

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Salam

1. Deskripsi dan klasifikasi salam

Syzygium polyanthum atau yang dikenal dengan sebutan salam atau mantingan dalam bahasa jawa merupakan pohon yang berperawakan kecil hingga besar yang pada umumnya ditanam di pekarangan atau halaman rumah (Mudiana & Esti 2011).



Gambar 1. Tanaman *Syzygium polyanthum*

Klasifikasi tanaman *Syzygium polyanthum* menurut (Wulandari 2006) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Spesies	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.

Salam adalah nama pohon penghasil daun rempah yang digunakan dalam masakan Nusantara. Salam dalam bahasa Inggris dikenal sebagai *Indonesian bay leaf* atau *Indonesian laurel*, sedangkan ilmiahnya *Syzygium polyanthum*. Daun salam menghasilkan aroma yang khas ketika diremas. Pohon ini ditemukan tumbuh liar di hutan-hutan daerah pegunungan dengan ketinggian 1800 m atau di pekarangan rumah (Musani *et al.* 2008).

Syzygium polyanthum berhabitus pohon yang berukuran sedang, tinggi dapat mencapai 30 m. Kulit batang berwarna abu-abu, memecah atau bersisik. Daun tunggal terletak berhadapan, dengan tangkai hingga 12 mm, helai daun berbentuk jorong-lonjong, jorong sempit atau lanset, berukuran 5-16 x 2,5-7 cm, berbintik kelenjar minyak yang sangat halus. Karangan bunga berupa malai dengan banyak kuntum bunga, berukuran 2-8 cm, muncul di bawah daun atau kadang-kadang di bawah ketiak. Bunga kecil-kecil, berbau harum, kelopak seperti mangkuk, panjangnya sekitar 4 mm, mahkota lepas-lepas, putih, berukuran 2,5-3,5 mm, berwarna jingga kekuningan. Buah buni membulat atau agak tertekan, berukuran 12 mm, bermahkota keping kelopak, berwarna merah sampai ungu kehitaman apabila masak (ICRAF 2008).

2. Nama lain salam

Tanaman salam secara ilmiah mempunyai nama Latin *Eugenia polyantha* Wight dan memiliki nama ilmiah lain, yaitu *Syzygium polyantha* Wight. dan *Eugenia lucidula* Miq. Tanaman ini termasuk suku Myrtaceae. Di beberapa daerah Indonesia, daun salam dikenal sebagai salam (Jawa, Madura, Sunda); gowok (Sunda); kastolam (kangean, Sumenep); manting (Jawa), dan meselengan (Sumatera). Nama yang sering digunakan dari salam, di antaranya ubar serai, (Malaysia); *Indonesian bay leaf*, *Indonesian laurel*, *Indian bay leaf* (Inggris); *Salamblatt* (Jerman) (Dalimartha 2005).

3. Kandungan kimia

Tanaman salam *Syzygium polyanthum* biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai rempah pelengkap bumbu dapur juga memiliki khasiat sebagai obat. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) mengandung alkaloid,

flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut diduga memiliki sifat antibakteri (Sari *et al.* 2010).

Kandungan minyak esensial daun salam, sebesar 90,05% yang terdiri dari sitral, eugenol, tanin, fenol sederhana, dan senyawa flavonoid. Rasanya agak kaku dan aromatik (Musarif *et al.* 2008). Kandungan kimianya antara lain saponin, triterpen, polifenol, sesquiterpen, dan lakton (Utami 2008). Daun salam diketahui mengandung vitamin A, vitamin C, dan vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan (Riansari 2008).

Sebagian besar komponen minyak atsiri terdiri dari senyawa terpenoid. Oleh karena itu minyak atsiri termasuk ke dalam golongan *terpenoid*. Sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C-5 yang disebut unit isoprene (Lenny 2006). Minyak atsiri yang terkandung dalam salam secara umum berfungsi sebagai antimikroba mekanisme toksisitas senyawa *sesquiterpen* yang terdapat dalam minyak atsiri terhadap mikroorganisme kemungkinan terlibat dalam kerusakan membran sel mikroba oleh senyawa lipofilik (Murtini 2006).

Tanin merupakan senyawa inti berupa glukosa yang dikelilingi oleh lima gugus ester galoil atau lebih dengan inti molekulnya berupa senyawa dimer asam galat, yaitu asam heksahidroksidifenat yang berikatan dengan glukosa (Harborne 2006). Tanin merupakan senyawa aktif yang memiliki aktifitas antibakteri. Mekanisme kerja dari senyawa ini adalah menghambat aktivitas beberapa enzim untuk menghambat rantai ligan di beberapa reseptor (Sumono & Wulan 2008).

Mekanisme kerja tanin sebagai antimikroba berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin memiliki sasaran terhadap polipeptida dinding sel yang menyebabkan kerusakan pada dinding sel (Sari & Sari 2011). Tanin, dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan pada konsentrasi tinggi, tanin bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma kuman, sehingga terbentuk ikatan yang stabil dengan protein kuman dan pada saluran pencernaan, tanin juga diketahui mampu mengugurkan toksin

(Pratiwi 2010). Menurut (Sumono 2009), kerusakan dan peningkatan permeabilitas sel bakteri menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan akhirnya dapat menyebabkan kematian sel.

Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena flavonoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Akhirnya terjadi kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri membran dan membran tidak berfungsi sebagaimana mestinya, termasuk untuk melakukan perlekatan dengan substrat (Santosaningsih 2011). Hasil interaksi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom (Sabir 2003). Ion hidroksil secara kimia menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi sehingga menimbulkan efek toksik terhadap sel bakteri (Sumono & Wulan 2009).

4. Manfaat daun salam

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) digunakan terutama sebagai rempah penyedap masakan di sejumlah negara di Asia Tenggara, baik untuk masakan sayur, daging, ikan, maupun nasi. Daun ini dicampurkan secara utuh, kering ataupun segar, dan ikut dimasak hingga makanan tersebut matang. Daun salam dari segi kesehatan efektif menurunkan kadar gula darah, menurunkan tekanan darah, menurunkan kadar kolesterol darah, menurunkan kadar asam urat, mengobati sakit maag (gastritis), gatal-gatal (pruritis), kudis (scabies) dan eksim. Selain daunnya, tanaman salam memiliki bagian lain yang juga berpotensi sebagai obat alam. Kulit batang atau kulit pohon dan buah salam juga bisa digunakan sebagai obat antidiare. Buah salam memiliki kelebihan lain diantaranya bisa menetralkan efek mabuk karena mengkonsumsi alkohol terlalu banyak (Enda 2009).

Salah satu manfaat daun salam (*Syzygium polyanthum*) adalah sebagai tanaman obat potensial di Indonesia. Akhir-akhir ini orang menggunakan daun salam untuk mengobati kencing manis (*diabetes mellitus*), tekanan darah tinggi (*hipertensi*), sakit maag (*gastritis*), diare dan asam urat (Utami 2008). Daun salam (*S. polyanthum*) mengandung minyak atsiri (*sitral dan eugenol*) tanin dan

flavonid. Komponen fenolik yang terdapat dalam tumbuhan memiliki kemampuan mereduksi yang berperan penting dalam menyerap dan menetralkan radikal bebas dan dekomposisi peroksid (Indrayana 2008).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Simplisia kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia dibagi menjadi 3 macam, yaitu: simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia mineral. Nama latin simplisia ditetapkan dengan menyebut nama marga (genus), nama jenis (spesies), dan jika memungkinkan petunjuk jenis (varietas) diikuti dengan bagian yang digunakan (DepKes RI 2008).

2. Pengeringan

Pengeringan simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Penurunan mutu atau kerusakan simplisia akan dicegah dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan alat pengering. Saat pengeringan yang diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan, sehingga simplisia tidak mudah rusak dan kandungan kimia yang berkhasiat tidak berubah karena proses fermentasi (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Tahapan pembuatan simplisia

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Tahapan itu dimulai dari pengumpulan bahan baku untuk menentukan kualitas bahan baku. Langkah selanjutnya sortasi basah yaitu pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Lalu dilakukan pencucian yang berguna untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar pestisida. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa

menguraikan lebih lanjut kandungan aktif, kemudian sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan, disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan (DepKes2007).

C. Penyarian

1. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DepKes RI 2000).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Kelarutan dan stabilitas senyawa pada simplisia terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat dan derajat keasaman dipengaruhi oleh struktur kimia yang berbeda-beda (DepKes RI 2000). Simplisia yang lunak seperti rimpang, akar, dan daun mudah diserap oleh pelarut, sehingga pada proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai halus. Sedangkan simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu, kulit akar susah diserap oleh pelarut, karena itu perlu diserbuk sampai halus, selain sifat fisik dan senyawa aktif dari simplisia, senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia seperti protein, karbohidrat, lemak dan gula juga harus diperhatikan (DepKes RI 2002).

Tujuan utama ekstraksi adalah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan dari zat-zat tidak berguna, supaya lebih mudah digunakan dan disimpan dibandingkan simplisia asal dan tujuan pengobatannya lebih terjamin (Syamsuni 2007).

3. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakkan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur

ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (DepKes RI 2000).

Maserasi berasal dari bahasa lain *Maserace* berarti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Proses ekstraksi dihentikan ketika keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

4. Fraksinasi

Fraksinasi diperlukan karena ekstrak etanol sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Fraksinasi adalah cara untuk pemisahan golongan utama, kandungan yang dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya, jumlah dan jenis senyawanya yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, pelarut semi polar akan masuk ke pelarut semi polar, begitu pula senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Tiwari *et al.* 2011).

5. Pelarut

Pemilihan pelarut yang tepat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Akbar 2010).

Etanol di pilih sebagai cairan penyari karena lebih selektif, kuman sulit tumbuh dalam etanol pada konsentrasi di atas 20%, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan, dan

panas yang digunakan untuk pemekatan lebih kecil. Etanol lebih mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Dapat juga menggunakan methanol, tetapi methanol lebih polar dibandingkan etanol, karena sifat methanol lebih sitotoksik, hal ini tidak cocok untuk beberapa penelitian karena mengakibatkan salah hasil (Tiwari *et al.* 2011).

n-heksan adalah hasil penyulingan minyak tanah yang lebih bersih, terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna bersifat mudah terbakar, baunya khas, tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzene, kloroform, dan eter. Senyawa yang dapat larut dalam *n*-heksan yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti terpenoid, sisterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Tiwari *et al.* 2011).

Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah menguap dan mudah terbakar, sehingga penyimpanannya dalam wadah tertutup dan terlindung dari panas. Etil asetat merupakan cairan jernih tidak berwarna, bau khas, larut dalam 15 bagian air bercampur dengan eter dan etanol. Senyawa yang dapat larut adalah flavonoid, alkaloid, dan senyawa-senyawa fenolik (Harbone 1987).

Air adalah pelarut serba guna. Kemampuan air dalam melarutkan zat tersimpan dalam polaritas yang dimiliki oleh air. Air dapat melarutkan zat-zat yang bersifat ionik dan polar saja. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan, karena zat aktif ikut tersari sehingga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Tiwari *et al.* 2011).

D. Bakteri

1. Deskripsi dan klasifikasi bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah, dan air. Bakteri ini merupakan flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia (Jawetz *et al.* 2012).



Gambar 2. *E. coli* pada media LA, inkubasi 37°C selama 24 jam (Hedetniemi & Liao 2006).

Menurut Juliantina *et al.*(2008) *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom : Prokaryota
- Divisio : Gracilicutes
- Class : Scotobacteria
- Ordo : Eubacteriales
- Family : Enterobacteriaceae
- Genus : *Escherichia*
- Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, motil aktif dan tidak membentuk spora. Pemiakkan *E. coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C. *E. coli* mempunyai beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antibodi terhadap antigen O adalah Ig M. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak di kapsul (Juliantina *et al.* 2008).

Escherichia coli merupakan bakteri dari anggota familia Enterobacteriaceae. Ukuran sel dengan panjang 2,0 – 6,0 µm dan lebar 1,1 – 1,5 µm. Bentuk sel dari bentuk seperti coocal dan tidak ditemukan spora. Selnya bisa berbentuk tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. *Escherichia coli* biasanya tumbuh secara bergerombol serta dapat

tumbuh pada berbagai kondisi. *Escherichia coli* hidup di dalam saluran pencernaan manusia dan hewan sebagai flora normal. *Escherichia coli* seperti gram negatif lainnya dapat mensintesis semua asam amino yang dibutuhkan (Jawetz *et al.* 2012).

Escherichia coli tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana. Laktosa difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas, ada pula yang tidak memfermentasi glukosa dan maltosa. Dapat ditemukan dalam usus mamalia dan tumbuh optimal pada suhu 37° C (Pelczar 2008: 949).

2. Toksin *Escherichia coli*

Escherichia coli menghasilkan enterotoksin yang disebut *Enterotoksigenik Escherichia coli* (ETEC). ETEC tidak tahan terhadap pemanasan yang dapat menyebabkan meningkatkan sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus. Sekresi tersebut mengakibatkan diare ringan pada anak – anak dan mempunyai kemampuan untuk memasuki epitel usus yang disebut *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC) (Jawetz *et al.* 2012).

3. Patogenesis

Escherichia coli bersifat komersial dan masuk dalam salah satu bakteri indikator sanitasi. Infeksi bakteri tersebut diduga merupakan faktor utama penyebab malnutrisi pada bayi dan anak-anak di Negara berkembang. *E. coli* patogenik banyak mencemari daging sapi, susu, air tanpa proses, buah dan sayuran mentah (Kusumaningsih 2010). Pada tahun 1982 pertama kali dilaporkan terjadinya wabah diare berdarah yang disebabkan oleh *E. coli* pada 20.000 orang dengan kematian sebanyak 250 orang, akibat mengkonsumsi hamburger setengah matang dari restoran cepat saji di Amerika Serikat. Gejala umum infeksi *E. coli* diantaranya diare berdarah, mual muntah, nyeri abdomen, dan kram perut. Infeksi *E. coli* pada bayi, anak-anak, lanjut usia, pada seseorang dengan sistem kekebalan tubuh yang rendah (penderita HIV/AIDS), dapat menimbulkan komplikasi yang menyebabkan kematian (Kusumaningsih 2010).

4. Pengobatan diare

Infeksi oleh *Escherichia coli* dapat diobati menggunakan antibiotik seperti ciprofloxacin, cotrimoxazole, metronidazole, injeksi gentamicine, dan amoxicillin.

Obat lain yang dapat digunakan adalah probiotik, untuk penyembuhan diare akut (Korompis *et al.* 2013).

E. Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteristatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.* 2005).

Antibiotik adalah suatu metabolit yang diperoleh atau dibentuk oleh berbagai jenis mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Antibiotik memegang peranan penting dalam mengontrol populasi mikroba di dalam tanah, air, limbah, dan lingkungan (Radji 2010).

1. Mekanisme antibakteri

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri dibagi menjadi lima kelompok yaitu menghambat metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein sel mikroba, merusak asam nukleat sel mikroba (Ganiswara 2005).

1.1 Menghambat metabolisme sel mikroba. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Asam Para Amino Benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikuti sertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Gunawan *et al.* 2009).

1.2 Menghambat sintesis dinding sel mikroba. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Gunawan *et al.* 2009).

1.3 Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba. Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Gunawan *et al.* 2009).

1.4 Menghambat sintesis protein sel mikroba. Mikroba perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Salah satu mekanisme kerja antimikroba yaitu dengan cara antimikroba berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca tRNA pada waktu sintesis protein yang mengakibatkan terbentuknya protein abnormal dan non fungsional bagi sel mikroba. Contoh antibakteri yang bekerja menghambat sintesis protein sel mikroba adalah streptomisin, gentamisin, kanamisin, eritromisin, linomisin, dan kloramfenikol (Ganiswara 2005).

1.5 Merusak asam nukleat sel mikroba. Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja ini biasanya bersifat sitotoksik dan hanya digunakan sebagai obat antikanker tetapi dapat juga digunakan sebagai antivirus. Antibakteri yang bekerja merusak asam nukleat sel mikroba contohnya rifampisin, dan golongan quinolon (Ganiswara 2005).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilusi.

1. Metode difusi

Metode difusi digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang berbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007) metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode cakram kertas/*disc diffusion*, metode lubang/sumur, dan metode silinder. Metode *disc diffusion* dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan mikroba oleh suatu senyawa antimikroba dalam ekstrak. Metode sumur yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi mikroba (Hermawan *et al.* 2007). Metode difusi agar dipengaruhi beberapa faktor yaitu ketebalan medium agar, komposisi media agar, jumlah inokulum, suhu inkubasi, waktu inkubasi dan pH (Rostinawati 2009). Keuntungan metode difusi adalah lebih murah, cepat, tidak membutuhkan alat dan bahan yang banyak, sehingga efektif sebagai pembanding. Kelemahan metode difusi adalah tidak dapat menentukan apakah suatu obat (agen kemoterapi) sebagai bakterisidal dan bukan hanya bakteriostatik (Jawetz *et al.* 1986).

2. Metode dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut dilanjutkan dikultur ulang pada media cair tanpa penanaman mikroba uji ataupun agen mikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi 2008). Keuntungan metode ini yaitu konsentrasi agen mikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi 2008). Kekurangan metode ini adalah hanya dapat digunakan untuk mengisolasi organisme yang dominan dalam suatu populasi campuran (Jawetz *et al.* 2012).

G. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri dan memiliki frekuensi terjadinya retensi yang lebih rendah daripada masing-masing obat. Kotrimoksazol merupakan antibiotik yang mengandung kombinasi sulfametoksazol dan trimetrophrim (Ganiswara 2005).

Trimethoprim dan sulfametoksazol bekerja dengan menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba. Spektrum antibakteri trimethoprim sama dengan sulfametoksazol meskipun daya antibakterinya 20-100 kali lebih kuat daripada sulfametoksazol. *E. coli* merupakan salah satu mikroba yang peka terhadap kotrimoksazol. Mekanisme antibakteri kotrimoksazol kerjanya berdasar atas dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat (Ganiswara 2005).

Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam asam folat dan trimethoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C seperti pembentukan purin dan beberapa asam amino. Trimethoprim menghambat enzim dihidrofolat reduktase mikroba secara selektif. Kombinasi ini mungkin efektif walaupun mikroba telah resisten terhadap trimethoprim. Frekuensi terjadinya resisten terhadap kotrimoksazol lebih rendah daripada masing-masing obat, karena mikroba yang resisten terhadap salah satu komponen lebih peka terhadap komponen yang lainnya. Sinergisme maksimum akan terjadi bila mikroba peka terhadap komponen (Ganiswara 2005).

Menurut WHO, pilihan utama untuk farmakoterapi infeksi bakteri *E. coli* pada manusia adalah kotrimoksazol. Uji yang dilakukan tentang pengaruh kotrimoksazol terhadap pertumbuhan *E.coli* dapat dilihat rata-rata zona hambat yang terjadi adalah 22,8 mm, artinya secara kualitatif daya hambat yang dihasilkan sangat kuat karena lebih dari 20 mm (Billy *et al.* 2015).

H. Landasan Teori

Tanaman salam merupakan tanaman berkayu yang biasanya dimanfaatkan daunnya. Daun salam sudah dikenal sejak lama sebagai bumbu masakan, dalam

perkembangannya di bidang medis. Daun salam dapat dimanfaatkan sebagai ramuan obat tradisional. Daun salam memiliki khasiat pengobatan yang luar biasa yang biasanya digunakan untuk terapi hipertensi, diabetes melitus, asam urat, diare, maag, katarak, mabuk akibat alkohol, sakit gigi, kudis dan gatal-gatal karena memiliki banyak sifat kimia yang berguna dalam bidang medis (Winarto 2004).

Kandungan kimia daun salam *Syzygium polyanthum* adalah minyak atsiri 0.05% (sitral dan eugenol), tanin, dan flavonoid. Minyak atsiri daun salam terdiri dari fenol sederhana, asam fenolat, sekuisterfenoid dan lakton (Murtini 2006: 1). Komponen zat aktif pada daun salam yaitu minyak atsiri, tanin, flavonoid dapat bersifat bakterisidal, bakteriostatik, fungisidal, fungistatik, dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri) (Suharti *et al.* 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Agus Evendi pada tahun 2017 merupakan penelitian kuantitatif metode eksperimen. Hipotesis penelitian ini adalah terdapat daya antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. Hasil penelitian menunjukkan adanya senyawa aktif ekstrak daun salam (*S. polyanthum*) yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Senyawa tersebut memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Rata-rata pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 25 µg/well sebesar 11.33 mm, 50 µg/well sebesar 10.44 mm, 100 µg/well sebesar 11.33 mm, 200 µg/well sebesar 12.11 mm, dan 400 µg/well sebesar 12.00 mm. Respon penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* oleh ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) termasuk dalam kategori kuat.

Penelitian yang dilakukan Mega Yuliawati pada tahun 2012 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Penghambatan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan hasil KLT-Bioautografi yang menunjukkan bahwa bercak pada Rf 0,78 dan 0,49 memberikan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Hasil uji skrining aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan tidak memiliki hambatan atau memiliki hambatan yang kecil terhadap pertumbuhan mikroba uji, ini dapat disebabkan karena kandungan senyawa kimia

dalam ekstrak *n*-heksan yang bersifat non polar tidak mempunyai aktivitas sebagai antimikroba. Ekstrak etanol memiliki hambatan pertumbuhan mikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi* dan jamur *Candida albicans*.

Penelitian yang dilakukan oleh Nur Aini dkk pada tahun 2015 menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak total daun merah *Syzygium myrtifolium* Walp. adalah golongan alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, fenolik dan flavonoid. Fraksi *n*-heksan mengandung senyawa golongan alkaloid, triterpenoid dan steroid, fraksi etil asetat mengandung senyawa golongan alkaloid, triterpenoid, steroid, fenolik dan flavonoid sedangkan fraksi etanol-air mengandung senyawa golongan triterpenoid, saponin dan fenolik. Secara umum genus *Syzygium* senyawa mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin dan terpenoid yang digunakan di dalam dunia pengobatan antara lain untuk antiradang, penahan rasa sakit dan antijamur. Fraksi etil asetat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi minimum 0,5% dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar 7,63 mm dan 7,60 mm (Gafur *et al.* 2011).

Berdasarkan zat aktif yang terkandung dalam daun salam, maka pelarut yang digunakan adalah etanol 70%, karena etanol merupakan pelarut yang baik untuk ekstraksi pendahuluan agar diperoleh hasil yang bagus. Penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dan air. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena etanol merupakan larutan penyari yang mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, selektif terhadap kapang dan kuman beracun, bereaksi netral, absorpsinya baik, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, tidak mudah terbakar, panas yang dibutuhkan untuk pemekatan lebih sedikit, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan. Etanol dapat melarutkan senyawa yang memiliki berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid (Arifianti *et al.* 2014).

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi. Metode difusi dilakukan dengan

menggunakan kertas cakram (*disk*). Hasil daya uji antibakteri didasarkan pada pengukuran Diameter Daerah Hambat (DDH) pertumbuhan bakteri yang terbentuk disekeliling kertas cakram, keuntungan metode difusi adalah ekonomis, sederhana (mudah dibuat), dan reproduksibel (Jawetz *et al.* 2005)

I. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori di atas, dapat ditarik hipotesis sebagai berikut:

Pertama, ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun salam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Kedua, fraksi etil asetat ekstrak daun salam merupakan fraksi yang paling aktif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Ketiga, dapat menentukan nilai KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak daun salam terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922