

UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper Betle L*) ASAL KABUPATEN MALAKA TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli*

Received 11th May 2023

Accepted 11th February 2024

DOI: 10.32938/jcsa.v2i1.4409

Sefrinus M. D Kolo, Eduardus Edi, dan Richardus Kutiom*

Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian, Sains Dan Kesehatan, Universitas Timor, Kefamenanu, Indonesia

*Email: kutiomrichardus@gmail.com

Abstrak

Penelitian tentang ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L*) dari Kabupaten Malaka dan uji antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* telah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang terdapat dalam daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Tahapan penelitian meliputi preparasi sampel, ekstraksi secara maserasi dan uji aktivitas antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak methanol daun sirih hijau di peroleh diameter zona hambat pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100% yaitu $20,1933 \pm 0,0513$, $21,1900 \pm 0,0100$, $22,1433 \pm 0,0404$, $23,1767 \pm 0,0252$, dan $24,2533 \pm 0,0058$. Nilai diameter zona hambat ekstrak daun sirih hijau tergolong dalam kategori aktivitas sangat kuat.

Kata kunci: daun sirih hijau (*Piper betle L*), maserasi, ekstrak, *Escherichia coli*.

1. Pendahuluan

Escherichia coli (*E. coli*) adalah bakteri yang hidup di dalam usus manusia untuk menjaga kesehatan sistem pencernaan. Bakteri ini umumnya tidak berbahaya. Namun, ada jenis *E. coli* yang menghasilkan racun dan menyebabkan sakit. Paparan *E. Coli* dapat menimbulkan gejala berupa sakit perut, diare, mual, dan muntah. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* ini akan berdampak lebih parah jika terjadi pada anak-anak dan lansia. Banyak upaya telah dilakukan untuk mengendalikan pertumbuhan *E.coli* dan mengurangi kasus infeksi *E. Coli* menggunakan bahan kimia antimikroba. Masyarakat Indonesia memiliki kekayaan obat dari bahan alam. Sejak zaman dahulu masyarakat sudah mengenal dan memakai tanaman sebagai obat alternatif. Penggunaan obat tradisional ini adalah salah satu cara alternatif dalam penyembuhan penyakit yang ada dalam tubuh manusia, salah satu jenis obat yang digunakan dalam pengobatan alternatif adalah daun sirih hijau (*Piper Betle L*)¹.

Daun sirih hijau merupakan salah satu obat alternatif, yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti obat pembersih mata, menghilangkan bau badan, mimisan, sariawan, pendarahan gusi, batuk, bronkhitis, keputihan dan obat kulit sebagai perawatan untuk kecantikan atau kehalusan kulit². Daun sirih hijau memiliki beberapa kandungan kimia antara lain minyak atsiri, terpenoid, tanin,

polifenol, flavanoid serta steroid. Proses ekstraksi daun sirih hijau dapat dilakukan menggunakan pelarut organik seperti metanol, etanol, etilasetat, dan n-heksana. Pelarut ini dapat melarutkan senyawa flavonoid, saponin, aglikon flavonoid, dan steroid³.

Kabupaten Malaka merupakan salah satu daerah yang sangat kaya akan potensi alam, dan memiliki berbagai macam tumbuhan, yang dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit dalam tubuh manusia. Salah satu tumbuhan yang banyak tumbuh di Malaka adalah daun sirih hijau. Daun sirih hijau di Kabupaten Malaka saat ini hanya dapat digunakan untuk acara adat, dan untuk penerimaan tamu setiap hari. Daun siri hijau di Kabupaten Malaka belum banyak dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan.

Banyak peneliti telah melaporkan potensi senyawa antimikroba alami dari daun siri hijau untuk menggantikan atau mengurangi ketergantungan pada bahan pengawet makanan sintetis. Peneliti terdahulu² menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi cakram. Peneliti lainnya³ menguji ekstrak daun siri hijau pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri *Streptococcus mutans* juga telah digunakan sebagai objek penelitian⁴. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan bahan baku yang sama tetapi diuji pada bakteri *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri diuji pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak daun siri hijau (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%).

2. Metodologi

2.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun sirih, bakteri *Escherichia coli*, aquades, Nutrient Agar, H_2SO_4 , $BaCl_2$, NaCl fisiologis, tisu, alkohol, spritus, kertas saring, kertas label, DMSO (dimethylsulfoxide).

2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: erlenmeyer, timbangan analitik, spatula, cawan petri, autoclave, alumunium foil, inkubator, tabung reaksi, gelas kimia, batang pengaduk, mikropipet, jarum ose, penggaris, alat tulis, label, bunsen, cork borer.

2.3 Prosedur Kerja

Preparasi Sampel

Sampel daun sirih yang dikumpulkan dari Kabupaten Malaka diambil dalam keadaan segar, dan tanaman sirih yang tidak terkena hama penyakit, dibersihkan, dipotong kecil-kecil dan dikering anginkan dalam ruangan yang terbuka selama 2 hari⁵.

Peremajaan Bakteri⁶

Sebanyak 2,8 g Nutrient Agar dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 mL, kemudian Media NA dipanaskan, setelah itu disterilkan selama 15 menit dalam autoklaf dengan suhu $121^\circ C$, dan tekanan 1 atm, dituangkan dalam tabung reaksi 5 ml, medianya dibiarkan sampaimemadat, kemudian bakteri *Escherichia coli* diisolat, media memadat diinokulasikan lalu ditutup dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $37^\circ C$.

Pembuatan Larutan Standar Mc.Farland 0,5

Diambil sebanyak 99,5 mL H_2SO_4 0,36 N ditambahkan 0,5 $BaCl_2$ 1,175% dicampurkan dalam tabung reaksi, dihomogenkan sampe berwarna keruh, larutan digunakan sebagai standar kekeruhan bakteri dimana setiap ml larutan setara dengan konsentrasi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (CFU= Colony Forming Unit)⁷

Pembuatan Suspensi Bakteri

Diambil bakteri *Escherichia coli* sebanyak 1 sampai 2 koloni menggunakan jarum ose yang di dalam media agar miring, dimasukkan dalam tabung reaksi dengan 10 ml NaCl fisiologis 0,95%, Divortex untuk disesuaikan kekeruhannya dengan larutan standar Mc. Farland 0,5.⁷

Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau

Diberi garis penanda pada cawan petri menjadi 7 bagian yang sama, disterilkan cawan petri lalu diisi NA sebanyak 15 mL yang sudah tercampur dengan bakteri, didiamkan sampai medianya memadat, kemudian menggunakan alat cork borer untuk membuat metode sumuran, kemudian diberi ekstrak daun sirih pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 %, control positif Kloramfenikol 30 ppm dan control negative DMSO 20%,

dan kontrol pelarut metanol, lalu daun sirih hijau diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^\circ C$, dan mengamati aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona bening pada sumuran dan ukur zona hambat⁸.

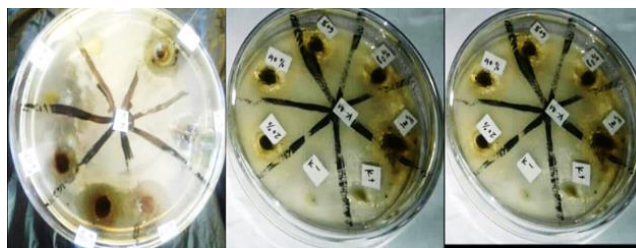
3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Daun Sirih Hijau diambil dari Desa Angkaes, Kecamatan Weliman, Kabupaten Malaka. Sampel dipreparasi melalui pengeringan dan penggilingan. Tujuan dari pengeringan yaitu untuk mengurangi kadar air sehingga tidak terjadi reaksi enzimatik dan mempermudah proses penggilingan. Tujuan dilakukan penggilingan yaitu untuk memperkecil ukuran dan meningkatnya luas permukaan sampel, sehingga pada saat proses maserasi lebih optimal⁹. Serbuk daun sirih hijau diekstraksi secara dingin yaitu dengan cara dimaserasi. Ekstraksi maserasi dilakukan untuk menarik atau memisahkan senyawa - senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Proses maserasi banyak dilakukan karena lebih mudah, murah dan tidak merusak/mengubah struktur senyawa. Metode maserasi ini membutuhkan waktu yang cukup lama dan pelarut yang digunakan dalam jumlah banyak¹⁰. Serbuk daun sirih hijau dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam, karena semakin lama sampel diekstraksi maka semakin banyak senyawa yang terekstrak dalam suatu pelarut organik. Ekstrak sampel selanjutnya dipisahkan dengan cara disaring menggunakan corong untuk memisahkan filtrat dan residu¹¹. Filtrat ekstraksi dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental lalu ditimbang. Tujuan dari evaporasi adalah untuk menghilangkan pelarut dengan memperkecil tekanan dalam vakum dan temperatur diatur di bawah titik didih pelarut¹². Hasil ekstrak yang diperoleh pada penelitian ini berwarna hijau kehitaman sebanyak 8,53 g dan dilanjutkan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

3.2 Aktivitas Antibakteri Daun Sirih Hijau

Pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap sampel uji. Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri yaitu metode difusi sumuran¹³. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol dari daun sirih hijau secara keseluruhan dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Hasil Uji Antibakteri

Pada metode sumuran setiap lubang diisi dengan konsentrasi

ekstrak maka osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen serta konsentrasi ekstrak yang dihasilkan lebih tinggi dan lebih kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri ¹⁴. Berdasarkan hasil uji pada gambar 1, setelah dilakukan pengukuran terhadap diameter zona hambat masing-masing konsentrasi antibakteri, diperoleh data pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli*

No	Konsentrasi (%)	Zona Hambat (mm) ± SD	Kategori Penghambatan
1	20	20,1933 ± 0,0513	Sangat Kuat
2	40	21,1900 ± 0,0100	Sangat Kuat
3	60	22,1433 ± 0,0404	Sangat Kuat
4	80	23,1767 ± 0,0252	Sangat Kuat
5	100	24,2533 ± 0,0058	Sangat Kuat
6	Kontrol +	19,2000 ± 0,0500	Kuat
7	Kontrol -	0,0000 ± 0,0000	

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak metanol daun sirih hijau yang diuji memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. **Tabel 1** menunjukkan hasil pengujian daya hambat beberapa ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan nilai zona hambat meningkat dari konsentrasi 20 % sampai 100 %. Zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol pada bakteri *Escherichia coli*, semakin besar seiring dengan besarnya/naiknya konsentrasi, sehingga dapat diasumsikan bahwa adanya hubungan yang berbanding lurus antara konsentrasi dan daya hambat ¹⁵. Kekuatan aktivitas antibakteri dapat dikelompokkan ke dalam 4 kategori yaitu lemah, sedang, kuat dan sangat kuat. Aktivitas antibakteri dikatakan lemah jika diameter zona hambat yang terbentuk adalah 5 mm, sedangkan untuk kategori sedang, kuat dan sangat kuat berturut turut adalah 5-10 mm, 11- 20 mm, lebih dari 20 mm ¹⁶. Selain itu juga dapat dilihat bahwa zona hambat dari kontrol positif kloromfenikol sedangkan kontrol negatifnya yaitu tidak menghasilkan zona hambat ¹⁷. Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut DMSO dimana tidak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Penggunaan kontrol negatif bertujuan untuk melihat ada atau tidak adanya aktivitas pada pelarut. Pemilihan DMSO 20 % sebagai kontrol negatif dikarekan DMSO berfungsi sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer dan tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri dari senyawa yang akan diuji ¹⁸. Selain itu pelarut DMSO ini juga mampu melarutkan semua senyawa yang bersifat polar, nonpolar, dan semipolar. Hal ini dibuktikan oleh¹⁹ yang menyatakan bahwa hasil diameter penghambatan DMSO terhadap bakteri uji adalah nol, sehingga pelarut ini merupakan pelarut ekstrak yang baik. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol. Penggunaan kloramfenikol sebagai kontrol positif karena merupakan antibakteri yang berspektrum luas, sehingga

mampu membunuh bakteri gram positif maupun gram negatif. Kontrol positif berfungsi untuk memastikan bahwa metode yang dilakukan sudah betul atau belum dan ditunjukkan dengan adanya zona hambat ²⁰

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan dari penelitian ini, dapat disimpulkan sebagai berikut: Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L) terhadap bakteri *Escherichia coli* tergolong relatif sangat kuat. Diameter zona hambat tertinggi ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan oleh konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat yaitu: 24,2533 ± 0,0058 mm.

Referensi

- (1) Bustanussalam, B.; Apriasi, D.; Suhardi, E.; Jaenudin, D. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* Linn) Terhadap *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. *FITOFARMAKA J. Ilm. Farm.* **2015**, *5* (2), 58–64. <https://doi.org/10.33751/jf.v5i2.409>.
- (2) Bustanussalam et al., 2015. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* Linn) terhadap *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. *FITOFARMAKA* **2015**, *5* (2), 58–64. <https://doi.org/10.33751/jf.v5i2.409>.
- (3) Sukriani Kursia, Julianri S. Lembang, Burhanuddin Taebe, Asril Burhan, Wa O. R. Ramim, Nursamsiar. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Indones. J. Pharm. Sci. Technol.* **2016**, *3* (2), 72–77.
- (4) Pangesti, R. D.; Cahyono, E.; Kusumo, E. 2016. Indonesian Journal of Chemical Science Perbandingan Daya Antibakteri Ekstrak Dan Minyak *Piper Betle* L. Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*. *Indones. Chem. Sci.* **2017**, *6* (3), 270–278.
- (5) Effendi, M. S.; Adawiyah, R. Penurunan Nilai Kekentalan Akibat Pengaruh Kenaikan Temperatur Pada Beberapa Merek Minyak Pelumas. *Intekna* **2014**, No. 1.
- (6) Dima, L. L. R. H.; Lolo, W. A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmakon* **2016**, *5* (2), 282–289. <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.12273>.
- (7) Septiani, S.; Dewi, E. N.; Wijayanti, I. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea Rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. *SAINTEK Perikan. Indones. J. Fish. Sci. Technol.* **2017**, *13* (1), 1. <https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6>.
- (8) Datta, F. U.; Daki, A. N.; Benu, I.; Detha, A. I. R.; Foeh, N. D. F. K.; Ndaong, N. A. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri

- Asam Laktat Cairan Rumen Terhadap Pertumbuhan Salmonella Enteritidis, Bacillus Cereus, Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus Menggunakan Metode Difusi Sumur Agar. *Pros. Semin. Nas. VII Fak. Kedokt. Hewan Univ. Nusa Cendana Swiss Bel-Inn Kristal Kupang* **2019**, 66–85.
- (9) Salamah et al., 2017. Pengaruh Metode Penyarian Terhadap Kadar Alkaloid Total Daun Jembirit (*Tabernaemontana Sphaerocarpa*. BL) Dengan Metode Spektrofotometri Visibel. *Pharmaciana* **2017**, 7 (1), 113. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i1.6330>.
- (10) Badaring, D. R.; Sari, S. P. M.; Nurhabiba, S.; Wulan, W.; Lembang, S. A. R. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle Marmelos* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus. *Indones. J. Fundam. Sci.* **2020**, 6 (1), 16. <https://doi.org/10.26858/ijfs.v6i1.13941>.
- (11) Novita, W. Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus Mutans Willia Novita. *Jmj* **2016**, 4 (2), 140–155.
- (12) Mawan, A. R.; Indriwati, S. E. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Buah Syzygium Polyanthum Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli. **2018**, 4 (1), 64–68.
- (13) Suliani, A.; Latief, M.; Rahmi, S. L. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Buah Dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn) Terhadap Mikroba Salmonella Tyhipimurium Dan Aspergillus Flavus. *Chempublish J.* **2016**, 1 (2), 32–41.
- (14) Prayoga, E. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus. *Found. Phys.* **2013**, 34 (3), 361–403.
- (15) Akshay, C.; Rohankumar, C.; Swapnali, M.; Srushti, D.; Subhash, P. Study of Anthelmintic Potential of Ethanolic Extract of Annona Reticulata Linn Leaves. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* **2020**, 9 (5), 1352–1360. <https://doi.org/10.20959/wjpps20205-16092>.
- (16) Surjowardojo et al., 2016. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus Sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus Dan Pseudomonas Sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. **2016**, 22 (2), 104–107.
- (17) Riwanti, P.; Andayani, R.; Trinanda, L. Artikel Penelitian Antibacterial Activity Test of Sargassum Polycystum in Staphylococcus Aureus. *J. Pharm. Sci.* **2021**, 6 (1), 19–23.
- (18) Utomo, S. B.; Fujiyanti, M.; Lestari, W. P.; Mulyani, S. Antibacterial Activity Test of the C-4-Methoxyphenylcalix [4] Resorcinarene Compound Modified by Hexadecyltrimethylammonium-Bromide against Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli Bacteria. *JKPK J. Kim. Dan Pendidik. Kim.* **2018**, 3 (3), 201. <https://doi.org/10.20961/jkpk.v3i3.22742>.
- (19) Katrin, D.; Idiawati, N.; Sitorus, B. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea Graciae*. **2015**, 4 (1).
- (20) Huda, C.; Putri, A. E.; Sari, D. W. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari Maserat Zibethinus Folium Terhadap Escherichia Coli. *J. SainHealth* **2019**, 3 (1), 7. <https://doi.org/10.51804/jsh.v3i1.333.7-14>.
- (21) Badriyah, L.; Farihah, D. A. Optimalisasi Ekstraksi Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa* L) Menggunakan Metode Maserasi. *J. Sint. Penelit. Sains Terap. Dan Anal.* **2023**, 3 (1), 30–37. <https://doi.org/10.56399/jst.v3i1.32>.
- (22) Rifqi, M. Ekstraksi Antosianin Pada Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.). *Pasundan Food Technol. J. PFTJ* **2021**, 8 (2), 45–50.
- (23) Rosida, D. F.; Hapsari, N.; Dewati, R. *Edible Coating Dan Film Dari Biopolimer Bahan Alami Terbaru*, Cetakan Pe.; Marzudi Tjiptimoer, Ed.; Uwais Inspirasi Indonesia: Sidoarjo, 2018.
- (24) Kusumawati, D. H.; Dwi, W.; Putri, R. Karakteristik Fisik Dan Kimia Edible Film Pati Jagung Yang Diinkorporasi Dengan Perasan Temu Hitam Physical and Chemical Characteristic of Corn Starch Edible Film That Incorporated with Pink and Blue Ginger Extract. *J. Pangan Dan Agroindustri* **2013**, 1 (1), 90–100.
- (25) Priyadarshi, R.; Ezati, P.; Rhim, J. Recent Advances in Intelligent Food Packaging Applications Using Natural Recent Advances in Intelligent Food Packaging Applications Using Natural Food Colorants. *ACS Food Sci. Technol.* **2021**, No. February. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.0c00039>.
- (26) Vo, T.; Dang, T.; Chen, B.-H. Synthesis of Intelligent pH Indicative Films from Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol)/Anthocyanin Extracted from Red Cabbage. *polymers* **2019**, 11, 1–12.