

**EFEK ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Bacillus subtilis*  
SECARA IN VITRO**

**ANTIMICROBIAL EFFECT OF ETANOL EXTRACT OF SALAM LEAVES  
(*Syzygium polyanthum*) AGAINST *Escherichia coli* AND *Bacillus subtilis*  
IN VITRO**

Vanny Setiawan<sup>1</sup>, Penny Setyawati Martioso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha

<sup>2</sup>Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,  
Jalan Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

**ABSTRAK**

*Foodborne illness* masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. *Foodborne illness* terjadi akibat kontaminasi bakteri karena higiene perorangan dan sanitasi lingkungan yang masih kurang baik. Minyak atsiri, tanin, flavonoid, alkaloid, dan saponin yang terkandung dalam ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) diduga memiliki efek antimikroba. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak etanol daun salam terhadap pertumbuhan koloni *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* sebagai bakteri penyebab *foodborne illness*.

Penelitian eksperimental laboratorium ini untuk menilai efek antimikroba daun salam terhadap koloni *E. coli* dan *Bacillus subtilis* melalui pembentukan zona inhibisi pada metode difusi cakram. Data dianalisis dengan tes *one way ANOVA*, lalu dengan *Post Hoc Test Fisher LSD*,  $p < 0,05$ .

Hasil uji ekstrak daun salam 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan metode difusi cakram terhadap koloni *E. coli* tidak ada yang menunjukkan pembentukan zona inhibisi. Hasil uji ekstrak daun salam 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan metode difusi cakram terhadap koloni *Bacillus subtilis* semua menunjukkan adanya pembentukan zona inhibisi dan diameter zona inhibisi paling lebar adalah pada konsentrasi 100% dengan rerata 14,16 mm, tetapi masih lebih kecil dibandingkan zona inhibisi kontrol positif Gentamisin yaitu 17,09 mm.

Ekstrak etanol daun salam memiliki efek antimikroba terhadap *Bacillus subtilis* tetapi, tidak memiliki efek antimikroba terhadap *E. coli*.

**Kata Kunci:** ekstrak etanol daun salam, efek antimikroba, metode difusi cakram

**ABSTRACT**

*Foodborne illness* remains as public health problem in Indonesia. It is caused because of bacterial contamination partly due to personal hygiene and bad environmental sanitation. Extract of salam leaves (*Syzygium polyanthum*) contain agents such as essential oil, tannin, flavonoid, alkaloid, and saponin that supposed to have antimicrobial effect. The aim of this study is to determine the antimicrobial effects of ethanol extract of salam leaves on the *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* colonies' growth as causes of food poisoning.

This laboratory experimental study was to assess antimicrobial effect of salam leaves to *E. coli* and *Bacillus subtilis* colonies by forming zone of inhibition with

*disk diffusion method. Data were analyzed with one-way ANOVA test and Post Hoc Test Fisher LSD,  $p < 0,05$ .*

*Result of ethanol extract of salam leaves 25%, 50%, 75%, and 100% with disk diffusion method on E. coli colonies showed no inhibition zone. Result of ethanol extract of salam leaves 25%, 50%, 75%, and 100% with disk diffusion method on Bacillus subtilis colonies all concentrations showed the formation of zone inhibition on media with 100% extract concentration was 14,16 mm but this result is smaller than Gentamicin as positive control with 17,09 mm.*

*Ethanol extract of Salam leaves have antimicrobial effect to Bacillus subtilis, but not against Escherichia coli.*

**Keywords:** *ethanol extract of salam leaves, antimicrobial effectiveness, disk diffusion method.*

## PENDAHULUAN

*Foodborne illness* yaitu penyakit akibat keracunan atau infeksi karena mengonsumsi makanan terkontaminasi mikroorganisme. *Foodborne illness* masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia karena kurangnya higiene perorangan dan sanitasi lingkungan sehubungan dengan pengolahan bahan makanan dan proses memasak<sup>1</sup>.

Tan pada tahun 2013 melaporkan bahwa penyebab *foodborne* di Indonesia adalah mikroorganisme<sup>2</sup> akibat tingkat kontaminasi makanan oleh *Escherichia coli* masih cukup tinggi yaitu 65,5%<sup>3</sup>. *Escherichia coli* dapat ditemukan pada daging sapi mentah atau *undercooked*, susu yang tidak dipasteurisasi, buah dan sayur mentah<sup>4</sup>. *Bacillus subtilis* juga dilaporkan sebagai salah satu etiologi *foodborne illness* pada daging atau sayuran isi *pastry/kue*, daging atau produk unggas yang telah dimasak, roti atau roti manis, *sandwich*, dan *seafood*<sup>5</sup>.

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) berasal dari tanaman asli Indonesia. Daun salam selain digunakan sebagai bumbu, juga dapat dijadikan bahan obat tradisional. Daun salam secara empiris telah digunakan untuk obat hipertensi, diabetes, asam urat, diare, dan maag<sup>6</sup>. Malik dan Ahmad tahun 2013 melaporkan bahwa daun salam mengandung zat yang berkasiat sebagai antimikroba<sup>7</sup> yaitu minyak atsiri (*essential oil*), tanin, flavonoid, alkaloid, dan saponin<sup>8,9</sup>.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian eksperimental laboratorium ini dilakukan untuk menilai efek antimikroba daun salam terhadap pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis* dengan metode difusi cakram. Suspensi bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis* masing-masing sesuai standar Mc Farland diinokulasikan pada media agar Müeller Hinton yang berbeda, dimana diletakkan cakram yang mengandung ekstrak etanol daun salam dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Efek antimikroba ekstrak daun salam dievaluasi dengan cara mengamati ada atau tidaknya pembentukan zona inhibisi, serta ukuran diameter zona inhibisi yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm). Cakram Gentamisin digunakan sebagai kontrol positif yang diletakkan pada media agar Müeller Hinton yang telah diinokulasi masing-masing dalam cawan petri yang berbeda dengan suspensi bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis*. Diameter zona inhibisi sensitif Gentamisin untuk *E. coli* 11 mm dan *Bacillus subtilis* 17,09 mm.

## ANALISIS DATA

Data dianalisis dengan tes *one way ANOVA* dengan  $\alpha = 0,05$ , lalu dilanjutkan *Post Hoc Test Fisher LSD* dengan  $p < 0,05$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol daun salam dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, semua menunjukkan adanya pembentukan zona inhibisi terhadap pertumbuhan koloni *Bacillus subtilis* dengan rerata diameter zona inhibisi berturutan 10,194 mm, 12,45 mm, 12,972 mm, dan 14,16 mm. Diameter zona inhibisi ekstrak etanol daun salam terbesar diperoleh pada konsentrasi 100% yaitu 14,16 mm masih lebih kecil dibandingkan rerata diameter zona inhibisi kontrol positif Gentamisin yaitu 17,09 mm.

Zona inhibisi tidak terbentuk pada media dengan konsentrasi ekstrak etanol daun salam 25%, 50%, 75%, maupun 100% yang diinokulasi *E. coli*, sedangkan pada kontrol positif yang diberi cakram Gentamisin didapatkan rerata diameter zona inhibisi sebesar 11 mm.

Analisis *one way* ANOVA efek antimikroba ekstrak daun salam terhadap

*Bacillus subtilis* menunjukkan hasil yang sangat signifikan ( $p=0,000$ ) seperti pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1 ANOVA Ekstrak Daun Salam dan Gentamisin**

Metode	Sum of Squares	Df	Mean Square	Sig.
<b>Between Groups</b>	127.771	4	31.943	.000
<b>Within Groups</b>	34.665	20	1.733	
<b>Total</b>	162.436	24		

Hasil uji ANOVA diperoleh  $p=0,000$ , hal ini menunjukkan adanya perbedaan rerata diameter zona inhibisi antara pemberian ekstrak konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% tetapi efektivitasnya masih dibawah kontrol positif Gentamisin. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dilakukan uji *Post hoc Test* Fisher LSD.

**Tabel 4.2 Uji *Post Hoc Test* Fisher LSD terhadap Zona Inhibisi yang Ditimbulkan Ekstrak Etanol Daun Salam *Bacillus subtilis***

Pengenceran	25%	50%	75%	100%	Kontrol +
Ekstrak etanol 25%		2,256 * $p=0,013$	2,778 ** $p=0,003$	3,966 ** $p=0,000$	6,896 ** $p=0,000$
Ekstrak etanol 50%			0,522 $p=0,537$	1,71 $p=0,053$	4,64 ** $p=0,000$
Ekstrak etanol 75%				1,188 $p=0,168$	4,118 ** $p=0,000$
Ekstrak etanol 100%					2,93 ** $p=0,002$
Kontrol +					

Hasil *Post Hoc Test* Fisher LSD pada tabel 4.2 menunjukkan pada perbandingan semua konsentrasi didapatkan perbedaan yang sangat bermakna pada rerata diameter zona inhibisi yang terbentuk. Tetapi pada perbandingan konsentrasi 25% dengan 50% didapatkan perbedaan bermakna ( $p=0,013$ ) berdasarkan rerata diameter zona inhibisi yang terbentuk. Potensi antimikroba ekstrak etanol 50% tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan ekstrak etanol konsentrasi 75% ( $p=0,537$ ) dan 100% ( $p=0,053$ ) berdasarkan rerata diameter zona inhibisi yang terbentuk. Perbedaan tidak bermakna

didapatkan pula bila konsentrasi 75% dibandingkan dengan 100% ( $p=0,168$ ).

Zona inhibisi pada *Escherichia coli* tidak terbentuk dapat diakibatkan faktor-faktor berikut. Hugo & Russell (1983) melaporkan bahwa bakteri gram negatif bersifat lebih resisten terhadap antibiotik<sup>10</sup>. Soetan (2003) mengemukakan bahwa kapsul bakteri gram negatif memiliki efek protektif maka zat aktif sulit penetrasi melalui membran sel mikroba<sup>11</sup>. Tschesche & Wulff (1973) melaporkan bahwa efek antibakteri saponin pada umumnya lemah<sup>12</sup>. Sulistia (1995) melaporkan bahwa permeabilitas dinding sel

mikroba yang rendah, adanya pembentukan biofilm, kegagalan antimikroba penetrasi masuk ke dalam sel mikroba dan rendahnya afinitas obat pada ribosom dapat menyebabkan tidak terbentuknya zona inhibisi<sup>13</sup>. Syukrinawati (2014) melaporkan bahwa zona inhibisi tidak terbentuk karena zat aktif tidak dapat mencapai tempat kerjanya di dalam sel mikroba. Pada bakteri gram negatif, molekul zat aktif/antibiotik yang kecil dan polar dapat menembus dinding luar dan masuk ke dalam sel melalui lubang-lubang kecil yaitu porin. Bila porin mehilang atau mengalami mutasi maka masuknya zat aktif ini akan terhambat. Mekanisme lain ialah bakteri mengurangi mekanisme transpor aktif yang berperan dalam masuknya zat aktif ke dalam sel mikroba. Mikroba juga memiliki mekanisme pertahanan melalui aktivasi pompa efluks untuk mengeluarkan zat antimikroba dari dalam sel mikroba. Faktor lain adalah inaktivasi obat karena mikroba mampu membuat enzim yang merusak zat aktif tersebut, mikroba mengubah *binding site* zat aktif sehingga afinitasnya menurun<sup>14</sup>. Todar (2008) mengemukakan bahwa salah satu mekanisme resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotika melalui plasmid yaitu dengan memindahkan gen resistensi melalui *horizontal gene transfer* (HGT), umumnya secara transduksi dan konjugasi<sup>15</sup>.

Sudarsono dkk (2002) mengemukakan bahwa terdapat zat-zat aktif dalam ekstrak etanol daun salam yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba antara lain minyak atsiri (*essential oil*), tanin, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Minyak atsiri dapat mendenaturasi protein dinding sel mikroba. Eugenol dapat menetralkan racun. Penelitian Alexander O. Gill dan Richard A. Holley (2004) mendapatkan bahwa eugenol dapat menghambat peningkatan ATP intraseluler. Eugenol juga memiliki sifat bakterisidal dengan menghancurkan dinding sel mikroba melalui penghambatan gradien proton atau enzim F1F0 ATP-ase. Hal tersebut didukung penelitian Rico-Munoz yang mendapatkan bahwa komponen fenolik butilhidrokuinin tersier dan *propyl gallate* dalam eugenol dapat mengurangi aktivitas ATP-ase pada membran sel bakteri<sup>16</sup>. Robinson (1995) mengemukakan bahwa mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menurunkan tegangan permukaan

dinding sel akibatnya permeabilitas dinding sel meningkat dan terjadi kebocoran sel diikuti keluarnya senyawa intraseluler<sup>17</sup>. *African Journal of Biotechnology* (2006) melaporkan bahwa “saponin mempunyai efek inhibisi pada bakteri Gram positif tetapi tidak pada bakteri Gram negatif dan fungi”. Penelitian tersebut mendukung dengan hasil penelitian ini, yaitu ekstrak etanol daun salam yang mengandung saponin mampu membentuk zona inhibisi sebagai indikator adanya penghambatan pertumbuhan bakteri Gram positif *Bacillus subtilis*, tetapi tidak terhadap bakteri Gram negatif *E. coli*<sup>18</sup>.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Supraptini S. 2002. *Kejadian Foodborne illness dan Penyebabnya di Indonesia 1995-2000*. Litbang Depkes.
2. Tan I. 2013. *Evaluasi Praktek Penyajian Beef Teriyaki Siap Saji pada Restoran Swalayan di Semarang: Aspek Sanitasi dan Mikrobiologi*. Unika Soegijapranata.
3. Djaja IM. 2008. *Kontaminasi E. coli Pada Makanan dari Tiga Jenis Tempat Pengolahan Makanan (TPM) di Jakarta Selatan 2003*. Makara Kesehatan.
4. Foodsafety.gov. 2014. *Foodsafety.gov*. Retrieved October 9, 2014, from Foodsafety.gov: <http://www.foodsafety.gov/>
5. Cambridge. 2014. *Bacillus Food Poisoning*. Cambridge City Council.
6. Utami P., & Puspaningtyas DE. 2013. *The Miracle of Herbs*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
7. Malik A., & Ahmad AR. 2013. *Antidiarrheal Activity of Etanolic Extract of Bay Leaves (Syzygium Polyanthum [Wight.] Walp.)*. International Research Journal of Pharmacy, 107.
8. Sudarsono. 2002. *Tumbuhan Obat II : Hasil Penelitian, Sifat-sifat, dan Penggunaan*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM.
9. Dalimartha S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid III*. Jakarta: Puspa Swara.
10. Hugo W., & Russell A. 1983. *Pharmaceutical Microbiology*. Hugo WB, Russell A.D (eds) 3rd edition

Blackwell Scientific Publications, 33-35, 51.

11. Soetan K. 2003. *Evaluation of some pharmaceutical and haematological activities of saponins in guinea corn (Sorghum bicolor L Moench)* M.Sc Dissertation.
12. Tschesche R., & Wulff G. 1973. *Chemistry and Biology of Saponins*. Fortschr. Chem.Org. Naturist.
13. Sulistia G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
14. Syukrinawati R. 2014. *Resistensi*. Repository USU.
15. Todar K. 2008. *Todar's online textbook of bacteriology*. Retrieved October 2014, from <http://textbookofbacteriology.net>
16. Gill AO., & Holley RA. 2004. *Mechanisms of Bactericidal Action of Cinnamaldehyde against Listeria monocytogenes and of Eugenol against L. monocytogenes and Lactobacillus sakei*. NCBI.
17. Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
18. Soetan KO. 2006. *Evaluation of the Antimicrobial Activity of Saponins Extract of Sorghum Bicolor L. Moench*. African Journal of Biotechnology.