

BAB 1

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis memiliki beraneka ragam jenis tanaman yang dapat menunjang kehidupan masyarakat, salah satunya adalah sebagai bahan untuk pengobatan. Salah satu dari berbagai jenis tanaman berkhasiat yang dapat dipergunakan sebagai obat adalah tanaman salam.

Salam (*Eugenia polyantha* Wight.) merupakan tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bumbu masakan dan telah berkembang sebagai bahan berkhasiat dalam pengobatan. Daun salam memiliki kandungan kimia minyak atsiri yang terdiri dari sitral dan eugenol, tanin, dan flavonoid (Depkes, 1980). Senyawa eugenol termasuk dalam golongan turunan senyawa fenol, yang mempunyai efek antiseptik, antelmintik, anestetik, keratolitik, kaustik (rasa terbakar) dan dapat bekerja mengendapkan protein sel bakteri (Soekardjo dan Sondakh, 2008). Selain itu, daun salam memiliki beberapa manfaat dalam pengobatan seperti diare, diabetes, sakit maag, kudis atau gatal, serta hipertensi dan kolesterol (Dalimartha, 2005; Latief, 2012).

Pada penelitian sebelumnya, dibuktikan kandungan flavonoid dari daun salam dapat mempengaruhi kemampuan membunuh dari makrofag pada hepar mencit yang diinjeksi *Salmonella typhimurium* bila dibandingkan dengan kandungan polifenol yang termasuk golongan flavonoid dalam daun teh. Hasil dari penelitian menunjukkan jumlah rata – rata koloni *Salmonella typhimurium* dari mencit yang diberi daun salam, lebih kecil jumlahnya dibandingkan dengan kontrol positif (diinjeksi dengan bakteri saja) maupun dengan pembanding daun teh sehingga disimpulkan bahwa daun salam mampu meningkatkan kemampuan makrofag pada hepar

mencit dalam menurunkan jumlah rerata koloni *Salmonella typhimurium* (Murtini, 2006).

Ekstrak metanol daun salam juga terbukti mampu menghambat pertumbuhan vegetatif *Fusarium oxysporum* dengan persentase penghambatan tertinggi sebesar 57,16 % pada konsentrasi 5 %. Selain itu ekstrak metanol daun salam mampu menghambat perkecambahan konidia *Fusarium oxysporum* dengan persentase penghambatan sebesar 84,67 % pada konsentrasi 3 %, pada jam ke-4 setelah inkubasi (Noveriza dan Miftakhurohmah, 2010). Begitu juga dalam penelitian yang dilakukan oleh Beni Warman dkk, membuktikan daya antibakteri (metode cakram) ekstrak etanol daun salam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, dan *Salmonella sp.*, tetapi resisten terhadap *Enterobacter sp.* (Warman, 1990). Maryati dkk menyatakan bahwa ekstrak daun salam memiliki efek hipoglikemik (menurunkan kadar gula darah) pada tikus penderita diabetes melitus yang tidak tergantung pada insulin, sedangkan pada tikus penderita diabetes melitus yang tergantung insulin tidak nampak adanya efek hipoglikemik (Maryati, 1989).

Berdasarkan hasil penelitian di atas, dapat diasumsikan bahwa tanaman daun salam memiliki berbagai khasiat dan salah satunya sebagai antibakteri. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penggunaan ekstrak kasar daun salam untuk selanjutnya dilakukan proses fraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair untuk mengetahui fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri. Sistem pelarut yang digunakan adalah pelarut yang mewakili sifat non polar, semipolar dan polar, yaitu n-heksan, etil asetat dan air. Proses fraksinasi ini bertujuan untuk menentukan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling baik. Untuk uji daya antibakteri pada penelitian ini digunakan dua bakteri mewakili golongan bakteri Gram

positif dan Gram negatif yang merupakan anggota flora normal manusia, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Bakteri *S. aureus* merupakan salah satu anggota flora normal pada kulit manusia serta merupakan golongan bakteri Gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Bakteri *S. aureus* aktif melakukan metabolisme dan melakukan fermentasi karbohidrat. Bakteri ini memiliki kemampuan patogenik yang berasal dari pengaruh gabungan antara faktor ekstraseluler dan toksin disertai sifat daya sebar invasif. *S. aureus* yang patogenik dan bersifat invasif menghasilkan koagulase kemudian cenderung untuk menghasilkan pigmen kuning dan akhirnya memiliki aktivitas hemolitik. Infeksi oleh bakteri *S. aureus* salah satunya berasal dari kontaminasi langsung pada luka, misalnya pasca operasi infeksi stafilokokus atau infeksi yang menyertai trauma (osteomielitis kronik setelah patah tulang terbuka, meningitis yang menyertai patah tulang tengkorak) (Jawetz *et al.*, 2005). Hal ini apabila dikaitkan pada luka yang terjadi pada penderita diabetes yang pada umumnya disebut *diabetic gangren* dan merupakan luka gangren basah dapat berakibat terjadinya infeksi. Gangren sendiri merupakan kondisi kematian atau kerusakan dari jaringan menyerang dari permukaan kulit hingga jaringan di bawahnya (Manzella, 2008).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri golongan Gram negatif, motil, aerobik, dan beberapa galur memproduksi pigmen larut air. Bakteri *P. aeruginosa* ada dalam jumlah sedikit pada flora normal usus dan kulit manusia dan merupakan patogen utama dari kelompok pseudomonas. Bakteri *P. aeruginosa* menjadi patogen apabila berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya selaput lendir dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan, jika menggunakan kateter pembuluh darah atau saluran kencing, atau pada neutropenia, seperti kemoterapi kanker.

Selain dari penelitian terhadap daya antibakteri juga dilakukan pengamatan terhadap kemampuan daya antikuorum sensing paling aktif dari beberapa fraksi yang ada. Kuorum sensing merupakan mekanisme komunikasi interseluler aktif berbagai spesies bakteri (Popham dan Stevens, 2006). Dalam kaitannya dengan uji antikuorum sensing, bakteri *P. aeruginosa* memiliki senyawa yang memediasi aktivitas kuorum sensing, yaitu *N*-asil homoserin lakton (AHL) (Hentzer *et al.*, 2002). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki salah satu sifat sebagai parameter pengamatan yaitu pigmen yang berfluoresensi. Pigmen yang berfluoresensi ini merupakan penanda adanya aktivitas komunikasi bakteri sehingga dapat menimbulkan patogenitas dari bakteri. Selain itu *P. aeruginosa* memiliki 2 sistem aktivator transkripsi protein dalam aktivitas kuorum sensing, yaitu *las* dan *rhl* (Pesci *et al.*, 1997). Selain pengamatan pigmen berfluoresensi, pengamatan juga dilakukan berdasarkan motilitas dari bakteri *P. aeruginosa*. Motilitas merupakan kemampuan daya sebar bakteri *P. aeruginosa* akibat adanya sistem kuorum sensing *las* dan *rhl*. Kedua sistem kuorum sensing ini mempengaruhi aktivitas motil dari bakteri pada produksi 4 tipe filia yang menjadi sistem alat gerak dari bakteri (Glessner *et al.*, 1999).

Aktivitas kuorum sensing pada penelitian lain yang dilakukan pada bakteri *Vibrio fischeri* menunjukkan bahwa aktivitas kuorum sensing mengontrol terjadinya bioluminasi atau kemampuan bakteri dalam menghasilkan pigmen berwarna yang berfluoresensi (Popham dan Stevens, 2006). Selain itu aktivitas kuorum sensing yang berhubungan dengan pembentukan pigmen juga ditemukan dalam penelitian terhadap bakteri *Chromobacterium violaceum*. bakteri *Chromobacterium violaceum* mampu menginduksi bioluminasi, yang menunjukkan adanya senyawa AHL (*N*-acyl homoserine lactone) (McClellan *et al.*, 1997).

Pada penelitian sebelumnya mengenai metode uji aktivitas kuorum sensing, selain dilakukan pengamatan secara visual berdasarkan pigmentasi dari bakteri yang dihambat, juga dilakukan dengan uji motilitas pada ekstrak cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan 3 jenis pelarut yaitu heksana, kloroform dan metanol, terhadap bakteri *P.aeruginosa*. Parameter yang digunakan yaitu dengan mengamati motilitas atau daya sebar pertumbuhan koloni dari bakteri. Dari hasil percobaan didapat bahwa ekstrak yang menggunakan pelarut metanol memiliki kemampuan menghambat daya sebar pertumbuhan koloni bakteri paling baik dibanding 2 jenis pelarut lain dan pembanding DMSO. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas anti kuorum sensing dapat tertarik oleh pelarut metanol yang bersifat polar (Krishnan *et al.*, 2012). Pada penelitian kali ini dilakukan uji antikuorum sensing terhadap *P. aeruginosa* dengan menggunakan fraksi dari ekstrak etanol daun salam guna menghambat sistem komunikasi interseluler aktif sehingga diharapkan dapat mencegah patogenitas dan pertumbuhan bakteri secara maksimal.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas daya antibakteri terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa* serta daya antikuorum sensing terhadap *P. aeruginosa* dari fraksi n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan air (polar) dari tanaman daun salam. Parameter yang menjadi batasan adalah hasil diameter hambat minimum (DHP), kadar hambat minimum (KHM), dan kadar bunuh minimum (KBM). Ketiganya menjadi parameter uji daya aktivitas antibakteri, sedangkan untuk parameter uji daya antikuorum sensing diamati pada tidak adanya pigmen yang berfluoresensi yang dihasilkan bakteri sehingga dianggap tidak terjadi suatu sistem komunikasi interseluler pada bakteri.

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah fraksi apa yang aktif dari ekstrak daun salam sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *P.*

aeruginosa, berapa kadar hambat minimum fraksi aktif dari ekstrak daun salam terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, berapa kadar bunuh minimum fraksi aktif dari ekstrak daun salam terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, berapa konsentrasi fraksi aktif dari ekstrak daun salam yang berpotensi sebagai antikuorum sensing terhadap *P. aeruginosa*.

Hipotesis dari penelitian ini adalah diperoleh fraksi aktif dari ekstrak daun salam sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, diperoleh kadar hambat minimum fraksi aktif dari ekstrak daun salam terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, diperoleh kadar bunuh minimum fraksi aktif dari ekstrak daun salam terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* serta diperoleh konsentrasi fraksi aktif dari ekstrak daun salam yang berpotensi sebagai antikuorum sensing terhadap *P. aeruginosa*.

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu mendukung dan melengkapi penelitian mengenai daya antibakteri dan antikuorum sensing dengan menghambat sistem komunikasi sel bakteri sehingga sifat patogennya dapat dikendalikan, dapat mendukung penelitian selanjutnya dalam mencari konsentrasi antibakteri minimum yang dapat digunakan untuk mengendalikan sifat patogenitas suatu bakteri.