satu atau lebih dari saluran napas mulai dari hidung sampai alveoli termasuk adneksanya (sinus, rongga telinga tengah dan pleura)<sup>1</sup>. Infeksi yang sering diakibatkan oleh masuknya kuman atau bakteri ke dalam tubuh manusia merupakan penyakit yang sering diderita di Negara berkembang seperti

Indonesia. Prevalensi ISPA di Indonesia mencapai 4,5%, khususnya di Provinsi Bali pada tahun 2009 jumlah ISPA mencapai 52.960 kasus, sedangkan di tahun 2010 kasus ini bahkan menyebabkan 1.967 pasien menjalani rawat inap di RSUD se-Bali akibat pneumonia. Peningkatan yang tinggi terjadi pula di tahun 2012, hingga mencapai 370.504 kasus<sup>2</sup>. Pada tahun 2014, ISPA (Pneumonia) berada pada

urutan kesembilan setelah penyakit Pulpa dan jaringan periapikal<sup>3</sup>. Pneumonia oleh bakteri dapat disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.<sup>4</sup>

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen utama untuk manusia. Selain menginfeksi saluran pernapasan, bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi antara lain infeksi pada kulit seperti bisul dan furunkulosis, hingga meningitis, infeksi pada saluran urin, dan juga endokarditis<sup>5</sup>. *Staphylococcus* merupakan anggota flora normal kulit, saluran napas serta saluran cerna manusia, mukosa mulut dan faring, saluran cerna hingga rektum. Flora normal atau mikrobiota normal yang terdapat pada tubuh berperan sebagai lini pertahanan pertama menghadapi patogen mikroba, membantu pencernaan, berperan dalam degradasi toksin, dan berkontribusi dalam pematangan sistem imun<sup>6</sup>.

Pengobatan utama dalam penatalaksanaan penyakit infeksi dilakukan dengan pemberian antibiotika. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan dampak negatif, seperti terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik. *Staphylococcus aureus* telah mengalami resistensi terhadap antibiotik oksasilin 40%,

vankomisin 40%, klindamisin 50% dan levofloksasin 50%<sup>7</sup>.

Dalam upaya mengurangi konsumsi antibiotik pada penanganan penyakit dan menghindari terjadinya resistensi obat, maka penulis tertarik menggunakan bahan alam berupa daun salam sebagai antibiotik alami. Hasil penelitian mengenai uji sensitivitas ekstrak etanol daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dengan variasi konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%, diperoleh hasil bahwa semua konsentrasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*<sup>8</sup>.

Berdasarkan uji pendahuluan yang penulis lakukan, terbentuknya zona hambat pada rebusan daun salam dapat memberikan pengaruh pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Daun salam mengandung minyak atsiri, sitral, eugenol, tanin, dan flavonoida<sup>9</sup>. Sehingga berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik meneliti perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi rebusan daun salam (*Syzygium polyanthum*) secara *in vitro*. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian lainnya yaitu pada penelitian ini digunakan rebusan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang tidak mengalami penambahan pelarut

kimia lainnya seperti etanol ataupun metanol untuk mendapatkan senyawa aktif dari daun salam. Alasan penulis memilih rebusan daun salam, selain tidak adanya proses penambahan pelarut lain seperti etanol dan metanol, diharapkan juga pada aplikasinya sebagai antibiotik alami masyarakat dapat lebih mudah membuatnya. Penggunaan *aquadest* dalam pembuatan rebusan juga didasari karena tergolong pelarut yang mudah didapat, tidak berbahaya serta bersifat netral dan dapat melarutkan beberapa senyawa aktif yang terdapat pada daun salam.

## METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah *True-experimental* dengan desain *Posttest only-control design*<sup>10</sup>. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* yang dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analisis Kesehatan Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar. Sampel dalam penelitian ini yaitu lima perlakuan konsentrasi rebusan daun salam yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dengan lima kali pengulangan dan dua kali replikasi.

Tahap penelitian dilakukan dengan pembuatan rebusan daun salam, penanaman bakteri *Staphylococcus aureus* pada media *Mueller Hinton Agar*. Kemudian dilanjutkan dengan penanaman masing-masing cakram yang mengandung

berbagai konsentrasi rebusan daun salam dan kontrol positif (kloramfenikol 30 $\mu$ g) serta control negatif (*aquadest* steril). Zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi rebusan dapat diamati setelah proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona hambat diukur menggunakan mistar dalam satuan millimeter (mm).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Hasil

Hasil diameter zona hambat pada dua kali replikasi dan lima kali pengulangan dapat dilihat pada Tabel 1. Data yang diperoleh kemudian dilakukan analisis menggunakan uji statistik *Kolmogorov Smirnov* (KS). Berdasarkan hasil pengujian diperoleh nilai  $p = 0,264$ . Apabila nilai ini dibandingkan dengan nilai  $\alpha$  (0,05) yang digunakan, maka nilai  $p > \alpha$  ( $0,264 > 0,05$ ), sehingga data tersebut berdistribusi normal.

Setelah data dinyatakan berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan pengujian menggunakan uji *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95%, diperoleh hasil nilai probabilitas  $p$  ( $0,000 < \alpha$  (0,05) yang menandakan adanya perbedaan zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi rebusan daun salam.

Data kemudian diolah dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing konsentrasi rebusan daun salam dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil uji LSD pada semua konsentrasi diperoleh

nilai  $p$  (0,000) <  $\alpha$  (0,05) yang menunjukkan ada perbedaan yang *significant* antara masing-masing konsentrasi tersebut.

Tabel 1. Data Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada Berbagai Konsentrasi Rebusan Daun Salam secara *In Vitro*

Perlakuan Konsentrasi	Rerata Diameter Zona Hambat Per Replikasi (mm)		Rerata Seluruh Replikasi (mm) $\pm$ SD
	I	II	
20 %	7	7	7 $\pm$ 0
40 %	7,8	9	8,4 $\pm$ 0,2
60 %	9	10,2	9,6 $\pm$ 0,2
80 %	10	11	10,5 $\pm$ 0,3
100 %	11,2	11,8	11,5 $\pm$ 0,3
Kontrol (+)	27,4	27,2	27,3 $\pm$ 0,3
Kontrol (-)	0	0	0 $\pm$ 0

## 2. Pembahasan

### a. Kontrol

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol 30  $\mu$ g. Pemilihan kloramfenikol sebagai kontrol positif didasari karena bakteri *Staphylococcus aureus* telah banyak mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik selain itu antibiotik ini bersifat bakteristatik dengan spektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, mampu menghambat perlekatan asam amino dari bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan diameter rerata yang diperoleh dari kontrol positif, bila dibandingkan dengan tabel NCCLS, maka zona hambat yang terbentuk pada kloramfenikol berkategori sensitif yang berarti efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* karena diameter yang terbentuk melebihi 18 mm. Hasil pemeriksaan pada kontrol negatif (*aquadest* steril) tidak menimbulkan adanya diameter zona hambat karena kandungan *aquadest* steril tidak memiliki senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Tujuan pembuatan kontrol pada penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya faktor-faktor yang berpengaruh terhadap diameter zona hambat seperti kualitas media yang digunakan dan terjadinya kontaminasi. Kloramfenikol sebagai kontrol positif digunakan sebagai pembanding untuk melihat zat uji yang diteliti sebaik zat kontrol yang digunakan atau tidak. Sedangkan *aquadest* steril sebagai kontrol negatif digunakan untuk mengetahui pengaruh *aquadest* yang digunakan dalam pembuatan rebusan daun salam terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

b. Konsentrasi 20%

Berdasarkan kategori, diameter rebusan daun salam pada konsentrasi 20% ini memiliki kategori sedang sebagai antibakteri. Jika dibandingkan dengan kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif maka diameter pada konsentrasi 20% ini tidak sebaik kontrol positif. Sedangkan bila hasil penelitian ini dibandingkan dengan hasil uji aktivitas antimikroba infusum daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 20% maka diketahui bahwa rebusan daun salam lebih baik daripada infusum, karena infusum tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri<sup>9</sup>. Hal ini dapat terjadi karena dalam proses pembuatan infusum, baik kualitas daun

maupun proses pengeringan dapat menjadi faktor penentu terekstraksinya senyawa antibakteri yang terdapat dalam daun<sup>11</sup>.

c. Konsentrasi 40%

Menurut<sup>11</sup>, diameter rebusan daun salam pada penelitian ini memiliki kategori sedang sebagai antibakteri. Namun jika diameter rerata zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 40% dibandingkan dengan diameter kontrol positif (kloramfenikol 30 µg) maka diameter pada konsentrasi ini tidak sebaik kontrol positif.

Berdasarkan hasil penelitian uji daya antibakteri ekstrak etanol daun salam dalam pasta gigi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 40% diperoleh zona hambat sebesar 7,73 mm<sup>12</sup>. Rebusan konsentrasi 40% pada penelitian ini memiliki diameter yang lebih besar (8,4 mm >7,73 mm) untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat terjadi karena walaupun kedua jenis bakteri yang digunakan merupakan gram positif namun terdapat perbedaan sifat dan sel penyusun bakteri. Sehingga hal ini dapat mempengaruhi penghambatan pertumbuhan dari kedua bakteri tersebut.

d. Konsentrasi 60%

Konsentrasi rebusan daun salam 60% menunjukkan adanya peningkatan diameter dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi

20% dan 40%. Rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 60% adalah 9,6 mm. Berdasarkan kategori, diameter yang terbentuk pada konsentrasi 60% ini dikategorikan sedang sebagai antibakteri dan bila dibandingkan dengan kloramfenikol maka dinyatakan belum sebaik kloramfenikol sebagai kontrol positif.<sup>11</sup>

Diameter zona hambat konsentrasi 60% pada penelitian ini lebih besar bila dibandingkan dengan diameter yang terbentuk pada penghambatan pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* ekstrak salam, rerata zona hambat pertumbuhan pada konsentrasi 70% diperoleh sebesar 8,06 mm<sup>11</sup>. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan dinding sel penyusun antara jamur *Aspergillus flavus* dengan *Staphylococcus aureus*.

e. Konsentrasi 80%

Rerata diameter zona hambat rebusan daun salam konsentrasi 80% adalah 10,5 mm, diameter ini menunjukkan adanya peningkatan bila dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20%, 40% dan 60%. Jika rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 80% dibandingkan dengan diameter kontrol positif (kloramfenikol 30 µg) maka diameter pada konsentrasi ini tidak sebaik kontrol positif, namun menurut Davis dan

Stout, diameter rebusan daun salam pada konsentrasi 80% ini memiliki kategori kuat sebagai antibakteri. Pada penelitian ekstrak etanol daun salam terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100% diperoleh rerata zona hambat pertumbuhan bakteri sebesar 9,78 mm<sup>13</sup>. Jika hasil tersebut dibandingkan dengan diameter zona hambat konsentrasi 80% pada penelitian ini maka rebusan konsentrasi 80% memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan daerah tumbuh tanaman salam, sehingga menyebabkan perbedaan kadar senyawa antibakteri yang terkandung.

f. Konsentrasi 100%

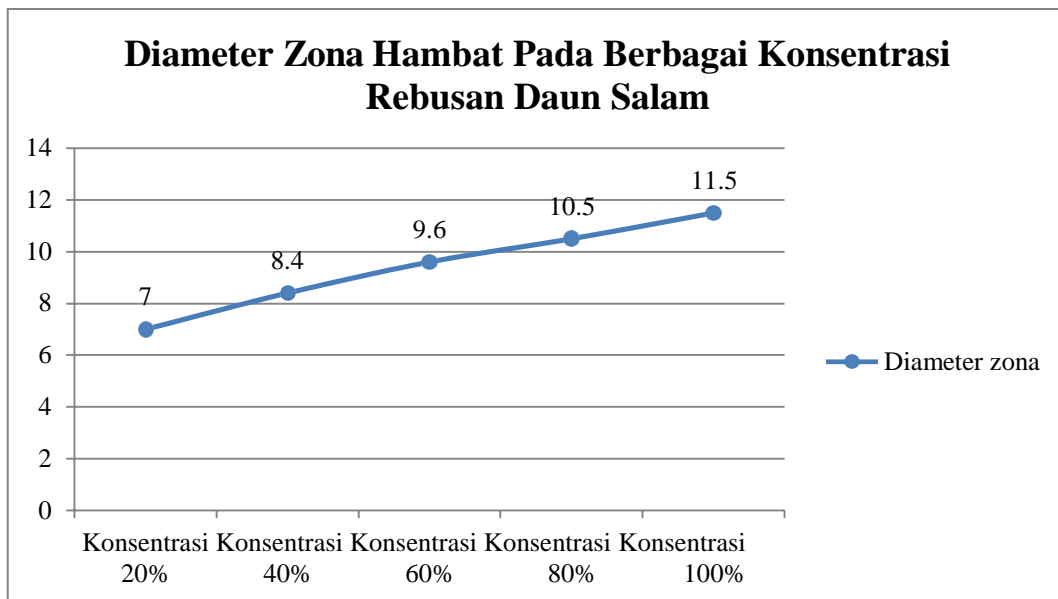
Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang terbentuk pada media MHA dengan rebusan daun salam konsentrasi 100% menunjukkan diameter terpanjang bila dibandingkan dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%. Data Tabel 1 menunjukkan rerata diameter sebesar 11,5 mm. Jika diameter rerata zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 100% dibandingkan dengan diameter kontrol positif (kloramfenikol 30 µg) maka diameter pada konsentrasi ini tidak sebaik kontrol positif, namun menurut Davis dan Stout, rerata diameter



sebesar 11,5 mm yang terbentuk pada konsentrasi 100% ini memiliki kategori kuat sebagai antibakteri.

Pada penelitian ekstrak etanol daun salam terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* pada konsentrasi 100% diperoleh rerata zona hambat pertumbuhan sebesar 11 mm<sup>14</sup>. Jika hasil penelitian yang dilakukan tersebut dibandingkan dengan diameter zona hambat konsentrasi 100% pada penelitian ini maka diketahui bahwa pada konsentrasi yang sama diameter yang terbentuk pada rebusan daun salam memiliki zona hambat yang lebih besar.

Terbentuknya zona hambat ini terjadi karena adanya kandungan antibakteri yang terdapat pada rebusan daun salam. Berdasarkan Gambar 1, dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan semakin besar diameter zona yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 1. Perbandingan Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Berbagai Konsentrasi Rebusan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Perbedaan zona terjadi karena adanya kadar zat aktif yang berbeda-beda dari setiap konsentrasi yang dipengaruhi oleh seri pengenceran. Semakin banyak zat aktif yang dilarutkan maka semakin besar

diameter zona hambat yang terbentuk, hal ini juga disebabkan oleh adanya kandungan zat aktif seperti minyak atsiri, sitral, eugenol, tanin, dan flavonoid<sup>9</sup>. Berdasarkan fungsi dari kandungan zat

aktif daun salam, sitral mampu menurunkan pH sitoplasma yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri<sup>15</sup>. Eugenol memiliki kemampuan yang dapat mengurangi produksi toksin dari bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga menghambat pertumbuhan<sup>16</sup>. Menurut Pelczar dan Chan flavonoid mampu mendenaturasikan protein sel<sup>17</sup>. Disamping itu adanya kandungan tanin memiliki mekanisme menghambat pertumbuhan bakteri dengan memunculkan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat serta menghambat produksi enzim, dan mengganggu proses reaksi enzimatik pada bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga menghambat terjadinya koagulasi plasma yang diperlukan oleh *Staphylococcus aureus*<sup>14</sup>. Selain sitral, eugenol, flavonoid, dan tanin, juga terdapat kandungan minyak atsiri, namun kandungan minyak atsiri ini tidak larut dalam air sebagai pelarut yang digunakan. Konsentrasi 100% dalam penelitian ini merupakan konsentrasi tertinggi dari kelima konsentrasi lainnya yang menghasilkan diameter zona hambat terpanjang dan memiliki kemampuan terbesar untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

## SIMPULAN DAN SARAN

### 1. Simpulan

Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada masing-masing rebusan daun salam (*Syzygium polyanthum*) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% berturut-turut sebesar 7 mm, 8,4 mm, 9,6 mm, 10,5 mm, dan 11,5 mm. Diameter zona hambat yang terbentuk memiliki perbedaan yang *significant* antara diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% (nilai  $p < 0,05$ ), dan konsentrasi 100% pada penelitian ini menunjukkan diameter zona hambat terpanjang dan merupakan konsentrasi yang paling efektif dari kelima konsentrasi yang diuji dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

### 2. Saran

Bagi masyarakat disarankan untuk memanfaatkan rebusan daun salam (*Syzygium polyanthum*) dalam menangani infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* seperti gatal dan bisul pada kulit dengan mengompres permukaan kulit yang mengalami infeksi. Serta bagi peneliti berikutnya perludilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh zat aktif yang paling dominan dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Selain itu penelitian mengenai

pemanfaatan rebusan daun salam lebih dikembangkan dengan melakukan pengujian pada bakteri jenis lain sehingga dapat diketahui manfaat untuk menghambat infeksi bakteri jenis lainnya.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. 2011. *Pedoman Pengendalian Infeksi Saluran Pernapasan Akut - 616.24 ind pKesehatan RI. 2011*
2. Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. <http://www.depkes.go.id/resources/download/general/Hasil%20Rikesdas%202013.pdf>. diakses 20 Januari 2017
3. Dinas Kesehatan Provinsi Bali. 2015. *Profil Kesehatan Provinsi Bali Tahun 2014*. [http://www.depkes.go.id/resources/download/profil/PROFIL\\_KES\\_PROVINSI\\_2014/17\\_Bali\\_2014.pdf](http://www.depkes.go.id/resources/download/profil/PROFIL_KES_PROVINSI_2014/17_Bali_2014.pdf). diakses tanggal 25 November 2016
4. Misnadiarly. 2008. *Penyakit Infeksi Saluran Napas Pneumonia pada Amak, Orang Dewasa, Usia Lanjut, Pneumonia Atipik & Pneumonia Atypik Mycobacterium*. Jakarta: Pustaka Obor Populer
5. Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
6. Jawetz, Melnick, Adelberg. 2014. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology Edisi 25)* (diterjemahkan oleh Aryanditho, dkk). Jakarta: Buku Kedokteran EGC
7. Negara, K. S. 2014. Analisis Implementasi Kebijakan Penggunaan Antibiotika Rasional Untuk Mencegah Resistensi Antibiotika di RSUP Sanglah Denpasar: Studi Kasus Infeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *Jurnal ASRI*.1(1): 42-50.
8. Wiliarni, W. 2016. *Uji Resistensi Staphylococcus aureus Dari Pasien Infeksi Kulit di Rumah Sakit Siloam Karawaci Tangerang Banten Terhadap Oksasilin, Vankomisin, Klindamisin, dan Levofloksasin*. [http://ejournal.uhamka.ac.id/files/disk1/4/universitas%20muhammadiah%20prof.dr.hamka--wellywilia-197-1-jurnalw-\).pdf](http://ejournal.uhamka.ac.id/files/disk1/4/universitas%20muhammadiah%20prof.dr.hamka--wellywilia-197-1-jurnalw-).pdf). diakses tanggal 27 Desember 2016
9. Tammi, A. 2016. *Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Salam (Syzygium polyanthum [Wight.] Walp.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli Secara In Vitro*. Skripsi. Universitas Lampung
10. Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Edisi Rivisi, Cetakan Kedua. Jakarta: Rineka Cipta
11. Herbie, T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Obat untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: Octopus
12. Dewanti, S., Wahyudi, M. Teguh. 2011. Uji Aktivitas Antimikroba Infusum Daun Salam (Folia Syzygium Polyanthum Wight) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Secara In-Vitro. *Jurnal Medika*. Planta - Vol. 1 No. 4. Oktober 2011
13. Adrianto, A.W.D. 2012. *Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (Eugenia polyantha Wight) Dalam Pasta Gigi Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans*. Skripsi. Universitas Jember
14. Dani, I.W., Kiki N., Cut F.Z. t.t. Penghambatan Pertumbuhan *Aspergillus flavus* Dan *Fusarium moniliforme* Oleh Ekstrak Salam (*Eugenia polyantha*) Dan Kunyit (*Curcuma domestica*). <https://jurnal.usu.ac.id/index.php/sbiologi/article/view/608/410>. diakses 24 Juli 2017
15. Sudirman, T. A. 2014. *Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (Eugenia olyantha) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Skripsi. Universitas Hasanuddin
16. Bhaskara, G. Y. 2012. *Uji Daya Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polianthum [Wight] Walp.) Terhadap Candida albicans ATCC 10231 Secara In Vitro*. [http://eprints.ums.ac.id/22008/11/11.\\_naskah\\_publicasi.pdf](http://eprints.ums.ac.id/22008/11/11._naskah_publicasi.pdf). diakses tanggal 7 Pebruari 2017
17. Chao S. 2016. Antimicrobial Activity and Possible Mechanism of Action of Citral against *Cronobacter sakazakii*. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0159006>. diakses tanggal 7 Pebruari 2017

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam) DAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* Walp)

Maylasari Dewi Maharani<sup>1,\*</sup>, Sabaniah Indjar Gama<sup>2</sup>, Muhammad Amir Masruhim<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis”,  
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

<sup>2</sup>Kelompok Bidang Ilmu Farmasi Klinik dan Komunitas, Fakultas Farmasi,  
Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

<sup>3</sup>Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Program Studi Kimia, Universitas Mulawarman,  
Samarinda

\*Email: [mayla.farm@gmail.com](mailto:mayla.farm@gmail.com)

### ABSTRAK

*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan infeksi kulit. Terdapat beberapa tanaman yang berpotensi aktif sebagai antibakteri seperti tanaman kelor dan tanaman salam dengan kandungan kimia golongan flavonoid, alkaloid, dan fenol yang berperan dalam menghambat aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor dan daun salam terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Metode yang digunakan yaitu metode *disc diffusion*. Konsentrasi terbaik yang dihasilkan ekstrak daun kelor yaitu pada konsentrasi 4% dengan zona bening sebesar 7,209 mm untuk *E. coli* dan 7,718 mm untuk *S. aureus*, sedangkan pada daun salam pada konsentrasi 2% sebesar 7,278 mm untuk *E. coli* dan 7,773 mm untuk *S. aureus*. Pada penelitian ini dilakukan pengujian kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, dan 2:2 terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil penelitian menunjukkan, nilai KBM masing-masing perbandingan tersebut adalah 9,080 mm; 9,704 mm; 9,573 mm; 10,111 mm untuk bakteri *E. coli*, sedangkan bakteri *S. aureus* 7,805 mm; 9,092 mm; 9,077 mm; 9,780 mm. Kesimpulan dari pengujian ini bahwa kombinasi ekstrak memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

**Kata Kunci:** Antibakteri, *Moringa oleifera*, *Syzygium polyanthum*, *E. coli*, *S. aureus*.

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v6i1.256>

### PENDAHULUAN

Infeksi bakteri merupakan penyebab signifikan morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri komensal pada tubuh manusia. Tetapi bakteri tersebut seringkali menyebabkan penyakit yang banyak

tersebar dimasyarakat. Penyakit yang disebabkan *Escherichia coli* antara lain, diare, infeksi saluran kemih, infeksi saluran napas, sedangkan *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan selulitis, infeksi luka, abses, osteomyelitis, pneumonia. Permasalahan dalam penatalaksanaan infeksi bakteri adalah

pemberian antibiotik yang irasional karena dapat menimbulkan resistensi, sehingga dibutuhkan obat lain sebagai alternatif pengobatan infeksi bakteri<sup>[1]</sup>.

Daun kelor dan daun salam merupakan tanaman yang mudah didapatkan tersebar hampir diseluruh indonesia. Secara tradisional daun kelor dan daun salam memiliki banyak manfaat dalam pengobatan beberapa penyakit<sup>[2,3]</sup>. Kedua tanaman ini telah diteliti sebelumnya bahwa secara tunggal daun kelor dan daun salam memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. senyawa kimia yang terdapat pada tanaman daun kelor dan daun salam yang diduga berperan sebagai antibakteri adalah fenol, flavanoid, dan alkaloid<sup>[4,5]</sup>.

Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik memberikan peluang besar untuk mendapatkan senyawa antibakteri dengan memanfaatkan senyawa bioaktif yang berasal dari berbagai jenis tanaman, sehingga peneliti ingin memanfaatkan peluang tersebut dengan melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## METODE

### Bahan

Sampel yang digunakan diperoleh dari daerah lempake. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* Walp), Nutrient Agar (NA), biakan bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), akuades steril, alkohol, etanol 96%, spritus, dan *paper disc*..

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, *autoclave*, pinset, erlenmeyer 250 mL, ose

bulat, tabung reaksi, bunsen, cawan porselen, spatel, mikropipet, timbangan analitik dan batang pengaduk.

### Pembuatan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan daun salam (*Syzygium polyanthum* Walp)

Daun kelor dan daun salam diambil sebanyak 2 kg dicuci hingga bersih dan dikeringanginkan. Setelah kering daun salam dan daun kelor di perkecil ukurannya secara terpisah, kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 3×24 jam dalam suhu kamar. Setiap 1×24 jam simplisia yang telah dimaserasi dengan larutan etanol diaduk sesekali. Setelah 3×24 jam hasil maserasi disaring. Filtrat pelarut tersebut kemudian diupkan dengan menggunakan alat evaporator sehingga dihasilkan ekstrak kental daun kelor dan daun salam.

### Pembuatan Media

Media *nutrien agar* (NA) sebanyak 10,5 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer lalu dilarutkan dengan menambahkan 250 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* sambil dihomogenkan dengan menggunakan batang pengaduk. kemudian media tersebut disterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

### Pemurnian Bakteri

Biakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* masing-masing sebanyak satu ose diinokulasikan kedalam medium agar miring NA 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). Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam<sup>[6]</sup>. Setelah diinkubasi dilanjutkan pembuatan suspense bakteri.

### **Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Daun Salam**

Konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dan daun salam ditentukan berdasarkan uji pendahuluan yaitu 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% kemudian dibuat perbandingan konsentrasi berdasarkan hasil uji pendahuluan 1:1, 1:2, 2:1, dan 2:2. Larutan sampel dibuat dengan cara menimbang ekstrak 0,5 gram dan dilarutkan dalam 5 mL pelarut. kemudian tiap konsentrasi diencerkan dengan pelarut hingga volumenya 1ml.

### **Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktifitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar (kirby baurer), menggunakan *paper disc* berdiameter 6 mm. Suspensi yang telah disiapkan dimasukkan sebanyak 20 µL kedalam cawan petri, kemudian media NA yang telah dipanaskan dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 10 ml kemudian dihomogenkan lalu didiamkan hingga memadat. *Paper disc* berdiameter 6 mm ditetesi 20 µL larutan ekstrak daun kelor dan daun salam secara terpisah dibiarkan kurang lebih setengah jam, kemudian diletakkan pada permukaan media yang telah memadat. Media yang telah diisi sediaan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C, selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat atau bunuh yang terbentuk pada 24 jam berikutnya.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Kelor dan Daun Salam**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor dan daun salam terhadap bakteri *E. coli*

dan *S. aureus*. Bakteri *E.coli* merupakan bakteri gram negatif, sedangkan *S.aureus* merupakan bakteri gram positif. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tiga perlakuan yaitu uji pendahuluan terhadap daun kelor tunggal, daun salam tunggal dan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor dan daun salam.

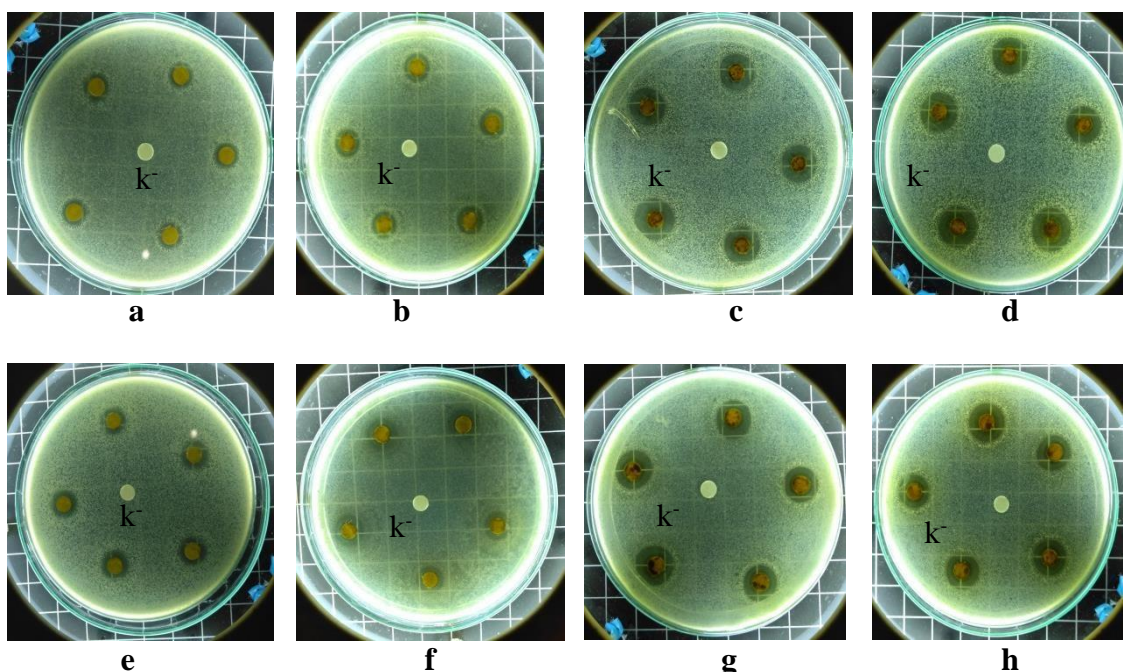
Konsentrasi yang digunakan dalam uji pendahuluan adalah 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona bunuh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan daun salam (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil yang diperoleh pada uji pendahuluan daun kelor pada konsentrasi 2% tidak terdapat zona bunuh sehingga untuk pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor yang digunakan yaitu konsentrasi 4% karena pada konsentrasi tersebut sudah dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan ekstrak daun salam yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak konsentrasi 2%.

Hasil uji pendahuluan yang telah diperoleh dilanjutkan pada pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor dan daun salam terhadap bakteri *E.coli* dan *S. Pada* pengujian kombinasi digunakan beberapa perbandingan yaitu 1:1, 1:2, 2:1, dan 2:2 dengan 5 replikasi. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona bunuh kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan daun salam (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona bunuh ekstrak daun kelor dan daun salam terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona bunuh bakteri ekstrak daun kelor (mm)		Rata-rata diameter zona bunuh bakteri ekstrak daun salam (mm)	
	<i>Eschericia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Eschericia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Kontrol -	-	-	-	-
2%	-	-	7,278	7,773
4%	7,208	7,838	8,414	8,512
6%	7,823	8,487	8,807	8,827
8%	8,688	9,401	9,172	9,133
10%	9,833	11,123	9,313	10,011



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor dan daun salam terhadap *Eschericia coli* (a) 1:1 (b) 1:2 (c) 2:1 (d) 2:2 dan *Staphylococcus aureus* (e) 1:1 (f) 1:2 (g) 2:1 (h) 2:2

Tabel 2. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona bunuh kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan daun salam (*Syzygium polyanthum* Walp.) terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona bunuh kombinasi ekstrak daun kelor dan daun salam (mm)	
	<i>Eschericia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Kontrol -	-	-
1:1	9,080	7,805
1:2	9,704	9,092
2:1	9,573	9,077
2:2	10,111	9,780

Berdasarkan data Tabel 2 menunjukkan semakin tinggi perbandingan konsentrasi bahan uji maka semakin besar zona bunuh baik untuk bakteri *E.coli* maupun *S.aureus*. Perbedaan zona bunuh yang dihasilkan antara bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* disebabkan karena diameter zona bunuh yang terbentuk sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain toksisitas bahan uji, kemampuan difusi bahan uji pada media, interaksi antar komponen medium, dan kondisi lingkungan mikro in vitro. Konsentrasi suatu bahan yang berfungsi sebagai antibakteri merupakan salah satu faktor penentu besar kecil kemampuannya dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroba yang diuji. Selain itu, ukuran zona bunuh dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu mikroorganisme uji (strain dan fisiologi uji bakteri), medium pertumbuhan, metode uji serta kecepatan difusi zat.<sup>[7,8]</sup>

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak daun kelor dan daun salam terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metabolit sekunder yang terkandung dalam daun kelor adalah flavonoid, alkaloid, fenol yang juga dapat menghambat aktivitas bakteri<sup>[4]</sup>. Sedangkan metabolit sekunder yang terkandung dalam daun salam yang berperan sebagai antibakteri adalah flavonoid, tannin, minyak atsiri, dan alkaloid<sup>[5,9]</sup>. Flavonoid adalah golongan terbesar dari senyawa fenol, mekanismenya yaitu dapat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri<sup>[10]</sup>. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan mekanisme mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara

utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut<sup>[11]</sup>, dan mekanisme tannin yaitu dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dan memiliki kemampuan mencegah koagulasi plasma pada *Staphylococcus aureus*<sup>[12]</sup>.

Hasil diameter zona bunuh kombinasi ekstrak daun kelor dan daun salam terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* diuji normalitasnya dengan uji kolmogorovsmirnov. Berdasarkan hasil uji kolmogorovsmirnov, data zona bunuh kombinasi ekstrak perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, dan 2:2 terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dapat dikatakan terdistribusi normal atau mewakili populasi. Selanjutnya dilakukan uji Anova pada Confidence Interval (CI) 95%, hasil anova yaitu terdapat perbedaan bermakna antar perbandingan.

## KESIMPULAN

1. Kombinasi ekstrak daun kelor dan daun salam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dan *S.aureus*
2. Diameter zona bunuh ekstrak kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, dan 2:2 terhadap *E.coli* berturut-turut sebesar 9,080 mm; 9,704 mm; 9,573 mm; 10,111 mm, sedangkan pada *S.aureus* sebesar 7,805 mm; 9,092 mm; 9,077 mm; 9,780 mm.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Oktalia. 2009. *Kapita Selekta Dispensing I*. UGM press : Yogyakarta.
- [2]. Putri, O.D. 2011. *Sejuta Khasiat Daun kelor*. Berlian Media: Yogyakarta.
- [3]. Sumono, A., SD, A.W., 2008. The use of bay leaf (*Eugenia polyantha* Wight) in dentistry. *Dental Journal*, 41(3).
- [4]. Pandey, A., R.D. Pandey., P. Tripathi., P.P. Gupta., J. Haider., S. Bhatt ., A.V Singh. 2012. *Moringa oleifera* Lam. (*Sahijan*) –



- A Plant with Plethora of Diverse Therapeutic Benefits: An Updated Resrospection.* Pandeyet al. Medical Aromatic Plants.
- [5]. Dalimartha, S. 2000. Atlas Tumbuhan Obat Indonseia Edisi 2. Trubus Agiwidya : Jakarta.
- [6] Afriani, R, 2011, *Aktivitas Antimikroba Madudari Lebah Apis dorsata dan Apis Mellifera Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*, skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak University Press, Surabaya.
- [7] Siswandono, B.S., 2000. *Kimia Medisinal 2*, Airlangga
- [8]. Jawetz E., Melnick GE., Adelberg CA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi I*. Jakarta.
- [9]. Kusuma, I.W., Kuspradini, H., Arung, E.T., Aryani, F., Min, Y.H., Kim, J.S., Kim, Y.U., 2011. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum* and *Zingiber purpurea*. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 4(1), 75- 79.
- [10]. 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.
- [11]. Kurniawan, B., Aryana, W.F., 2015. Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth. *Majority*, 4(4), 100-104.
- [12]. Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., Iwatsuki, K., 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(4), 487-491.

## Antibacterial and cytotoxic activities of the *Syzygium polyanthum* leaf extract from Malaysia

Muhammad Luqman Nordin<sup>1</sup>, Abdul Aziz Othman<sup>2</sup>, Arifah Abdul Kadir<sup>2</sup>, Rumaizi Shaari<sup>1</sup>, Abdinasir Yusuf Osman<sup>1</sup> and Maizan Mohamed<sup>3</sup>

1. Department of Clinical, Faculty of Veterinary Medicine, Universiti Malaysia Kelantan, Pengkalan Chepa, 16100 Kota Bharu, Kelantan, Malaysia; 2. Department of Veterinary Preclinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Universiti Putra Malaysia, 43400 Serdang, Selangor, Malaysia; 3. Department of Veterinary Paraclinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Universiti Malaysia Kelantan, Pengkalan Chepa, 16100 Kota Bharu, Kelantan, Malaysia.

**Corresponding author:** Muhammad Luqman Nordin, e-mail: [luqman.n@umk.edu.my](mailto:luqman.n@umk.edu.my)

**Co-authors:** AAO: [azizothman.mppupm1314@gmail.com](mailto:azizothman.mppupm1314@gmail.com), AAK: [arifah@upm.edu.my](mailto:arifah@upm.edu.my), RS: [rumaizi@umk.edu.my](mailto:rumaizi@umk.edu.my), AYO: [abdnasir@umk.edu.my](mailto:abdnasir@umk.edu.my), MM: [maizan.m@umk.edu.my](mailto:maizan.m@umk.edu.my)

**Received:** 19-09-2018, **Accepted:** 21-12-2018, **Published online:** 12-02-2019

**doi:** 10.14202/vetworld.2019.236-242 **How to cite this article:** Nordin ML, Othman AA, Kadir AA, Shaari R, Osman AY, Mohamed M (2019) Antibacterial and cytotoxic activities of the *Syzygium polyanthum* leaf extract from Malaysia, *Veterinary World*, 12(2):236-242.

### Abstract

**Background and Aim:** The increasing prevalence of drug resistance eventually leads scientist to discover new drugs that could solve the problem. Since ancient immemorial times, medicinal plants generally known as herbs were widely used in every culture throughout the world. In fact, currently up to 70,000 plant species have been screened for biological activities and about 70% ends up for commercialization. Therefore, this study was aimed to evaluate the potential cytotoxic and antibacterial effect of *Syzygium polyanthum* leaves which are local Malaysia plants, against 4T1 and MCF-7 mammary carcinoma cells, respectively, and also against bacteria causing mastitis in cows.

**Materials and Methods:** The cytotoxic effect of hydromethanolic extract of *S. polyanthum* against 4T1 and MCF-7 mammary carcinoma cells was evaluated using 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. The cells were treated with the concentration of extracts ranging from 15.63 µg/mL to 1000 µg/ml for 72 h, and the percentage of cell survivability was determined based on minimum concentration that was able to allow at least 50% growth of cancer cells (IC<sub>50</sub>) after 72 h. The antibacterial activity was tested against common bacteria causing mastitis in cow. The bacteria were isolated from milk samples. The antibacterial activity of the extract was determined by disk diffusion method and susceptibility test based on minimum inhibitory concentration (MIC).

**Results:** *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, and *Staphylococcus intermedius* were isolated from the milk samples that positive for mastitis. The MIC values range from 7.12 mm to 13.5 mm. The extract exhibits the widest zone of inhibition (13.5±0.20 mm) at 1000 mg/ml of concentrations. The extract relatively has low cytotoxicity effect against 4T1 and MCF-7 cells with IC<sub>50</sub> values ranging from 672.57±59.42 and 126.05±50.89 µg/ml, respectively.

**Conclusion:** *S. polyanthum* exerts weak antibacterial activity and cytotoxic effect to mammary carcinoma cells. The extract does not toxic to cells. However, further study is recommended, especially, this plant should be tested for *in vivo*.

**Keywords:** antibacterial, cytotoxic, mastitis, *Syzygium polyanthum*.

### Introduction

Mastitis is defined as an inflammation of parenchyma of the mammary glands characterized by physical, chemical, and bacteriological changes in milk and pathological changes in glandular tissues that deteriorate the quality and quantity of milk [1]. Mastitis constantly becomes a serious infectious problem in dairy goats worldwide. The annual economic consequences are approximately \$35 billion worldwide which include losses in milk production, sales, and also a high cost for treatments. *Staphylococcus* spp. has been identified to be the main causative agent that

contributes to goat's mastitis. Recently, the abundant uses of antibiotics without control resulting in antimicrobial resistance issue cause failure of mastitis treatment and increase in operation cost, especially, to the farmers due to the absence of effective antimicrobials medication.

Cancer is a non-infectious disease that is very complex and life-threatening to the well-being of the human population. Cancer that occurs in humans and other organisms arises from a single cell which has undergone genetic change due to interaction from external factors and genetic susceptibility of the host. The World Health Organization, 2016 (WHO, 2016), reported that septicemia due to bacterial infections and cancer diseases are the top three most common certified death among human population after cardiovascular disease.

Currently, many anticancer drugs develop drug resistance toward cancer [2,3]. Some of the cancers develop mutation and inherited genetic changes that

Copyright: Nordin, *et al.* Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

can modify the drug's target site. It is also happening to antibiotics. Some of the bacteria develop enzymes that are capable of digesting and destroying antibiotics molecule. Moreover, it is expected to face more resistant bacteria in the near future [4]. Antibacterial resistance is a serious clinical challenge worldwide [5]. Therefore, natural antibacterial products are critical to achieve more diverse antibacterial combinations [5]. Therefore, the emerging of drugs resistance issue has drawn the scientist to find a potential source of treatment to encounter those problems.

A medicinal plant is generally known as a herb. The idea of using herbs as medicines to treat various human ailments including to treat wound, bacterial infections, and cancer diseases is not a new approach. They have been used since ancient civilizations [6]. There are lists of more than 3000 plant species that have reportedly exhibited anticancer properties, and approximately 100 plants with bioactive compounds are on pre-clinical development trials [7,8]. The WHO estimated that 80% of the population, especially, from developing countries rely on traditional medicines mostly plant origin for their health care. Several reports indicating that snake venom contains enzymes and toxins with antimicrobial and anticancer properties and can help to prevent the growth of bacteria have been reported [9,10].

*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. var. *Polyanthum* (Figure-1) is wild evergreen shrub which belongs to the family of Myrtaceae. It is well distributed in Indonesia and also Malaysia. It is commonly known as "Daun Salam" or "Indonesian Bay Leaf." The leaves of "Daun Salam" are often used by Malays as a spice due to its flavor [11,12].

*S. polyanthum* is known traditionally to treat diarrhea, rheumatism, and diabetes [13,14]. The leaves are freshly consumed as "ulam" by traditional Malay people for the treatment of hypertension and general body health maintenance [15]. In Indonesia, local people often add leaves in culinary preparation because they believe that the plant is beneficial in the management of diabetes mellitus, gout, arthritis, and hypertension [16].



**Figure-1:** *Syzygium polyanthum* leaves.

This study was conducted with the intention to discover the true potential local herbs for mastitis in dairy cattle, which has antibacterial activity and, at the same time, does not toxic to cells. Perhaps, this study could be further evaluated by the other researchers to find the active compound from these plants. Furthermore, these herbs could be used synergistically with available commercial ones and subsequently improve the prognosis of the treatment and complementary methods such as using herbs or vitamins during treatment is not something new and in many things in help.

This study was performed to provide scientific validation regarding ethnopharmacological values that claim by the traditional practitioner. The findings pertaining to its cytotoxic and antibacterial properties of the *S. polyanthum* leaf extract could provide the true potential of the local herbs. It could be used as alternative medicine or perhaps synergistically used with available treatment to improve the prognosis of the disease.

## Materials and Methods

### Ethical approval

Not applicable in this study.

### Collection and identification

*S. polyanthum* Lam. fresh leaves were collected from Biodiversity Unit, Universiti Putra Malaysia (UPM). The leaves were certified with a deposited voucher specimen (SK 2835/15) from the Herbarium of Natural Products, IBS, UPM. The collected leaves were rinsed with distilled water, cleaned, and then dried in oven for 7 days.

### Extraction of plant leaves

The dried leaves of *S. polyanthum* were pulverized using a commercial blender. About 400 g of pulverized leaves were soaked in methanol:distilled water (80:20, v/v) in a conical flask for 72 h. The flask was continually shaking daily for 3 consecutive days. The solution was filtered using Whatman No. 42 filter paper to separate solvent-containing extract. The extract was evaporated using a vacuum rotary evaporator (Heidolph German) and controlled heating bath at 30°C. The extract yield was stored in the refrigerator until used for the analysis.

### Bacterial strains

The antibacterial potency of plant extract was evaluated using three bacterial strains causing mastitis in cow. The bacterial strains were isolated from milk samples from 10 dairy cows having mastitis. The mastitis cow was detected based on gross signs of udder infection during physical examination, appearance of abnormal milk production, and also California Mastitis Test (CMT). Milk samples were inoculated onto blood agar plates and MacConkey agar, respectively. Inoculated plates were then incubated aerobically at 37°C for 24-48 h. Secondary culture was performed to obtain a pure culture. The purified bacterial

strains were confirmed based on colony morphology, gram staining, and biochemical test.

#### Antibacterial activity of extracts

The antibacterial assay of hydromethanolic extract was performed according to the method described by Bauer *et al.* [17] with a slight modification. The Mueller-Hinton Agar media, along with the inoculum (106 CFU/ml), were poured into the Petri dishes. For the agar disk diffusion method, sterile filter paper disk was saturated with 125, 250, 500, and 1000 mg/ml of the extract, allowed to dry, and then placed on the upper layer of the seeded agar plate. The plates were incubated overnight at 37°C. Antibacterial activity was determined by measuring the diameter of the zone of inhibition (mm) surrounding bacterial growth strains. The bacterial strains were isolated from milk samples of mastitis dairy cattle.

#### Minimal inhibitory concentration (MIC)

*S. polyanthum* extract was tested for the MIC test using the broth dilution method according to Jorgensen and Turnidge [18]. A different concentration of the tested material was obtained by four rows in each containing 125, 250, 500, and 1000 mg/ml. Then, 0.5 ml of bacterial suspension was filled to each tube to achieve a final concentration of  $1-5 \times 10^5$  CFU/ml. Two sets of controls were set for each tube which contained (a) positive control consisting of broth and bacterial suspension and (b) negative control only consisting of broth. Afterward, the tubes were incubated for 24 h incubation at 37°C. The tubes were observed for visible bacterial growth as evidenced by turbidity. Color changes were observed, and the tubes with colorless appearance were taken as a positive. The lowest concentration of extracts which tubes with colorless indication was recorded as the MIC value. The average values were calculated for the MIC of the test material.

#### Minimum bactericidal concentration (MBC)

After identification of the MIC, inoculum from each tube was streaked into agar plate and incubated at 37°C for 24 h. The streaks from each tube that exhibits prevention of bacterial growth was recorded as MBC values. Streaks were taken from the two lowest concentrations of the plant extract plates exhibiting invisible growth. One streak from each tube that exhibits prevention of bacterial growth was recorded as MBC values.

#### Cytotoxicity activity

Cytotoxic activity of *S. polyanthum* extract was conducted according to the method described by Baharum *et al.* [19] and Nordin *et al.* [20]. Cytotoxicity

activity of *S. polyanthum* extract was prepared with concentrations ranging from 15.63 µg/mL to 1000 µg/mL. The seeding cell density was  $1 \times 10^5$  cells/mL of mouse mammary carcinoma cell line (4T1). The cells were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC, USA). The cancer cell was grown in RPMI 1640 medium supplemented with L-glutamine, 10% fetal bovine serum, and 1% antibiotic as a complete growth medium. The experiment was repeated thrice, and the percentage of cell survivability versus concentration was calculated according to the following equation [19]:

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{\text{Mean OD of treated cell} - \text{Mean OD of blank}}{\text{Mean OD of untreated cell} - \text{Mean OD of blank}} \times 100\%$$

The cytotoxic effect of *S. polyanthum* extract against 4T1 was recorded as IC<sub>50</sub> and compared with untreated cells according to the method described by Nordin *et al.* [20] and Ayob *et al.* [21].

#### Statistical analysis

All the percentages of the zone of inhibition values were expressed as mean (n=3) per plate ± standard deviation (SD) and were analyzed using one-way ANOVA. The test was considered statistically significant when  $p < 0.05$  while all the percentages of cell survivability were expressed as mean (n=3) per plate ± SD for triplicate and analyzed using one-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , and \*\*\* $p < 0.001$  denote significant difference as compared to untreated cell (0 µg/ml).

#### Results

##### Bacterial culture

Eighteen dairy cows with 68 milk samples were successfully examined, and had clinical mastitis. The diagnosis was further conducted using CMT to confirm the mastitis. The samples were scored as in Table-1. The prevalence of CMT positive was 42.64% and cultured on blood agar. Twenty of 29 samples cultured successfully grown.

##### Bacterial identification

On plate morphology, the results showed the presence of *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* was in size about 2 mm, having a circular shape with a flat surface and the color was whitish opaque gray with smooth edge and shiny appearance. *Staphylococcus hyicus* about having the same characteristic with

**Table-1:** Milk scores using CMT.

Number of animals	Number of milk samples	CMT scores				Positive samples (%)
		0	1	2	3	
18	68	16	23	22	7	42.64

CMT=California mastitis test

**Table-2:** Biochemical characteristic of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, and *Staphylococcus intermedius*.

Cat	Coa	BB	VP	Mal	Man	ADH	Bacteria identification
+						+	<i>Staphylococcus hyicus</i>
+	+	+	+	+	+		<i>Staphylococcus aureus</i>
+	+	+	+	+	+		<i>Staphylococcus intermedius</i> .

Cat=Catalase, Coa=Coagulase, BB=Blood broth, VP=Voges-Proskauer, Mal=maltose, Man=Mannitol, ADH=Arginine Dihydrolase

**Table-3:** Frequency of bacteria strains isolated from grown CMT-positive milk.

Isolates	Number of isolates (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 (42.8)
<i>Staphylococcus hyicus</i>	4 (28.6)
<i>Staphylococcus intermedius</i>	4 (28.6)
Total	14 (100)

*S. aureus* without giving any hemolysis character on blood agar.

On the other hand, *Staphylococcus intermedius* also seems to be opaque white, low convex and have smooth edges. The colony size is about 2-4 mm in diameter and sometimes bigger than *S. aureus*. This was followed by gram staining which yielded 15 Gram-positive cocci bacteria with catalase positive, 2 Gram-positive cocci with catalase negative, 1 Gram-negative bacteria with small rod, and 2 of them were Gram-positive filamentous bacteria with slow catalase-positive reaction. Various biochemical tests were used to identify the isolates. It started from gram-staining where if the results were positive, then catalase will proceed, and if it positive too, the result of the coagulase test will determine the biochemical test used. Table-2 shows the list of tests used for coagulase-positive bacterial strains.

From these various biochemical tests that have been used to identify the species isolates, it was found that the *S. aureus*, *S. hyicus*, and *S. intermedius* were identified as in Table-2. *S. aureus* was the most common bacteria isolated (6 of 14 isolates) followed by *S. hyicus* and *S. intermedius*, in which both of them were 4 isolates of 14 (Table-3).

#### Minimum inhibitory concentration (MIC)

Three most common bacteria isolates which were *S. aureus*, *S. hyicus* and *S. intermedius* were chosen to be tested with hydromethanolic extract of *S. polyanthum* (Table-3). Table-4 shows the mean diameter of the zone of inhibition produced by different concentrations of extract. The zone of inhibition was measured in millimeters (mm) (Figure-2).

The *S. polyanthum* extract shows the largest zone of inhibition at 1000 mg/ml concentration against *S. aureus* which was 13.5 mm in diameter. The sensitivity reduced as the concentration of plant extract decreased. The treatment effect was time-dependent manner. When compared to the positive control, *S. hyicus* was the most sensitive toward amoxicillin followed by *S. aureus* and *S. intermedius*. On the other hand, 3% DMSO which was used as negative control also failed to inhibit any bacteria.

**Figure-2:** Growth zone of inhibition of some of the bacteria (*Staphylococcus aureus*) caused by *Syzygium polyanthum* extract.

MIC was determined on 96 plates by quantitative evaluation. Table-5 shows that MIC for *S. polyanthum* extract was at a concentration of 125 mg/ml against all bacteria tested. In meanwhile, the MBC was similar which is at 125 mg/ml. The inhibitory concentration of *S. polyanthum* extract started at 125 mg/ml with the zone of inhibition of  $8.00 \pm 0.61$  mm for *S. aureus*,  $7.62 \pm 0.12$  mm for *S. hyicus*, and  $7.12 \pm 0.29$  mm for *S. intermedius*. The MBC of the plant extract was confirmed by the absence of bacterial growth of the isolated bacteria when streaked from inhibition zone corresponding to their lowest MIC values. The MBC of the *S. polyanthum* was also at 125 mg/ml suggested that the plant can be used to prevent and control mastitis in dairy cattle.

#### Effect of crude hydromethanolic extract of *S. polyanthum*

For the cytotoxic screening, *S. polyanthum* extract shows the cell survivability (%) of 4T1 and MCF-7 with a dose-dependent manner (1000-15.63  $\mu$ g/ml). Overall, the extract does not exhibit strong cytotoxic activities, showing that more than 50% cells were viable when treated with plant extracts at a concentration of 100  $\mu$ g/ml and above. The  $IC_{50}$  values for the extract against both cancer cells were more than 100  $\mu$ g/ml (Figures-3 and 4). Table-6 shows the  $IC_{50}$  values of *S. polyanthum* on 4T1 and MCF-7 mammary carcinoma cell lines. The inhibition of cell viability was more than 50% in 4T1 and MCF-7 after treatment with *S. polyanthum* extract at the concentration  $672.57 \pm 59.42$   $\mu$ g/mL and  $126.05 \pm 50.89$   $\mu$ g/mL, respectively.

**Table-4:** Mean diameter zone of inhibition produced by hydromethanolic extract of *Syzygium polyanthum* against respective bacteria.

Plant extract	Concentration		Zone of inhibition (mm)		
	%	mg/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Syzygium polyanthum</i>	100	1000	13.50±0.20 <sup>a</sup>	12.00±0.35 <sup>a</sup>	12.87±0.31 <sup>a</sup>
	50	500	11.62±0.23 <sup>ab</sup>	10.12±0.12 <sup>a</sup>	10.00±0.40 <sup>ab</sup>
	25	250	10.25±0.32 <sup>b</sup>	8.25±0.25 <sup>b</sup>	8.87±0.23 <sup>b</sup>
	12.5	125	8.00±0.61 <sup>c, d</sup>	7.62±0.12 <sup>b</sup>	7.12±0.29 <sup>b</sup>
Amoxicillin	100	10	21.81±0.35 <sup>a</sup>	33.87±0.39 <sup>b</sup>	18.43±0.31 <sup>c</sup>

Value represent mean±SEM (n=4). Means with different alphabets indicate significant differences among different concentrations

**Table-5:** MIC and MBC of plant extract against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, and *Staphylococcus intermedius*.

Plant extract	MIC (mg/ml) <i>Syzygium polyanthum</i>	MBC (mg/ml) <i>Syzygium polyanthum</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	125	125
<i>Staphylococcus hyicus</i>	125	125
<i>Staphylococcus intermedius</i>	125	125

MIC=Minimum inhibitory concentration, MBC=Minimum bactericidal concentration

**Table-6:** IC<sub>50</sub> values (µg/mL) of *Syzygium polyanthum* extract on 4T1 and MCF-7 mammary carcinoma cell lines.

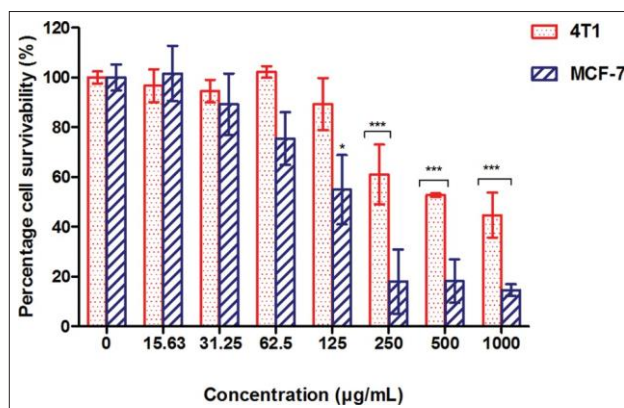
Cancer cell lines	IC <sub>50</sub> values of extracts/drug (µg/mL)
	Hydromethanolic extract of <i>Syzygium polyanthum</i>
4T1	672.57±59.42
MCF-7	126.05±50.89

All values are expressed as mean (n=3)±SD of triplicate experiments

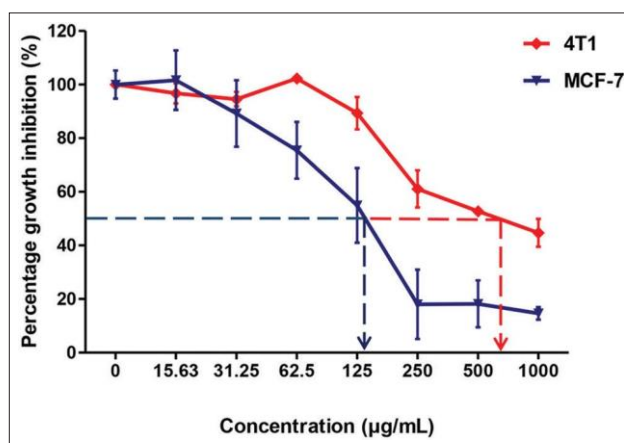
**Discussion**

Results obtained in the present study revealed that the hydromethanolic extract of *S. polyanthum* exhibits antibacterial activity against *S. aureus*, *S. hyicus*, and *S. intermedius* (Table-2). The plant extract was tested at a concentration of 125-1000 mg/ml to evaluate the inhibitory effects against bovine mastitis isolated pathogens. In this study, the MIC of *S. polyanthum* against mastitis bacteria in bovine was 125 mg/ml. The antibacterial activity is considered weak (zone of inhibition between <8 mm) against *S. aureus*. This is in agreement with study by Mehta *et al.* [22] on *Nelumbo nucifera* flowers in which zone of inhibition between 10 and 16 mm is considered moderately potent. Another study conducted from *Adina cordifolia*, *Asparagus racemosus*, *Aegle marmelos*, *Cassia tora*, and *Dillenia pentagyna* extracts which were considered showed weak antibacterial activity in which zone of inhibition was between 5 mm and 8 mm [23]. This means that, in general, plant extract with zone of inhibition between 10 and 16 mm is considered moderately active while plant extract with zone of inhibition between 5 mm and 8 mm is considerate weakly active.

Ramli *et al.* [24] reported that the inhibition zone of *S. polyanthum* extract against *S. aureus* was 9.33±0.52 mm. In this experiment, findings showed that the inhibition zone is proportional with concentration.



**Figure-3:** Cell survivability (%) of 4T1 and MCF-7 cancer cells following treatment with *Syzygium polyanthum* extract for 72 h.



**Figure-4:** Minimum growth inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of *Syzygium polyanthum* extract on 4T1 and MCF-7 mammary carcinoma cell lines.

As the concentration of extract increases, the zone of inhibition is also wider. However, there is no difference in terms of pathogens susceptibility because the MIC and MBC values are the same which are at 125 mg/ml. It means that these bacteria inhibited and

killed at the same concentration of extract. This is in agreement with previous study using the same plant extract and Gram distinction between bacteria has an effect on susceptibility rate [24]. The similarity of MIC and MBC could be due to the pathogens tested in this experiment which were Gram-positive bacteria.

In general, *S. polyanthum* extract exhibits cytotoxic activity (when  $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ ), but according to the United States National Cancer Institute plant screening program and report [25], the *S. polyanthum* extract was in category of weakly active against cancer cells ( $IC_{50} > 100-1000 \mu\text{g/ml}$ ). In this study, the minimum concentration of *S. polyanthum* extract that gives at least 50% of cell inhibition of 4T1 and MCF-7 cells was  $672.57 \pm 59.42$  and  $126.05 \pm 50.89 \mu\text{g/ml}$ , respectively. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) cell-based colorimetric assay was used in the cytotoxicity assessment. It detects the viable cells based on tetrazolium compound reduction after reacting with metabolized cells. If the cell metabolically active, it has the ability to convert yellow MTT reagent into purple formazan by mitochondrial succinate dehydrogenase reaction. The intensity of purple formazan color solution was depending on the amount of viable cells that able to actively metabolize the tetrazolium compound in MTT reagent. Finally, high or low number of live cell was measured under spectrophotometer which gave the absorbance value of each well.

Mixture of methanol and water (hydromethanol) was used as solvent for extraction in this study. This means that polar solvent was used since methanol and water were classified as polar solvent. Hydromethanolic extract (mixture of methanol and water) has greater efficiency in pulling out (extract) phytochemical compound in plant compared to pure solvent (without mixture) [20,26,27]. Interestingly, in this study, it was found that both antibacterial and cytotoxic activities of this plant are considered weak. Even though *S. polyanthum* extracts do not demonstrate potent antibacterial and cytotoxic activities, it does not mean that the extract has poor therapeutic value. Perhaps, it is a possibility of phytochemical compound existing in the plants which are multicomponent mixture with different polarities. Selection of an appropriate solvent for extraction is crucially important since phytochemical compounds contribute to the therapeutic value of the plant. Therefore, further phytochemical analyses of this plant need to be conducted to determine phytochemical constituents and further isolation of the bioactive compound is strongly recommended.

## Conclusion

Crude hydromethanolic extract of *S. polyanthum* exerts weak antibacterial activity. Overall, the extract can be considered weak cytotoxic to mammary carcinoma cells. However, it was more toxic to MCF-7 cells compared to 4T1. These results support the

claims from traditional practitioner. However, further study is recommended, especially, this plant should be tested for *in vivo*. This is because many studies found that the effect would be different when tested between *in vitro* and *in vivo*, and perhaps, it would be more potent. This is because animals have an immune system and microenvironment such as hormone, and thus, the synergistic effect derived from extract might exist *in vivo* compared to *in vitro*.

## Authors' Contributions

MLN involved in all aspects of the study including concept, design, data collection, interpretation of data, statistical analysis, and manuscript preparation. AAO and AAK involved in obtaining funding and assisting the experiment. RS, AYO, and MM contributed to the statistical analysis and evaluated the manuscript. All authors have read and approved the final manuscript.

## Acknowledgments

The authors would like to thank the Faculty of Veterinary Medicine, UPM and Universiti Malaysia Kelantan, for providing the facilities and support for the completion of this study. The authors also are grateful to all the faculty staff who were involved indirectly in the study. This study was funded by Research University Grant Scheme (RUGS), Universiti Putra Malaysia (UPM), Malaysia (01-02-12-1670RU).

## Availability of Data and Materials

The datasets generated and/or analyzed during the current study are not publicly available due to its part of a big study (data) but are available from the corresponding author on reasonable request.

## Competing Interests

The authors declared that they have no competing interests.

## Publisher's Note

Veterinary World remains neutral with regard to jurisdictional claims in published institutional affiliation.

## References

1. Radostits, O.M. and Arundel, J.H. (2000) Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 9<sup>th</sup> ed. Saunders Press, London.
2. Zahreddine, H. and Borden, K.L. (2013) Mechanisms and insights into drug resistance in cancer. *Front Pharm.*, 4(28): 3389.
3. Townsend, D.M. and Tew, K.D. (2003) The role of glutathione-S-transferase in anticancer drug resistance. *Oncogene*, 22(47): 7369-7375.
4. Fathi, B., Jamshidi, A., Zolfagharian, H. and Zare Mirakbadi, A. (2011) Investigation of the antibacterial effect of venom of the Iranian snake *Echis carinatus*. *Iran. J. Vet. Sci. Technol.*, 2(1): 93-99.
5. Ang, J.Y., Ezike, E. and Asmar, B.I. (2004) Antibacterial resistance symposium series society for applied microbiology. *Ser. Soc. Appl. Microbiol.*, 2004(3): 229-239.
6. Balunas, M.J. and Kinghorn, A.D. (2005) Drug discovery

- from medicinal plants. *Life Sci.*, 78(5): 431-441.
7. Jain, R. and Jain, S.K. (2010) Traditional medicinal plants as anticancer agents from Chhattisgarh, India: An overview. *Int. J. Phytomed.*, 2(3): 186-196.
  8. Harvey, A.L. (2008) Natural products in drug discovery. *Drug Discov. Today*, 13(19): 894-901.
  9. Park, M.H., Choi, M.S., Kwak, D.H., Oh, K.W., Yoon, D.Y., Han, S.B., Song, H.S., Song, M.J. and Hong, J.T. (2011) Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF- $\kappa$ B. *Prostate*, 71(8): 801-812.
  10. Ahmed, U., Malik Mujaddad-ur-Rehman, N.K., Fawad, S.A. and Fatima, A. (2012) Antibacterial activity of the venom of *Heterometrus xanthopus*. *Indian J. Pharm.*, 44(4): 509.
  11. Noorma, W.H. (1995) *Synzygium gaertneri*; plant resource of South East Asia No 5(2). In: Lemmens, R.H., Soerianegara, M.J. and Wong, W.C.I., editors. *Timber Trees: Minor Commercial Timbers*. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia. p441-474.
  12. Ismail, M. (2007) *Ensiklopedia Herba: Kegunaan Dan Khasiat Perubatan Tradisi*. Anzagain Sdn Bhd.
  13. Dalimartha, S. (2007) *Atlas of Indonesian Medicinal Plants*. Vol. 2. Pustaka Penerbitan, Niaga Swadaya. p162-165.
  14. Haque, M.M. (2004) Inventory and documentation of medicinal plants in Bangladesh. In: *Medicinal Plants Research in Asia*. Vol. 1. Bangladesh: The Framework and Project Workplans. p45.
  15. Ismail, A., Mohamed, M., Sulaiman, S.A. and Wan Ahmad, W.A N. (2013) Autonomic nervous system mediates the hypotensive effects of aqueous and residual methanolic extracts of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. var. *Polyanthum* leaves in anesthetized rats. *Evid. Based Complement. Altern. Med.*, 2013: 1-16. Article ID 716532.
  16. Widyawati, T., Yusoff, N.A., Asmawi, M.Z. and Ahmad, M. (2015) Antihyperglycemic effect of methanol extract of *Syzygium polyanthum* (Wight.) leaf in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrients*, 7(9): 7764-7780.
  17. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Turck, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45(4), 493-496.
  18. Jorgensen, J.H. and Turnidge, J.D. (2007) Antibacterial susceptibility tests: Dilution and disk diffusion methods. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L. and Pfaller, M.A., editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 9<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, DC. p1152-1172.
  19. Baharum, Z., Akim, A.M., Taufiq-Yap, Y.H., Hamid, R.A. and Kasran, R. (2014) *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of methanolic plant part extracts of *Theobroma cacao*. *Molecules*, 19(11): 18317-18331.
  20. Nordin, M.L., Kadir, A.A., Zakaria, Z.A., Abdullah, R. and Abdullah, M.N.H. (2018) *In vitro* investigation of cytotoxic and antioxidative activities of *Ardisia crispa* against breast cancer cell lines, MCF-7 and MDA-MB-231. *BMC Complement. Altern. Med.*, 18(1): 87.
  21. Ayob, Z., Mohd Bohari, S.P., Abd Samad, A. and Jamil, S. (2014) Cytotoxic activities against breast cancer cells of local *Justicia gendarussa* crude extracts. *Evid. Based Complement. Altern. Med.*, 2014: 1-12. Article ID 732980.
  22. Mehta, N.R., Patel, E.P., Patani, P.V. and Shah, B. (2013) *Nelumbo nucifera* (Lotus): A review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *Indian J. Pharm. Biol. Res.*, 1(4): 152-167.
  23. Vashist, H. and Jindal, A. (2012) Antimicrobial activities of medicinal plants – Review. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.*, 3(1): 222-230.
  24. Ramli, S., Radu, S., Shaari, K. and Rukayadi, Y. (2017) Antibacterial activity of ethanolic extract of *Syzygium polyanthum* L. (Salam) leaves against foodborne pathogens and application as food sanitizer. *Bio. Med. Res. Int.*, 2017: 1-13, Article ID 9024246.
  25. Atjanasuppat, K., Wongkham, W., Meepowpan, P., Kittakoo, P., Sobhon, P., Bartlett, A. and Whitfield, P.J. (2009) *In vitro* screening for anthelmintic and antitumor activity of ethnomedicinal plants from Thailand. *J. Ethnopharmacol.*, 123(3): 475-482.
  26. Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S. and Duran, A. (2013) Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea* L. species. *Food Chem. Toxicol.*, 55(2013): 290-296.
  27. Al-Barazanji, R.K., Dizaye, K. and Al-Asadye, A. (2013) Cytotoxic and cytogenetic effects of *Salvia officinalis* on different tumor cell lines. *Middle East J. Int. Med.*, 6(4): 15-25.

\*\*\*\*\*



## SYZYGIUM POLYANTHUM [WIGHT.] WALP LEAVES EXTRACT AS THE ANTIBACTERIAL AGENT FOR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Sri Agung Fitri Kusuma<sup>1\*</sup>, Rizal Zam'an<sup>2</sup> and Irma Erika Herawati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Padjadjaran University, Sumedang, West Java, Indonesia 45363.

<sup>2</sup>Departement of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Al-Ghifari University, Bandung, West Java, Indonesia.

Article Received on  
19 May 2020,

Revised on 09 June 2020,  
Accepted on 29 June 2020

DOI: 10.20959/wjpr20207-18010

### \*Corresponding Author

**Dr. Sri Agung Fitri  
Kusuma**

Department of Biology  
Pharmacy, Faculty of  
Pharmacy, Padjadjaran  
University, Sumedang, West  
Java, Indonesia 45363.

### ABSTRACT

**Objective:** This study was designed to evaluate the antibacterial potency of *Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp leaves extract against *Staphylococcus aureus*. **Methods:** The *Syzygium* leaves were extracted using a maceration method with a 70 % ethanol as the solvent. Then the macerates were evaporated in a rotary evaporator at 40-50 °C to obtain a thick extract and the extract was screened using Harborne's standard method to detect its secondary metabolite content. The extract at various concentrations of 20, 40, 60 and 80 % w/v were evaluated to determine its antibacterial potency against *S. aureus* using the agar diffusion method. **Results:** The selected extraction method was effectively applied to the dried leaves of *S. polyanthum*. The secondary metabolites content of the leave, before and after extraction, was not influenced by the extraction method and the solvent. Both in dried leaves and extracts, they contain the same secondary metabolites, i.e. tannins and flavonoids. The leaves extract of *S. polyanthum* provided higher antibacterial activity against *S. aureus* as the increasing of the used extract concentrations. **Conclusion:** The leaf extract of *S. polyanthum* has a great opportunity to become a potential natural inhibitor against *S. aureus*.

**KEYWORDS:** *Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp, leaf, *Staphylococcus aureus*, antibacterial, potency.

## INTRODUCTION

*Staphylococcus aureus* is a normal flora bacterium that provides a significant impact on human health because of its involvement in several human diseases. As a normal flora, *S. aureus* colonizes on skin, mucous membrane and skin glands, but the bacteria have the capability to adapt to their environment and causing several infections to human, such as: bacteriemia, lethal pneumonia, osteomyelitis, toxic shock syndrome, scalded skin, and endocarditis.<sup>[1-4]</sup>

Recently, the resistance of *S. aureus* has gradually grown worldwide because of the bacterial evolution and the antibiotic abuse. The main cause of staphylococcal disease, commonly caused by strains of methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) and the infections have reached epidemic proportions globally.<sup>[4-7]</sup>

The bioactive compounds in leaves of *S. polyanthum* present a valuable metabolite for antibacterial agent. Recent research has highlighted that *S. polyanthum* has potential antibacterial activities due to the promising antibacterial metabolites, i.e. flavonoids and tannins.<sup>[8]</sup> This encourages interest in evaluating the antibacterial potential of the extract against *S. aureus*, thus, it can add information on the antibacterial spectrum of the *S. polyanthum* leaves.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

*S. polyanthum* fresh leaves were purchased from the Manoko Botanical Garden in Lembang, West Java, Indonesia. The age of the leaves was 2 weeks old and the color was green. The leaves of the plant were determined in School of Biological Sciences and Technology, ITB Bandung, Indonesia. The *S. aureus* was taken from bacterial culture collection of microbiology laboratory, Padjadjaran University, Indonesia.

### Simplicia Preparation

*S. polyanthum* leaves were washed with running tap water in the shortest possible time to avoid leaf damage which allows the early release of active substances. After that, the leaves were treated by the following steps: drained, cut, grounded and indirect drying. The drying process was run until the dried leaves got the constant weight.

### Extraction

The dried leaves of *S. polyanthum* were macerated in ethanol 70% for 3x24 h. The macerate was collected everyday as the new solvent addition into the macerator. All macerates fractions were collected, then evaporated in a rotary evaporator at 40-50 °C to yield the thick extract with the constant weight. The thick extract was prepared to make a serial dilution of testing concentrations as follows: 20%, 40%, 60%, and 80% w/v to be evaluated for the antibacterial activity test. The extract concentration of 80% w/v was made by diluting the extract in DMSO, meanwhile, the other concentrations were serially diluted using sterile distilled water.

### Phytochemical Screening

Phytochemical screening was conducted using a standard method to determine the class of secondary metabolite content in the simplicia and the extract of *S. polyanthum* leaf.<sup>[9]</sup> The detection included several secondary metabolites such as: alkaloids, quinones, tannins, flavonoids, saponins, steroids and triterpenoids.

### Preparation of the bacterial suspension

The turbidity of the bacterial suspension to be used was 0.5 McFarland standard. The 0.5 McFarland solution was consisted of a 0.05 ml of 1% BaCl<sub>2</sub> solution and 9.95 ml of 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution. The absorbance of the standard was measured at 530 nm. The *S. aureus* colonies from the slant agar were taken and suspended in 0.95% sterile saline. The turbidity of the *S. aureus* suspension then measured and adjusted to obtain a turbidity that equal to the 0.5 McFarland standard's turbidity.

### Antibacterial activity test

The antibacterial activity test of *S. polyanthum* leaf extract was carried out using the agar diffusion method. A total of 20 µL *S. aureus* suspension was mixed with Mueller Hinton agar (MHA) media (45°C) and gently homogenized in a sterile petri dish. The media was allowed to solidify at room temperature and aseptically perforated. The extract with in each concentration was filled in the hole in a volume of 50 µL. Then, the plates were incubated for 18 h at 37°C. The inhibitory zone diameters were measured using a caliper.<sup>[10]</sup>

## RESULTS AND DISCUSSION

After the drying process, 1.1 Kg of the dried leaves was obtained from 4.5 Kg of the fresh leaves. The drying process was aimed to reduce the water content in the leaves. According to

the traditional medicine requirements, the ideal water content of the extract is less than 10%.<sup>[11]</sup> The extraction yield was 6.65%. The extract, then evaluated for its antibacterial potency against *S. aureus*, and the diameters of the inhibition were presented in Table 1. The *S. aureus* demonstrated high sensitivity response to the tested extract. The inhibition diameter of the extract gradually increased with the increasing of extract concentration. The antibacterial activity of the extract was characterized as a very active antibacterial agent, because the resulted inhibition diameter was in the range of 13-18 mm.<sup>[12]</sup> The *S. polyanthum* leaf extract provided strong antibacterial characters against *S. aureus* and it suggested that the extract was very potential to be a medicinal plant for infectious disease caused by *S. aureus*. The confirming of the antibacterial potency of the *S. polyanthum* leaf extract was due to the potential of secondary metabolites contained in the extract. It is known that bioactive compounds can be synthesized in plants as secondary metabolites that have antimicrobial activity to inhibit the pathogens. The flavonoids and tannins were detected in the extract of *S. polyanthum* leaf. Both metabolites were known as an antibacterial agent with different mechanism of action. The flavonoids are contributed as inhibitor in: the nucleic acid synthesis and the cytoplasmic membrane,s function.<sup>[13,14]</sup> Meanwhile, tannins are reported to have a bacteriostatic or bactericidal effect against *S. aureus*, by complexing the microbial enzymes.<sup>[15,16]</sup>

**Table 1: Antibacterial activity of *S. polyanthum* leaf extract**

Extract concentration (%w/v)	Diameter of inhibition (mm)
20	14.20 ± 0.0000
40	15.55 ± 0.0000
60	16.40 ± 0.0000
80	17.10 ± 0.0002

Notes: the diameter of the perforator = 6 mm

## CONCLUSION

Our finding suggested that the leaf extract of *S. polyanthum* significantly inhibited *S. aureus* and could be further study to be developed as natural medicine, mainly to treat the infection caused by *S. aureus*.

## REFERENCES

1. Lowy FD. (*Staphylococcus aureus* Infections). *N Eng J Med*, 1998; 339(8): 520-532.
2. Mandell GL, Dolin R, Bennett JE. *Principles and Practices of Infectious Disease*, Philadelphia, Pennsylvania, USA: Churchill Livingstone. 2010; 7.

3. Projan SJ, Novick RP. The Molecular Basis of Pathogenicity. In: crossley KB, Archer GI, (Eds.). The Staphylococci in Human Disease. London: Churchill livingstone, 1997.
4. Yunlei G, Guanghui S, Meiling S, Juan W, Yi W. (Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus). Front Cell Infect Microbiol, 2020; 10(107): 1-11.
5. Hulten KG, Kaplan SL, Gonzalez BE, Hammerman WA, Lamberth LB, Versalovic J, et al. (Three-year Surveillance of Community-Acquired Staphylococcus aureus Infections In Children). Clin Infect Dis, 2006; 25(4): 349-353.
6. Hersh AL, Chambers HF, Maselli JH, Gonzales R. (National Trends In Ambulatory Visits And Antibiotic Prescribing For Skin And Soft-Tissue Infections). Arch Intern Med, 2008; 168(14): 1585–1591.
7. Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. (Emergence And Resurgence of Meticillin-Resistant Staphylococcus aureus As A Public-Health Threat). Lancet, 2006; 368(9538): 874–885.
8. Kusuma SAF, Ramdhani D, Mustarichie R. (Comparative Study on Activities of Anti Bacillary Dysentery Shigella dysenteriae Of Syzygium polyanthum And Dracaena angustifolia Leaves Ethanol Extracts). Asian J Pharm Clin Res, 2017; 10(2): 348-352.
9. Harborne JB. Phytochemical methods, New York: Chapman and Hall Int, 1998; 3.
10. Abdassah M, Kusuma SAF. (Comparison Of Thimerosal Effectiveness In The Formulation Of Eye Drops Containing Neomycin Sulfate And Chloramphenicol). Int J App Pharm, 2019; 11(1): 130-135.
11. Soediro IS. Standardisasi Mutu Simplisia dan Ekstrak Bahan Obat Tradisional. Jakarta: Presidium Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi, 1997.
12. Alves TMA, Silva AF, Brandão M, Grandi TSM, Smânia EFA, Smânia Jr A, et al. (Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 2000; 95(3): 367–373.
13. Haraguchi H, Tanimoto K, Tamura Y, Mizutani K, Kinoshita T. (Mode of Antibacterial Action Of Retrochalcones From Glycyrrhiza inflata). Phytochem, 1998; 48(1): 125–129.
14. Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. (Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism). Curr Med Chem, 2015; 22(1): 132-149.
15. Chung KT, Stevens SE, Lin WF, Wei CI. (Growth Inhibition of Selected Food-Borne Bacteria by Tannic Acid, Propyl Gallate and Related Compounds). Lett Appl Microbiol, 1993; 17(1): 29–32.

16. Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y. Tannins and Human Health: A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1998; 38(6): 421–464.

## Uji Potensial Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) - Kitosan Nanopartikel 1% Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*

Habibah Wulandarena Hosaina, Zuhendi Arifan Siagian, Florenly, Mellisa Sim

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Prima Indonesia  
Medan, Indonesia

### ABSTRAK

Belakangan ini telah banyak penelitian yang meneliti ekstrak daun salam dan kitosan nanopartikel 1% secara terpisah yang mempunyai potensial antibakteri pada bakteri gram positif maupun gram negatif. Dengan itu peneliti tertarik untuk mencampurkan kedua bahan tersebut sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif antibakteri yang lebih efektif kedepannya. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui potensial antibakteri dari ekstrak daun salam - kitosan nanopartikel 1% pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstrak daun salam di buat dengan metode maserasi dan di ubah ke dalam sediaan konsentrasi 50%, 75% dan 100%, kemudian di campurkan dengan kitosan nanopartikel 1% metode gelasi ionik dengan perbandingan 1:1 sehingga di dapat tiga grup penelitian. Potensial antibakteri di uji dengan metode disc diffusion (Tes Kirby-Bauer). Berdasarkan uji statistik one way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) yang berarti ada perbedaan rata-rata diameter hambat ekstrak daun salam 50%, 75% dan 100% - kitosan nanopartikel 1% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu  $12,30\pm 0,2530$  mm,  $13,25\pm 0,3728$  mm,  $14,10\pm 0,1789$  mm dan diperkuat oleh uji korelasi Pearson. Dengan demikian kombinasi ekstrak daun salam 100% - kitosan nanopartikel 1% terbukti paling potensial dalam melawan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Kata kunci:** Daun Salam (*Syzygium polyanthum*), Kitosan Nanopartikel 1%, *Staphylococcus Aureus*

***Antibacterial Potensial Test of Salam Leaf Extract (*Syzygium Polyanthum*) – Chitosan Nanopartikel 1% Against The Growth of *Staphylococcus Aureus* Bacteria***

### ABSTRACT

*Lately, There have been many studies about salam leaf extract and chitosan nanoparticle 1% which have antibacterial potential on both gram-negative and gram-positive bacteria.*

#### Korespondensi:

Mellisa Sim

Email: mellisasimdr@gmail.com

Researchers interested for mixing two of ingredients use as an alternative antibacterial that will be more effective for future. The aims of study to determine the antibacterial potential salam leaf extract - chitosan nanoparticles 1% against the growth of *Staphylococcus aureus*. Salam leaf extract made by maceration method and converted into 50%, 75% and 100% concentrations, mixed with chitosan nanoparticles 1% ionic gelation method ratio 1 : 1 so there was three research groups. The antibacterial potensial tested by the disc diffusion method (Kirby-Bauer test). Based on one way ANOVA statistical, it showed significance value of  $p = 0,000$  ( $p < 0.05$ ) so that means there was differences in the average diameter of inhibitory salam leaf extract 50%, 75% and 100% - chitosan nanoparticles 1% against the growth of *Staphylococcus aureus* where is the results are  $12.30 \pm 0.2530$  mm,  $13.25 \pm 0.3728$  mm,  $14.10 \pm 0.1789$  mm and reinforced by the Pearson correlation test. Thus the combination of 100% concentration salam leaf extract - chitosan nanoparticles 1% proved to be the most potential against *Staphylococcus aureus*.

**Keywords:** : Salam Leaf (*Syzygium polyanthum*), Chitosan Nanoparticles 1%, *Staphylococcus Aureus*.

## LATAR BELAKANG

Peneliti telah banyak melakukan uji tentang bahan alternatif antibakteri belakangan ini. Penelitian tersebut sering sekali berasal dari senyawa kimia sintetik (anorganik) ataupun produk alami (organik). Tumbuhan sering sekali di jadikan produk yang memiliki kegunaan baik untuk kesehatan seperti daun salam. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan jenis tumbuhan herbal yang mempunyai banyak kegunaan salah satunya adalah antibakteri.<sup>1</sup> Dari penelitian Susilowati dan Harningsih<sup>2</sup> uji fitokimia dapat digunakan untuk menentukan kandungan bahan kimia aktif sebagai antibakteri di dalam daun salam (*Syzygium polyanthum*). Adapun

senyawa bioaktif pada daun salam yang berkhasiat sebagai antibakteri diantaranya seperti fenol, polypeptide, tanin, flavonoid, quinone, minyak atsiri, coumarin, terpenoid, lectin, alkaloid, polyamine, thiosulfinate, isothiocyanate, polyacetylene dan glucoside.<sup>3</sup>

Wiradona et al.<sup>4</sup> dalam penelitiannya menggunakan daun salam sebagai bahan kumur menunjukkan pengaruh dalam menghambat pembentukan plak pada gigi sehingga dapat membantu mencegah terjadinya karies gigi dan penyakit periodontal. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Hakim et al.<sup>3</sup> daun salam konsentrasi yaitu 100%, 75%, dan 50% dari proses rebusan menunjukkan hasil adanya pengaruh daya hambat pertumbuhan pada bakteri *Enterococcus faecalis*. Sedangkan aktivitas antibakteri pada penelitian Mawan et al.<sup>5</sup> ekstrak buah salam (*Syzygium polyanthum*) menunjukkan adanya pengaruh signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* di mana konsentrasi 80% merupakan aktivitas tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Antibakteri alternatif lain juga dapat berasal dari produk hewani. Kitosan adalah senyawa yang dapat di temukan di dalam kulit udang dan cangkang kerang dan telah teruji memiliki beberapa aktivitas biologis salah satunya sebagai antibakteri. Polimer antibakteri kitosan dapat bertindak sebagai agen antibakteri secara aktif dan pasif. Dimana secara pasif dapat mengurangi penyerapan protein pada permukaannya yang berfungsi untuk merusak adhesi bakteri. Itu berarti bahwa polimer ini tidak membunuh bakteri tetapi dapat menghambat pertumbuhannya. Sedangkan pada kategori polimer aktif dimana senyawa menempel pada permukaan polimer sehingga secara aktif dapat membunuh bakteri.<sup>6</sup>

Kitosan memiliki gugus amina yang mengakibatkan kitosan dapat dimodifikasi. Salah satunya memodifikasi kitosan dalam ukuran nanopartikel yaitu dengan metode gelasi ionik seperti halnya penelitian Putri et al.<sup>7</sup> dengan menggunakan alat magnetic stirrer. Sedangkan yang dilakukan oleh Pan et



al.<sup>8</sup> dalam penelitiannya yaitu memodifikasi kitosan dengan cara penambahan natrium tripolifosfat (Na-TPP). Modifikasi tersebut dapat menyebabkan kitosan berperan sebagai polikationik kemudian berinteraksi dengan polianion tripolifosfat dan terjadilah crosslink ataupun ikatan silang dimana secara spontan membentuk partikel berukuran lebih kecil.<sup>9</sup> Kitosan yang diubah dalam bentuk nanopartikel yaitu berkisar antara 10 -1000 nm. Dengan demikian mempunyai efektivitas antibakteri dan penyerapan yang lebih baik dari ukuran kitosan biasanya. Seperti hasil dalam penelitian yang dilakukan oleh Qudsi et al. 10 dengan melihat perbedaan efektivitas dari kitosan dan kitosan nanopartikel terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* menggunakan konsentrasi 0,0625%; 0,125%; 0,5%; 0,25%; 1% dan yang mana hasilnya menunjukkan bahwa kitosan nanopartikel menunjukkan efek yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Rongga mulut mengandung berbagai macam komunitas bakteri. Mikroflora ini secara normal terdapat di bagian atau permukaan yang berada di rongga mulut. Bakteri pada jaringan lunak maupun jaringan keras menumpuk dan terakumulasi sehingga membentuk lapisan yang disebut plak. Bakteri yang terakumulasinya ini apabila di biarkan seringkali menyebabkan penyakit patogen di dalam rongga mulut.<sup>11</sup> Berdasarkan data dari Risesdas<sup>12</sup> tercatat gigi berlubang menempati persentasi tertinggi yaitu 45,3% dan di ikuti oleh gigi hilang 19,0% dan masalah infeksi pada gusi 14,0%, hal ini menunjukkan masalah kesehatan gigi pada masyarakat Indonesia masih kurang diperhatikan.

Bakteri *Staphylococcus aureus* telah lama dikenal sebagai unsur utama flora oral, bakteri ini sering sekali menimbulkan masalah kesehatan pada rongga mulut. Penyakit infeksi yang di timbulkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki karakteristik seperti peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Selain itu, sejumlah infeksi oral yang berbeda (misalnya angular

cheilitis, parotitis, mucositis) disebabkan oleh mikroorganisme ini. Baru-baru ini, juga telah ditemukan bahwa *Staphylococcus aureus* mungkin memiliki peran dalam kegagalan implan gigi<sup>13</sup>.

Mengenai latar belakang yang telah di jelaskan di atas, yang mana para peneliti telah banyak meneliti mengenai ekstrak daun salam dan kitosan nanopartikel 1% secara terpisah kepada bakteri gram positif maupun negatif, maka dari itu peneliti tertarik untuk mencampurkan kedua bahan tersebut dan melakukan uji potensial antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) - kitosan nanopartikel 1% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penggabungan dua bahan ini dengan konsentrasi dari ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75% dan 100% dimaksudkan untuk meningkatkan efek farmakologis yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri alternatif kedepannya dan membantu meningkatkan angka kesehatan gigi dan mulut.

## **BAHAN DAN METODE**

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium secara in vitro dan rancangan penelitian dengan post test only control group design. Pengolahan data untuk melihat hasil penelitian ini menggunakan program komputer SPSS dengan uji one way ANOVA dan korelasi pearson. Penelitian ini dilaksanakan di beberapa tempat yaitu identifikasi simplisia daun salam (*Syzygium polyanthum*) dilakukan di Herbarium Medanense USU. Pembuatan ekstraksi daun salam (*Syzygium polyanthum*), kitosan nanopartikel, uji fitokimia kualitatif ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) beserta pengujian antibakteri dilaksanakan di laboratorium fitokimia dan mikrobiologi biologi farmasi USU. Pengujian Particle Size Analyzer (PSA) dilakukan di Laboratorium Pengujian Obat, Makanan dan Kosmetik UII. Sampel yang di gunakan adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*) tua dan tidak rusak di dapatkan

dari perkebunan di daerah Medan Johor, yang di jadikan ekstrak dengan konsentrasi 50%, 75% dan 100%. Kemudian larutan kitosan nanopartikel 1% yang dipreparasi dengan metode gelasi ionik.

Alat dan bahan yang di gunakan adalah wadah tertutup, aluminium foil, rotary evaporator, timbangan analitik, timbangan digital, kertas whatman, corong kaca, inkubator, blender, sendok tanduk, sendok stainless steel, magnetic stirrer, sonikator, rak tabung reaksi, termometer, Biological Safety Cabinet, laminar air flow (LAF) cabinet, autoklaf, labu ukur, gelas ukur, erlenmeyer, beaker glass, cawan penguap, tabung reaksi, batang pengaduk, cawan petri, cakram kertas berdiameter 6mm, pipet tetes, jangka sorong (electric digital caplipper), jarum ose, mikropipet, tip, bunsen, kaki tiga, kawat kasa, penggaris, spidol, spuit, dan vial. Bahan yang di gunakan adalah serbuk kitosan (Funakoshi Co., Ltd) dengan deasetilasi 90%, natrium tripolifosfat (Na-TPP), daun salam (*Syzygium polyanthum*), asam asetat 1%, etanol 96%, etanol 70%, spiritus, akuades steril, bakteri *Stapilococcus aureus*, media Muller Hinton Agar (Oxoid), Nutrient Borth (Oxoid), DMSO.

### **Pembuatan Ekstrak Daun Salam**

Pembuatan ekstraksi dilakukan berdasarkan penelitian Sari et al.<sup>14</sup> daun salam (*Syzygium polyanthum*) disortir dan dibersihkan, lalu selama 3 hari pengeringan dilakukan di bawah sinar matahari. Setelah itu dilakukan sortasi kering dan dihaluskan menggunakan cara di blender. Serbuk halus di timbang sebanyak 600 gram. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) diekstraksi dengan metode maserasi. Simplisia kemudian di rendam dengan pelarut etanol 96% dan pengadukan setiap 24 jam selama 5 hari. Setelah itu menggunakan kertas saring untuk dilakukan penyaringan. Hasil maserat yang terkumpul dimasukkan dengan suhu 40°C ke dalam rotary evaporator, selanjutnya didapatkan sisa filtrat dan diuapkan menggunakan cawan penguap dengan inkubator hingga terbentuk ekstrak kental. Uji fitokimia dilakukan dengan metode skrining

menggunakan pereaksi secara kualitatif, bertujuan mengetahui ada tidaknya senyawa bioaktif ekstrak daun salam yang terdapat didalamnya. Uji fitokimia yang dilakukan antara lain uji flavonoid, alkaloid, steroid, triterpen, saponin, tanin dan glikosida.

### **Pembuatan Kitosan Nanopartikel 1%**

Kitosan nanopartikel dengan metode gelasi ionik berpedoman pada penelitian Bangun et al.<sup>15</sup> siapkan larutan kitosan 1% dengan cara kitosan dilarutkan seberat 0,2 g dengan 20 mL asam asetat 1% menggunakan magnetic stirrer selama 8 jam. Kemudian disonikasi selama 40 menit. Selanjutnya siapkan larutan natrium tripolifosfat 0,1 % dengan cara natrium tripolifosfat dilarutkan sebanyak 0,01 g dalam 10 mL akuades dengan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian disonikasi selama 40 menit.

Kedua larutan dicampurkan dengan cara teteskan natrium tripolifosfat 0,1% kedalam larutan kitosan 1% tetes demi tetes dengan spuit 1 mL dengan kecepatan penetesan 15 tetes/menit. Dengan perbandingan kitosan : natrium tripolifosfat 2:1. Stirrer larutan ini selama 8 jam dan sonikasi selama 45 menit.<sup>15</sup> Kemudian kitosan nanopartikel 1% dalam bentuk cair dianalisis dengan menggunakan uji PSA (Particle Size Analyzer) dengan metode dynamic light scattering untuk melihat ukurannya.<sup>16</sup>

### **Preparasi Sampel Ekstrak Daun Salam - Kitosan Nanopartikel**

Pencampuran dilakukan dengan perbandingan 1:1 pada tiap grup. Ekstrak daun salam (*Syzygium Polyanthum*) konsentrasi 50%, 75%, 100% dan kitosan nanopartikel 1% yaitu masing-masing sebanyak 1 mL.<sup>17</sup>

### **Uji Antibakteri**

Untuk uji potensial antibakteri dilakukan dengan metode disc diffusion (Tes Kirby-Bauer). Peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus*, pembuatan suspensi bakteri, pembuatan cakram kertas dengan diameter 6 mm, persiapan kontrol positif. Suspensi yang berisikan bakteri disiapkan 20 µL

dan di tuangkan ke media di dalam petri selanjutnya goreskan dengan kapas ulas steril pada media uji. Dilakukan pemutaran dengan kapas ulas steril hingga beberapa kali, yang mana prosedur ini di lakukan pengulangan sebanyak dua kali. Kontrol positif berupa ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75%, 100% dan kitosan nanopartikel 1%, kemudian sediakan sampel kombinasi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) masing-masing konsentrasi 50%, 75% dan 100% - kitosan nanopartikel 1%. selanjutnya cakram diletakkan di permukaan media yang di inginkan dan di sesuaikan posisinya. selanjutnya media di simpan selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C. Diameter zona hambat dapat di ukur dengan menggunakan jangka sorong sehingga hasil yang di dapatkan di tulis dengan satuan milimeter.<sup>18</sup>

## HASIL

### Hasil Identifikasi Material Simplisia

Sampel pada penelitian ini dibuktikan berdasarkan hasil identifikasi material simplisia yang di uji di Herbarium Medanense yaitu :

Nama lokal : Daun Salam  
 Spesies : *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp  
 Genus : *Syzygium*  
 Famili : Myrtaceae  
 Ordo : Myrtales  
 Kelas : Dicotyledoneae  
 Divisi : Spermatophyta  
 Kingdom : Plantae

Maka dari itu benar bahwa simplisia yang di gunakan pada penelitian ini ialah daun salam (*Syzygium polyanthum*).

### Hasil Uji Fitokimia

Dari hasil uji fitokimia secara kualitatif pada ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada tabel 1 dapat dilihat sebagai berikut.

Tabel 1 Golongan Senyawa Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*)

Metabo Skunder	Pereaksi	Ekstrak Etanol
Alkaloid	Dragendorff, Bouchardat, Mayer	- - -
Flavonoid	Serbuk Mg+ Amil Alkohol+HCl p	+
Glikosida	Molish+ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+
Saponin	Air Panas/dikocok	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	+
Triterpen/Steroid	Lieberman-Bourchat	+

Keterangan : + = Positif, - = Negatif

Dari tabel 1 dapat dilihat bahwa senyawa di dalam daun salam (*Syzygium polyanthum*) mengandung glikosida, saponin, tanin, flavonoid dan triterpen/steroid. Sedangkan alkaloid tidak terkandung di dalam daun salam (*Syzygium polyanthum*).

### Hasil Uji Particle Size Analyzer Kitosan Nanopartikel 1%

Pada uji particle size analyzer kitosan nanopartikel 1% menggunakan HORIBA Scientific SZ-100. Hasil pada tabel 2 dapat dilihat sebagai berikut.

Tabel 2 Hasil Uji Particle Size Analyzer Kitosan Nanopartikel 1%

Nama Sampel	Parameter	Satuan	Hasil Uji
Kitosan Nanopartikel 1%	Nano Partikel	Nm	101,5

Keterangan: Nm: nanometer

Berdasarkan tabel 2 uji partikel size analyzer di dapatkan kitosan nanopartikel 1% dengan ukuran 101,5 nm.

### Hasil Uji Antibakteri

Hasil pengujian potensial antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75% dan 100% – kitosan nanopartikel 1% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Nilai diameter hambat dilihat selengkapnya di tabel 3 berikut.

Tabel 3 Nilai Diameter Hambat Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) – Kitosan Nanopartikel 1% dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Bahan Uji	Konsentrasi	Replasi (mm)						Mean±SD
		1	2	3	4	5	6	
Ekstrak daun salam- kitosan nanopartikel 1%	100%	14,2	13,8	14,1	14,0	14,2	14,3	14,10±0,1789
	75%	13,6	12,9	13,1	13,7	12,8	13,4	13,25±0,3728
	50%	12,4	12,6	12,0	12,0	12,3	12,5	12,30±0,2530
Kontrol Postifi								
Ekstrak daun salam	100%							13,6
	75%							12,4
	50%							11,8
Kitosan nanopartikel 1%								10,4

Berdasarkan tabel 3 diatas menunjukkan bahwa rata-rata±SD diameter hambat ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75%, 100% – kitosan nanopartikel 1% yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 12,30±0,2530 mm, 13,25±0,3728 mm, 14,10±0,1789 mm. Sedangkan diameter hambat pada kontrol positif yaitu ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75%, 100% – kitosan nanopartikel 1% adalah 11,8 mm ; 12,4 mm ; 13,6 mm dan 10,4 mm.

Dari data yang ditunjukkan pada diameter hambat tabel 3 diatas, dan dilakukan untuk uji normalitas Shapiro-Wilk. Dari hasil pengujian normalitas terlihat nilai signifikansi  $p > 0,05$  dan dilanjutkan menggunakan uji statistik parametrik one way ANOVA. Hasil uji one way ANOVA selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4 berikut.

Tabel 4 Hasil Uji One Way ANOVA

Bahan Uji	Mean	SD	p value
Ekstrak daun salam- kitosan nanopartikel 1%	14,10	0,1789	0,000*
	13,25	0,3728	
	12,30	0,2530	

\*Signifikan

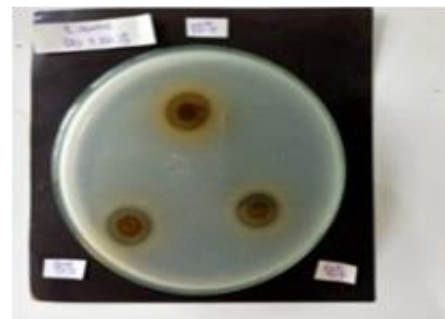
Berdasarkan data uji statistik one way ANOVA dapat dilihat bahwa nilai signifikansi  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Berarti adanya peningkatan potensial antibakteri dari setiap grup perlakuan.



**Gambar 1** Hasil zona hambat kontrol positif kitosan nanopartikel 1% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.



**Gambar 2** Hasil zona hambat kontrol positif ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75%, 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.



**Gambar 3** Hasil zona hambatan kombinasi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75%, 100% - kitosan nanopartikel 1% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Selanjutnya, dilakukan analisis data menggunakan uji korelasi pearson bertujuan mengetahui keeratan hubungan antara ekstrak dari daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi 50%, 75%, 100% – kitosan nanopartikel 1% terhadap diameter hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran uji korelasi pearson selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5 berikut.

Tabel 5 Hasil Uji Korelasi Pearson

Ekstrak daun salam konsen trasi 50%, 75% dan 100% - kitosan nanopartikel 1%	Jumlah	Korelasi Pearson(r)	P
	18	0,944	0,000*

\*Signifikan

Sesuai uji korelasi pearson arah hubungan korelasi positif dimana hubungan ekstrak dari daun salam (*Syzygium polyanthum*) konsentrasi 50%, 75%, 100% - kitosan nanopartikel 1% terhadap diameter hambat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh nilai  $p=0,000$  dan nilai  $r=0,944$ .

## PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan daun salam dengan spesies *Syzygium polyanthum*. Hasil uji fitokimia kualitatif yang di dapatkan dari ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti saponin, glikosida, flavonoid, tanin dan triterpen/steroid. Hasil fitokimia ini sesuai dengan hasil dari uji fitokimia yang dilakukan oleh Mawan et al.<sup>5</sup> terhadap daun salam (*Syzygium Polyanthum*) dimana senyawa-senyawa tersebut telah terbukti memiliki manfaat yang baik sebagai antibakteri

Selain itu penelitian ini juga digunakan kitosan dalam ukuran nanopartikel konsentrasi 1%. Kitosan sendiri diketahui sudah memiliki potensial antibakteri yang baik dimana berdasarkan hasil penelitian yang telah di teliti Damayanti et al.<sup>19</sup> aktivitas antibakteri lebih tinggi potensial menghambat pada bakteri gram negatif dari bakteri gram positif termasuk *Staphylococcus aureus*. Dari uji particle size analyzer di dapatkan ukuran kitosan nanopartikel 1% yaitu 101,5 nm. Hasil penelitian ini di pengaruhi oleh metode, suhu, kecepatan pengadukan dan derajat deasetilasi kitosan yang di gunakan yaitu pada penelitian ini adalah 90%. Sedangkan pada penelitian Arsyi et al.<sup>20</sup> dengan sama-sama menggunakan metode gelasi ionik dan kitosan dengan deasetilasi yang berbeda yaitu 82,05% untuk membentuk kitosan nanopartikel dan hasilnya adalah lebih besar yaitu 774,3 nm.

Ini menunjukkan banyak hal yang dapat mempengaruhi terbentuknya ukuran kitosan nanopartikel tersebut. Sedangkan pada penelitian Arsyi et al.<sup>20</sup>

dengan sama-sama menggunakan metode gelasi ionik dan kitosan dengan deasetilasi yang berbeda yaitu 82,05% untuk membentuk kitosan nanopartikel dan hasilnya adalah lebih besar yaitu 774,3 nm. Ini menunjukkan banyak hal yang dapat mempengaruhi terbentuknya ukuran kitosan nanopartikel tersebut.

Dari ketiga grup perlakuan hasil yang di dapatkan pada penelitian ini yaitu memiliki potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75%, 100% - kitosan nanopartikel 1% adalah 12,30 mm; 13,25 mm; 14,10 mm. Hasil penelitian terlihat perbedaan dari ketiga grup perlakuan semakin rendah konsentrasi daun salam yang digunakan maka semakin rendah diameter zona hambatnya. Kemudian setiap grup perlakuan memiliki daya hambat yang kuat hal ini diperkuat oleh pernyataan mengenai kriteria kekuatan besar zona hambat pada penelitian Mozartha et al. berkisar 11-20 mm.<sup>21</sup>

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Syarmalina et al.<sup>22</sup> yaitu dengan mengubah ekstrak temulawak menjadi nanopartikel berbasis kitosan dengan metode gelasi ionik dalam melawan pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne* sebagai anti jerawat, hasilnya menunjukkan bahwasanya terjadi peningkatan zona hambat setelah pencampuran kedua bahan tersebut di bandingkan dengan ekstrak temulawak tunggal. Hal ini di akibatkan karena adanya perubahan ukuran partikel sehingga membantu meningkatkan potensial antibakteri.

Sedangkan untuk hasil dari kontrol positif ekstrak daun salam konsentrasi 50%, 75% dan 100%, menunjukkan besar zona hambat masing-masingnya adalah 11,8 mm; 12,4 mm; 13,6 mm. Hasil kontrol

positif penelitian ini memiliki zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tammi et al.<sup>23</sup> diameter hambat dari ekstrak dari daun salam (*Syzygium polyanthum*) 100%, 80%, 60%, 40% dan 20% adalah 22,75 mm; 20,25 mm; 20 mm; 20 mm; dan 18,75 mm hal ini kemungkinan karena beberapa faktor salah satunya adalah proses pengeringan yang berbeda yaitu menggunakan alat pengering dengan suhu yang stabil sehingga kandungan air akan lebih sedikit dari pada dengan menggunakan sinar matahari. Proses tersebut diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Winangsih et al.<sup>24</sup> bahwa minyak atsiri yang terkandung di bagian daun akan lebih banyak dan kadar airnya lebih sedikit dengan pengeringan menggunakan alat dari pada dengan metode pengeringan lainnya.

Kontrol positif lainnya yang dipakai saat penelitian ini berlangsung ialah kitosan nanopartikel 1%. menunjukkan bahwa hasil penelitian dengan diameter hambat dari kitosan nanopartikel 1% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 10,4 mm. Hasil ini tidak jauh berbeda dari hasil yang diteliti oleh Magani et al.<sup>25</sup> didapatkan bahwa diameter hambat dari kitosan nanopartikel 1%, untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 9,98 mm.

Hasil penelitian juga dapat terlihat perbedaan antara ketiga grup perlakuan dengan kontrol positif dalam hal potensial pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, yaitu adanya peningkatan daya hambat pada setiap grup perlakuan dari kontrol positif yang digunakan. Itu menunjukkan bahwa kedua bahan saling mempengaruhi sehingga terjadi peningkatan potensial antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil uji oneway ANOVA dapat dinyatakan bahwa hipotesis penelitian ini dapat diterima yaitu adanya efek antibakteri pada uji potensial antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) – kitosan nanopartikel 1% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Didukung juga dengan hasil korelasi pearson yang menyatakan bahwa penelitian ini memiliki korelasi yang bermakna antara korelasi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) – kitosan nanopartikel 1% dengan diameter hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan tingkatan keeratan adalah sangat kuat. Arah hubungan korelasi positif berarti dengan semakin

besarnya konsentrasi dari ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) – kitosan nanopartikel 1%, maka semakin tinggi juga diameter hambatnya sehingga semakin potensial bahan uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji korelasi pearson ini memiliki kesamaan hasil dengan apa yang dilakukan oleh Qudsi et al.<sup>10</sup> yaitu dengan menguji korelasi kitosan nanopartikel terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* bahwasanya hasil yang ditunjukkan adalah positif sehingga potensial hambat yang didapatkan semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Seperti terlihat dari hasil penelitian ini bahwa kombinasi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) konsentrasi 100% - kitosan nanopartikel 1% terbukti lebih kuat dan berpotensi untuk menghambat perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi 75% dan 50% – kitosan nanopartikel 1%, serta kontrol positif (ekstrak daun salam 50%, 75% dan 100% kitosan nanopartikel 1%).

## SIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini sesuai dengan hasil dan pembahasan yaitu potensial antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 50%, 75%, 100% - kitosan nanopartikel 1% memiliki kriteria kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dimana diameter hambat yang didapatkan adalah 12,30 mm, 13,25 mm, 14,10 mm. Antibakteri yang paling kuat dan berpotensi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* untuk menghambat pertumbuhannya adalah ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) 100% - kitosan nanopartikel 1%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ramli S, Radu S, Shauri K, and Rukyadi Y. Antibacterial activity of ethanolic extract of *Syzygium polyanthum* L. (salam) leaves against food borne pathogens and application as food sanitizer. *Hindawi Biomed research international*. 2017. Article ID: 9024246. Available at: <http://doi.org/10.1155/2017/9024246> (diakses 25 November 2019).
2. Susilowati IT dan Harningsih T. Potensi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai pengawet pada ikan layur (*Trichiurus* Sp) *Jurnal Kesehatan Kusuma Husadah* 2017

- 116-112.
3. Hakim RF, Fakhurrazi, dan Ferisa W. Pengaruh air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. 2016. *Journal of Syaih Kuala dentistry society*. 1: 21-28. Available at: <http://jurnal.unsyiah.ac.id/JDS/> (diakses: 03 februari 2019).
  4. Wiradona I, Mardiaty E dan Sariyem. Pengaruh berkumur ekstrak daun salam (*Eugenia polianthum Wight.*) terhadap pembentukan plak. 2015. *Jurnal Riset Kesehatan*.4 (2): 768-772.
  5. Mawan AR, Indriwati ES dan Suhadi. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah salam (*Syzygium polianthum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. 2018. *Jurnal Bioeksperimen*. 4 (1): pp 64-68. Available at: <http://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v4i1.2762> (diakses: 15 Juli 2019).
  6. Adinda MATICA, Menghiv G and Ostafe V. Review antibacterial properties of chitin and chitosan. *New Frontiers in Chemistry*. 2017. 26 (1): pp 39-54.
  7. Putri AI, Sundaryono A, dan Candra IN. Karakterisasi nanopartikel kitosan ekstrak daun ubijalar (*Ipomoea batatas L.*) menggunakan metode gelas ionik. *Jurnal pendidikan*. 2018. 2 (2): 203-207.
  8. Pan C, et al. Preparation nanoparticel by ionic cross-linked emulsified chitosan and its antibacterial activity. *Journal colloids and surfaces A*. 2019. 362-370. Available at <http://www.elsevier.com/locate/colsurfa> (diakses: Agustus 2019).
  9. Hasani AS, Laoini H, and Charcosset CFC. Preparation pf chitosan-TPP nanoparticles using microengineered membranes- effect of parameters and encapsulation of tacrine. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspect*. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.colsurfa.2015.04006>.
  10. Qudsi DCM, Sudjari dan Rahayu SI. Perbandingan eektivitas kitosan (2-Acetamido-2-Deoxy- D-Glukopiranoose) dan nano kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* secara in vitro. *Majalah kesehatan FKUB*. 2015. 2 (4):229-240. Available at: <http://majalahfk.ub.ac.id/index.php/mkfkub> (diakses: September 2019)
  11. Wahyuni A, Dewi N, dan Budiarti LY. Uji efektifitas antibakteri sediaan tunggal dibandingkan kombinasi seduhan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan Madu. *Dentino Jurnal kedokteran gigi*. 2016. 1(2): 113-118.
  12. Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas). Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Republik Indonesia tahun. 2018. Available at:[http://www.depkes.go.id/resources/download/infoterkini/materi\\_rakorpop\\_2018/Hasil%20Riskesmas%202018.pdf](http://www.depkes.go.id/resources/download/infoterkini/materi_rakorpop_2018/Hasil%20Riskesmas%202018.pdf) (diakses juli 2019).
  13. McCormack MG, et al. *Staphylococcus aureus* and the oral cavity: an over looked source of carriage and infection. *American Journal of Infection Control*. 2015. 43: 35-37. Availabel at:<http://www.ajicjournal.org> (diakses: 04 Oktober 2019).
  14. Sari R, Muhani M, dan Fajriaty I. Uji aktivitas antibakteri etanol daun gaharu (*Aquilaria microcarpa Baill.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. *Jurnal pharmaceutical sciences research*. 2017. 4 (3): 143-154.
  15. Bangun H, Tandiono S and Arianto A. Preparation and evolution of chitosan – tripolyphosphate nanoparticles suspension as an antibacteria agentl. *Journal of Aplied Pharmaceutical Science*. 2018. 8(12): pp 147-156. DOI: 10.7324/JAPS.2018.81217. Available at:<http://www.Japsonline.com> (diakses: 25 Desember 2019).
  16. Zaman M, Ang S and Singh S. Characterizing nanoparticle size by dinamic light scattering. *Journal of the Arkansas Academy of Sience*. 2016. 70. art 41.
  17. Risma E, Kusumaningrum S, Bangun O, Nizar, Marhamah. Pengujian aktivitas antiacne nanopartikel kitosan – ekstrak buah manggis (*Garcinia mangostana*). *Media Libangkes*. 2014. 24 (1): 19-27.
  18. Lestari RB, Munir AMS dan Tribudi YA. Pemanfaatan kitosan kulit udang dengan penambahan ekstrak daun kesum sebagai penghambat bakteri pada edible coating. *Jurnal teknologi pertanian*. 2018. 19(3): 207-214.
  19. Damayanti W, Rochima E dan Hasan Z. Aplikasi kitosan sebagai antibakteri pada filet patin selama penyimpanan suhu rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 2016. 19 (3) : 321-328. DOI: 10.17844/

20. Arsyi NZ, Nurjannah E, Ahlina DN, Budiayati E. Karakterisasi nono kitosan dan cangkang udang kerang hijau metode gelasi ionik. *Jurnal teknologi bahan alam*. 2018. 2 (2):106-111.
21. Mozartha M, Silvia P dan Sujatmiko B. Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak *Curcuma zedoaria* dan bahan irigasi natrium hipoklorit 2,5% terhadap *Enterococcus faecalis*. *Jurnal material kedokteran gigi*. 2019. 8 (1): 22-29. Available at:<http://jurnal.pdgi.or.id/index.php/jmkg/issue/view/54> (diakses: Agustus 2019).
22. Syarmalina, Wirawan D dan Rahmath D. Formulasi ekstrak temulawak berbasis kitosan sebagai anti jerawat. *Jurnal Systems STF Muhammadiyah Cirebon*. 2019. 3 (2):153-158.
23. Tammi A, E. Apriliana, T-U. Sholeha, dan M-R. Ramadhian. Potensi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *J Agromedicine Unila*. 2018. 5 (2).
24. Winangsih, Prihastanti E dan Parman. Pengaruh metode pengeringan terhadap kualitas simplisia lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 2013. 21 (1):19-25.
25. Magani AK, Tallei TE dan Kolondam BJ. Uji Antibakteri nanopartikel kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios*. 2020. 10 (1): 7-12. Available at:<https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/bioslogos/article/view/27978/27450> (Januari 2019)