

THE EFFECTIVENESS OF GREEN BETEL LEAF (*Piper betle* L.) DECOCTION AS
ANTIBACTERIA *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus*

EFEKTIVITAS REBUSAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus*

Enong Liha^{1)*}, Afifah Nur Shobah¹⁾, Nia Marlina Kurnia²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi STIKes Salsabila Serang, Banten

²⁾Program Studi Biologi Universitas Bina Bangsa Serang, Banten

*enong.liha6@gmail.com

ABSTRACT

Piper betle as a folk remedy has been used to inhibit the growth of bacteria, by making various ways one of which is decoction. The purpose of this study was to determine the effectiveness of green betel leaf decoction as an antibacterial of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The samples used were green betel leaf decoction with a concentration of 17%, 34%, 51%, 68%, Amoxicillin, and Aquadest. Antibacterial testing using the Kirby & Bauer diffusion method with four repetitions. The results showed that the average inhibition zone of each stew concentration in *E.coli* bacteria was classified as weak (≤ 5 mm), namely 17% by 2,12 mm; 34% by 1,00 mm; 51% by 1,37 mm; and 68% by 3,50 mm. The average inhibition zone of each boiled concentration in *S.aureus* bacteria is classified as weak (≤ 5 mm) to moderate (5-10 mm) which is 17% by 7,87 mm; 34% by 4,00 mm; 51% by 4,97 mm; and 68% by 4,87 mm. The conclusion is that a decoction of green betel leaves is less effective in inhibiting the growth of *E.coli* and *S.aureus* bacteria.

Keywords: *Piper betle*, Decoction, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Piper betle sebagai obat tradisional telah digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, dengan dibuat berbagai cara salah satunya rebusan. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui efektivitas rebusan daun sirih hijau sebagai antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sampel yang digunakan yaitu rebusan daun sirih hijau konsentrasi 17%, 34%, 51%, 68%, Amoksisilin, dan Aquadest. Pengujian antibakteri menggunakan metode difusi Kirby & Bauer dengan pengulangan sebanyak empat kali. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata zona hambat tiap konsentrasi rebusan pada bakteri *E.coli* tergolong lemah (≤ 5 mm) yaitu 17% sebesar 2,12 mm; 34% sebesar 1,00 mm; 51% sebesar 1,37 mm; dan 68% sebesar 3,50 mm. Rata-rata zona hambat tiap konsentrasi rebusan pada bakteri *S.aureus* tergolong lemah (≤ 5 mm) sampai sedang (5-10 mm) yaitu 17% sebesar 7,87 mm; 34% sebesar 4,00 mm; 51% sebesar 4,97 mm; dan 68% sebesar 4,87 mm. Kesimpulannya bahwa rebusan daun sirih hijau kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

Kata kunci: *Piper betle*, Rebusan, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Piper betle merupakan tanaman yang sering digunakan untuk pengobatan tradisional oleh masyarakat, salah satu bagian tanaman yang biasa digunakan yaitu daunnya. Kebanyakan masyarakat merebus daun segar sirih hijau untuk diminum airnya (Isnawati dan Retnaningsih, 2018). Tumbuhan sirih mempunyai kegunaan yang melimpah sebagai obat tradisional, terutama daunnya. Beberapa kegunaan daun sirih untuk mengobati penyakit areaewanitaan (keputihan), diare, menghentikan pendarahan dari hidung, menghilangkan bau pada mulut, dan mengobati batuk. Adapun kandungan yang terdapat pada daun sirih hijau yaitu minyak atsiri, flavonoid, tanin, alkaloida, steroid, glikosida, pati, seskuiterpen, diastase, dan kavikol (Isnawati dan Retnaningsih, 2018).

Daun sirih hijau sebagai obat tradisional telah digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (antibakteri), dengan dibuat berbagai cara salah satunya yaitu perebusan. Rebusan daun sirih hijau bermanfaat untuk mengatasi bau mulut dengan cara berkumur, karena mengandung senyawa antibakteri. Keuntungan dari khasiat rebusan dan ekstrak daun sirih hijau yaitu sebagai antibakteri alami, karena dalam tumbuhan sirih hijau terdapat senyawa alami yang aman dibanding obat dengan kandungan bahan sintetik (Bustanussalam dkk., 2015). Proses rebusan dilakukan dengan cara merebus beberapa lembar daun sirih yang sering dilakukan oleh masyarakat pada umumnya. Perebusan dilakukan selama 45-60 menit dengan suhu $\pm 100^{\circ}\text{C}$ tanpa menambah pelarut tertentu (Etnis dan Maay, 2021).

Penelitian yang dilakukan oleh Suliantari dkk (2008) dikutip oleh Isnawati dan Retnaningsih (2018) bahwa ekstrak dari daun sirih hijau memiliki kekuatan dalam menahan pertumbuhan dari patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian efektivitas antibakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan metode difusi agar. Metode difusi agar yang dimaksud yaitu metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer), teknik pengerjaannya tidak terlalu sulit selain itu bisa menghemat waktu karena alat dan bahan yang diperlukan tidak terlalu banyak. Kemudian untuk prinsip dari metode *disc diffusion* ini yaitu dengan mengukur daerah hambatan yang menahan pertumbuhan bakteri disebabkan oleh difusi zat yang bersifat sebagai antibakteri pada media padat. Berdasarkan persoalan dipaparkan di atas, peneliti berminat untuk melakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas dari rebusan daun sirih

hijau sebagai antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai dengan bulan April 2022, di Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Banten.

Alat dan Bahan

Alat

Beaker glass (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), pipet ukur (Pyrex), pipet tetes, rak tabung reaksi, penjepit, *rubber bulb*, sikat, bunsen, korek, gunting, pisau, jarum ose, kapas lidi steril (*cotton swab*), spatula, cawan petri, cawan porselin, neraca analitik, Autoklaf (Hirayama), *Biological Safety Cabinet* (BSC) (Biobase Class III), Oven (Oxone), Blender (Waring), Inkubator (Memmert), Lemari asam (Phenolic Resin), kulkas (Sanken), *hot plate* (Heidolph MR), panci, *stopwatch*, termometer, pinset, batang pengaduk, nampan, penggaris.

Bahan

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.), aquadest steril (H_2O), biakan bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*, kertas cakram (*paper disk*) 6 mm, kapas, kain kasa steril, kain blacu, sarung tangan, masker, tisu, aluminium foil, *wrapping*, kertas label, alkohol 70%, NaCl 0,9%, Amoksisilin, medium MHA (*Mueller-Hinton Agar*), Besi (III) Klorida (FeCl_3), Asam Sulfat (H_2SO_4), Asam Klorida (HCl), Pereaksi Mayer, Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Wagner. spiritus, dan disinfektan.

Preparasi sampel

Lokasi pengambilan daun sirih hijau yaitu di Jalan Rokoy Kampung Salam Sukamanah Pandeglang-Banten. Sampel berupa daun sirih hijau dilakukan determinasi terlebih dahulu di laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Setelah itu sampel dibuat simplisia melalui proses sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, dan penyimpanan.

Pembuatan Media Padat

Medium MHA (*Mueller-Hinton Agar*) sebanyak 38g/L dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambah pelarut aquades sebanyak 1000 ml. Tutup lubang erlenmeyer dengan kapas, lalu sterilkan pada autoklaf dengan temperatur

121°C selama 15 menit. Media yang sudah di sterilkan dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml sebagai agar *plate* dan tabung reaksi sebanyak 10 ml sebagai agar miring (Simanjuntak, 2015).

Sterilisasi Alat

Alat-alat berupa gelas dibersihkan terlebih dahulu kemudian dibungkus menggunakan aluminium foil dan disusun rapi. Dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. alat berupa pinset dan ose, disterilkan dengan cara pembakaran di atas api langsung (Yusmaniar dkk., 2017).

Pembuatan Rebusan

Siapkan panci yang sudah terisi air sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai mendidih suhu >90°C. Timbang simplisia sebanyak 17 g, 34 g, 51 g, dan 68 g. Masing-masing masukkan simplisia ke dalam *beaker glass* dan tambahkan aquadest sebanyak 100 ml aduk sampai homogen. Tutup *beaker glass* dengan aluminium foil lalu masukkan ke dalam panci yang sudah berisi air mendidih selama 30 menit. Setelah itu saring menggunakan kain blacu, hingga didapatkan ekstrak dengan volume 100 ml (Nur Khoiriyah dan Murwaningsih, 2017).

Skrining Fitokimia

Pengujian flavonoid, masukkan 1 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi, tambahkan HCl pekat dan panaskan selama 15 menit di atas penangas air. Positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna yaitu merah atau kuning (Muthmainnah, 2019).

Pengujian alkaloid, masukkan 2 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi, ditetesi 5 ml HCl 2N dan dipanaskan. Setelah itu dinginkan terlebih dahulu dan bagi masing-masing 1 ml dalam tiga tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambah pereaksi Mayer, tanda positif alkaloid yaitu terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning. Tabung reaksi kedua ditambah pereaksi Wagner, tanda positif alkaloid yaitu terbentuknya endapan berwarna coklat. Kemudian tabung reaksi ketiga ditambah pereaksi Dragendorff, tanda positif alkaloid yaitu terbentuknya endapan berwarna jingga (Muthmainnah, 2019).

Pengujian terpenoid dan steroid, masukkan 2 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi tambahkan 10 tetes H₂SO₄ reaksi positif terpenoid adanya warna hijau dan biru. Reaksi positif steroid adanya warna kuning (Rukmini dkk., 2020).

Pengujian saponin, Masukkan 1 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 10 ml air panas, dinginkan lalu kocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif saponin ditandai oleh terbentuknya buih setinggi 1-10 cm tidak kurang dari 10 menit. Kemudian ditambah 1 tetes HCl 2 N, buih tidak menghilang (Muthmainnah, 2019).

Pengujian tanin, masukkan 1 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 10 ml air panas dididihkan selama 5 menit. Lalu ditambahkan 3-4 tetes FeCl₃. Positif tanin adanya warna hijau biru (hijau-hitam) atau warna biru hitam (Muthmainnah, 2019).

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Digerus tablet amoksisilin, lalu ditimbang sebanyak 100 mg masukkan ke dalam *beaker glass* dan larutkan dengan 50 ml aquadest, sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 2000 PPM (Rudiansyah dkk., 2021). Pemilihan tablet amoksisilin yang digunakan sebagai sampel kontrol positif, karena amoksisilin merupakan lini pertama yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif (Permenkes RI, 2017).

Peremajaan Bakteri

Media agar miring pada tabung reaksi masing-masing diberi biakan murni bakteri *E.coli* dan *S.aureus* diambil satu ose bulat dan diinokulasi dengan cara digores pada medium agar. Setelah itu inkubasi masing-masing kultur bakteri dengan suhu 37°C selama 24 jam (Hasyim dkk., 2018).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Hasil peremajaan *E.coli* dan *S.aureus* pada medium MHA miring masing-masing dilakukan pengenceran menggunakan NaCl 0,9% sebanyak 10 ml. Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Hasyim dkk., 2018).

Pengujian Antibakteri

Diambil suspensi bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dengan cara mencelupkan kapas lidi steril, diamkan selama kurang lebih lima detik. Masing-masing diinokulasikan pada permukaan medium agar dalam cawan petri secara merata. Kertas cakram 6 mm yang telah ditetesi rebusan masing-masing konsentrasi 17% b/v, 34% b/v, 51% b/v, dan 68% b/v, Aquadest steril (kontrol negatif), dan Amoksisilin (kontrol positif), dengan pengulangan perlakuan sebanyak empat kali. Dimasukkan ke dalam cawan petri menggunakan pinset. Kemudian masukkan masing-masing cawan petri yang

sebelumnya telah diberi tanda menggunakan kertas label ke dalam inkubator. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi selama 24 jam, diamati zona hambat di sekitar cakram dan diukur menggunakan penggaris dalam satuan mm (Hasyim dkk., 2018).

Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisis menggunakan SPSS versi 25. Pertama data dilakukan uji normalitas dan homogenitas menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk mendapatkan nilai signifikansi ($P > 0,05$). Jika data terdistribusi normal analisis dilanjutkan dengan uji varian yaitu uji *one way anova*, tujuannya mengetahui ada atau tidak pengaruh perbedaan dari rebusan daun sirih hijau terhadap diameter daya hambat bakteri uji antar konsentrasi. Setelah itu dilanjutkan dengan uji *duncan*, untuk mengetahui ada atau tidaknya beda nyata pada batas signifikansi 0,05 (Hasyim dkk., 2018). Alternatif lain jika data tidak terdistribusi normal, analisis dapat dilakukan dengan uji *Kruskall Wallis*. Pedoman uji *Kruskall Wallis* yaitu jika nilai $\text{sig} < 0,05$ maka ada perbedaan rata-rata dan jika nilai $\text{sig} > 0,05$ maka tidak ada perbedaan rata-rata. Setelah itu data dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan bermakna dari tiap kelompok sampel uji. Pedoman uji *Mann-Whitney* yaitu jika nilai $\text{sig} < 0,05$ maka ada perbedaan bermakna dan jika nilai $\text{sig} > 0,05$ maka tidak ada perbedaan bermakna (Zeniusa dkk., 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian rebusan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dilakukan dengan metode *disc diffusion* menggunakan kertas cakram, yang ditetesi sampel berupa rebusan daun sirih hijau konsentrasi 17%, 34%, 51%, dan 68%. Kertas cakram diletakkan pada media agar yang telah diolesi suspensi bakteri. Langkah awal sebelum melakukan pengujian antibakteri adalah membuat media MHA (*Mueller-Hinton Agar*), pembuatan media terdiri dari media agar miring dan media agar *plate*. Setelah itu dilakukan peremajaan bakteri, bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Kemudian dibuat suspensi bakteri dengan menggunakan larutan natrium klorida (NaCl 0,9%) dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Persiapan sampel yaitu ekstrak rebusan daun sirih hijau dengan beberapa variasi konsentrasi. Selain variasi konsentrasi rebusan, dalam pengujian ini digunakan sampel berupa kontrol positif dan negatif, kontrol positif yaitu larutan amoksisilin dan kontrol negatif yaitu aquadest. Pengujian rebusan daun sirih hijau dilakukan sebanyak empat kali replikasi, masing-masing pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Adapun proses yang dilalui sebelum merebus daun sirih yaitu daun sirih hijau dilakukan determinasi terlebih dahulu di Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, daun sirih hijau dibuat simplisia dan dihaluskan, serta dilakukan uji skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sirih hijau (*Piper betle* L.).

Senyawa metabolit sekunder hasil skrining fitokimia pada Tabel 1. berupa flavonoid, steroid, tanin, dan alkaloid. Senyawa flavonoid, saponin, dan steroid sebagai antibakteri bekerja dengan cara masuk ke dalam sel bakteri dan merusak membran plasma bakteri. Senyawa tanin dan alkaloid sebagai antibakteri mempunyai mekanisme dalam merusak struktur dinding sel bakteri (Kurniawan dkk., 2019). Senyawa terpenoid sebagai antibakteri memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat membran plasma (Santoso dkk., 2019). Senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid mempunyai sifat tidak tahan panas, sehingga adanya dampak penurunan kadar flavonoid yang mempengaruhi aktivitas antibakteri (Sonia dkk., 2021). Senyawa metabolit sekunder dapat diketahui dengan cara melakukan uji skrining fitokimia. Skrining fitokimia dilakukan dengan cara menguji simplisia atau ekstrak tumbuhan yang diberi pereaksi berbeda-beda. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rukmini dkk (2019) bahwa daun sirih hijau positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu steroid, alkaloid, dan flavonoid. Rukmini dkk (2019) menggunakan salah satu metode ekstraksi dalam pengujian skrining fitokimia yaitu metode maserasi.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia daun sirih hijau (*Piper betle* L.)

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	HCl 2N + dipanaskan + Wagner	+	Endapan coklat
Flavonoid	HCl pekat + dipanaskan	+	Merah bata
Saponin	Aquadest + dipanaskan + dikocok kuat	-	Berbusa sementara
Steroid	H ₂ SO ₄	+	Kuning

Tanin	Aquadest panas + FeCl ₃	+	Hijau kehitaman
Terpenoid	H ₂ SO ₄	-	-

Keterangan: daun sirih hijau (*Piper betle* L.) positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, steroid dan tanin.

Data yang dihasilkan dari pengujian rebusan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan analisis. Pertama data dianalisis dengan uji *Kruskall-Wallis* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna dari tiap sampel uji. Pedoman uji *Kruskall-Wallis* yaitu jika nilai $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan bermakna. Setelah itu data dianalisis dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok mana yang bermakna. Pedoman untuk uji *Mann-Whitney* yaitu jika nilai $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan bermakna dari tiap kelompok uji (Zeniusa dkk., 2019).

Berdasarkan data hasil penelitian pada Tabel 2. bahwa rebusan daun sirih hijau dapat menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Rata-rata diameter tiap konsentrasi yaitu 17% sebesar 2,12 mm, 34% sebesar 1,00 mm, 51% sebesar 1,37 mm, dan 68% sebesar 3,50 mm. Lalu dilakukan analisis dengan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan signifikansi kurang dari 0,05 yaitu 0,025 artinya terdapat perbedaan rata-rata antara sampel rebusan. Kategori antibakteri yang terbentuk dari pengujian rebusan daun *Piper betle* terhadap bakteri *E.coli* tergolong lemah (≤ 5 mm) untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata zona hambat sebesar 2,12 – 3,50 mm.

Tabel 2. Pengujian rebusan daun *Piper betle* sebagai antibakteri *E.coli*

Sampel	Mean \pm SD (mm)	Uji analisis <i>Kruskal-Wallis</i>	
		Mean Rank	Asymp. Sig
Rebusan 17%	2,12 \pm 2,52	8,88	0,017
Rebusan 34%	1,00 \pm 2,00	7,13	
Rebusan 51%	1,37 \pm 2,75	7,88	
Rebusan 68%	3,50 \pm 4,35	10,13	
Amoksisilin (K+)	16.25 \pm 3,47	18,50	
Aquadest (K-)	-	7,50	

Keterangan: kategori zona hambat bakteri yaitu sangat kuat >20 mm, kuat 10-20mm, sedang 5-10 mm, lemah ≤ 5 mm (Kurniawan dkk., 2019)

Penelitian yang dilakukan oleh Castoeri dkk (2022) menguji air rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* diperoleh hasil bahwa dosis pemakaian air rebusan daun sirih di masyarakat konsentrasi 5% tidak menghambat pertumbuhan sel bakteri *Escherichia coli*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Tjahjani dan Lestari (2022) menguji ekstrak daun sirih hijau dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil penelitian tersebut diperoleh bahwa ekstrak daun sirih hijau menggunakan pelarut etanol 96% dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*

pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%. Rata-rata zona hambat yang dihasilkan dari penelitian tersebut tergolong sedang (5-10 mm) sampai kuat (10-20 mm) yaitu sebesar 6,00 – 11,00 mm.

Sampel kontrol negatif berupa aquadest tidak menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk. Hal tersebut di karenakan aquadest tidak memiliki sifat sebagai antibakteri (Kurniawan dkk., 2019). Kontrol positif berupa amoksisilin, menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk. Kategori zona hambat yang terbentuk yaitu kuat (10-20 mm) dengan rata-rata sebesar 16,25 mm artinya amoksisilin sebagai kontrol positif dapat

menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Kurniawan dkk., 2019).

Berdasarkan data hasil penelitian pada Tabel 3. bahwa rebusan daun sirih hijau dapat menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Rata-rata diameter tiap konsentrasi yaitu 17% sebesar 7,87 mm, 34% sebesar 4,00 mm, 51% sebesar 4,97 mm, dan 68%

sebesar 4,87 mm. Lalu dilakukan analisis dengan uji Kruskal-Wallis didapatkan signifikansi kurang dari 0,05 yaitu 0,031 artinya terdapat perbedaan rata-rata antara sampel rebusan. Kategori antibakteri yang terbentuk dari pengujian rebusan daun *Piper betle* terhadap bakteri *S.aureus* tergolong lemah (≤ 5 mm) sampai dengan sedang (5-10 mm) dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata sebesar 4,00 – 7,87 mm.

Tabel 3. Pengujian rebusan daun *Piper betle* sebagai antibakteri *S.aureus*

Sampel	Mean \pm SD (mm)	Uji analisis <i>Kruskal-Wallis</i>	
		Mean Rank	Asymp. Sig
Rebusan 17%	7,87 \pm 3,59	11,50	0,007
Rebusan 34%	4,00 \pm 3,85	6,63	
Rebusan 51%	4,97 \pm 1,69	7,88	
Rebusan 68%	4,87 \pm 4,47	8,00	
Amoksisilin (K+)	20,50 \pm 8,97	18,50	
Aquadest (K-)	-	3,50	

Keterangan: kategori zona hambat bakteri yaitu sangat kuat >20 mm, kuat 10-20mm, sedang 5-10 mm, lemah ≤ 5 mm (Kurniawan dkk., 2019)

Penelitian yang dilakukan oleh Willianti dkk (2020) menguji Rebusan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh hasil bahwa rebusan daun sirih hijau dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri *streptococcus mutans* dengan merebus 10 lembar daun sirih dan aquadest 200 ml. Rata-rata zona hambat yang dihasilkan dari penelitian tersebut tergolong kuat (10-20 mm) yaitu sebesar 15,81 mm. Penelitian lain yang dilakukan oleh Pangesti dkk (2017) menguji ekstrak daun sirih hijau dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil penelitian tersebut diperoleh bahwa ekstrak daun sirih hijau menggunakan pelarut etanol 96% dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 20%. Rata-rata zona hambat yang dihasilkan dari penelitian tersebut tergolong lemah (≤ 5 mm) yaitu sebesar 4,15 mm.

Sampel kontrol positif berupa amoksisilin menunjukkan rata-rata sebesar 20,50 mm kategori kuat (10-20 mm) dalam membunuh dan menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona hambat yang dihasilkan oleh kontrol positif amoksisilin terhadap bakteri *Staphylococcus*

aureus lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan struktur sel bakteri dan mekanisme kerja antibiotik. Bakteri *staphylococcus aureus* merupakan jenis bakteri gram positif yang mengandung banyak lapisan peptidoglikan memiliki struktur yang tebal dan kaku, serta asam teikoat. Sebaliknya bakteri *Escherichia coli* merupakan jenis bakteri gram negatif mengandung satu atau beberapa lapisan peptidoglikan dan membran luar. Peptidoglikan terikat lipoprotein pada membran luar. Terdapat daerah periplasma yaitu daerah yang terdapat di antara membran plasma dan membran luar. Periplasma berisi enzim degradasi konsentrasi tinggi serta protein-protein transpor. Dinding sel tidak mengandung asam teikoat, hanya mengandung sejumlah kecil peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri gram negatif relatif lebih tahan terhadap kerusakan mekanis. Antibiotik amoksisilin merupakan jenis antibiotik berspektrum luas golongan penisilin. Mekanisme kerja antibiotik amoksisilin yaitu menghambat sintesis dan merusak dinding sel bakteri, dengan cara merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri (Pratiwi, 2008).

Data pada Tabel 4 memperlihatkan hasil analisis *Mann-Whitney* dari rebusan daun sirih hijau sebagai antibakteri *Escherichia coli*. Bahwa sampel kontrol positif berupa amoksisilin memiliki perbedaan yang bermakna dengan rebusan daun sirih hijau pada konsentrasi 17%, 34%, 51%, dan 68% dengan nilai signifikansi < 0,05. Selain itu kontrol negatif berupa aquadest terlihat memiliki perbedaan yang bermakna dengan sampel amoksisilin. Data pada Tabel 5 memperlihatkan

hasil analisis *Mann-Whitney* dari rebusan daun sirih hijau sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*. Bahwa sampel kontrol positif berupa amoksisilin memiliki perbedaan yang bermakna dengan rebusan daun sirih hijau pada konsentrasi 17%, 34%, 51%, dan 68% dengan nilai signifikansi < 0,05. Selain itu kontrol negatif berupa aquadest terlihat memiliki perbedaan yang bermakna dengan sampel rebusan daun sirih hijau konsentrasi 17%, 34%, 51%, 68%, dan amoksisilin.

Tabel 4. Data hasil uji *Mann-Whitney* bakteri *E.coli*

Sampel	Rebusan 17%	Rebusan 34%	Rebusan 51%	Rebusan 68%	K+	K-
Rebusan 17%	-					
Rebusan 34%	0,508	-				
Rebusan 51%	0,741	0,850	-			
Rebusan 68%	0,642	0,321	0,508	-		
K+	0,020*	0,018*	0,018*	0,020*	-	
K-	0,131	0,317	0,317	0,131	0,014*	-

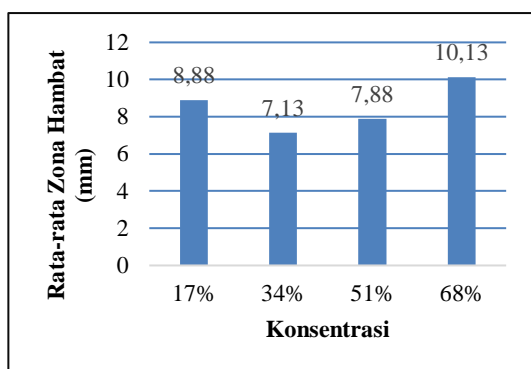
Tabel 5. Data hasil uji *Mann-Whitney* bakteri *S.aureus*

Sampel	Rebusan 17%	Rebusan 34%	Rebusan 51%	Rebusan 68%	K+	K-
Rebusan 17%	-					
Rebusan 34%	0,081	-				
Rebusan 51%	0,245	0,773	-			
Rebusan 68%	0,561	0,885	0,885	-		
K+	0,020*	0,021*	0,021*	0,021*	-	
K-	0,013*	0,047*	0,014*	0,047*	0,014*	-

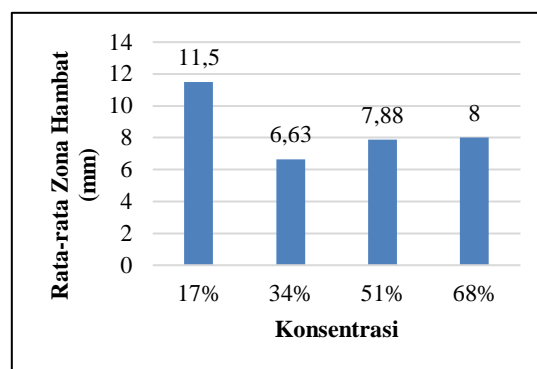
Keterangan: (*)perbedaan bermakna nilai $p < 0,05$. K+ = Amoksisilin K- = Aquadest

Berdasarkan rata-rata hasil uji Kruskal-Wallis pada Gambar 1 dan Gambar 2, bahwa rebusan daun sirih hijau dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 68% dan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 17%. Zona hambat bakteri umumnya terjadi ketika semakin besar konsentrasi maka semakin tinggi zona hambat. Pada penelitian ini berbeda, karena beberapa faktor yang mempengaruhinya. Faktor yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat antibakteri yaitu konsentrasi ekstrak, kemampuan difusi ekstrak, adanya bahan organik pada sampel, suhu, dan pH lingkungan. Semakin besar konsentrasi maka

semakin besar pula zona hambat dan kemampuan difusi ekstrak yang terbentuk (Dewangga dan Qurrohman, 2019). Bahan organik asing dapat menurunkan keefektifan zat antibakteri dengan cara menginaktifkan zat-zat pada sampel dan melindungi bakteri. Suhu berpengaruh ketika terjadi kenaikan dari suhu sedang menjadi tinggi dapat menaikkan keefektifan suatu sampel antibakteri. Kemudian pH lingkungan, bakteri yang diberi perlakuan sampel dengan pH asam (<7) dapat dibunuh pada suhu yang lebih singkat dibanding dengan bakteri dalam pH lingkungan basa (>7) (Fifendy, 2017).



Gambar 1. Diagram rata-rata uji Kruskal-Wallis bakteri *E.coli*



Gambar 2. Diagram rata-rata uji Kruskal-Wallis bakteri *S.aureus*

Faktor lain yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat yaitu kualitas dan kuantitas sampel tumbuhan, pembuatan ekstrak, metode pengujian antibakteri, dan tipe bakteri. Kualitas dan kuantitas daun sirih hijau yang ditanam dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya pada saat pemberian pupuk, cara penyiraman, dan sinar matahari. Hal tersebut dapat berpengaruh pada tanaman sirih, terjadinya pengurangan zat antibakteri sehingga mengakibatkan rebusan daun sirih tidak menghasilkan zona hambat antibakteri. Pembuatan ekstrak pula dapat berpengaruh seperti pada saat penyaringan ekstrak tidak tersaring

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Rebusan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) kurang efektif sebagai antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Terdapat perbedaan rata-rata zona hambat dari tiap konsentrasi rebusan daun sirih hijau dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Dengan nilai zona hambat terbesar 3,5 mm pada konsentrasi 68% pengujian terhadap bakteri *Escherichia coli*, sedangkan 7,87 mm pada konsentrasi 17% pengujian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diharapkan peneliti selanjutnya untuk:

1. Melakukan uji antibakteri menggunakan metode yang berbeda, seperti metode sumuran, metode *E-test*, metode dilusi cair, dan metode dilusi padat.

dengan baik dan penambahan pelarut yang berlebihan. Metode pengujian antibakteri yang dilakukan pada saat penelitian dapat mempengaruhi, seperti pada saat menetes ke kertas cakram dengan sampel kurang terendam atau terlalu cepat. Penyebaran bakteri dengan *cotton swab* kurang merata sehingga mengakibatkan tidak terbentuknya zona hambat di sekeliling kertas cakram. Tipe bakteri mengakibatkan adanya perbedaan enzim dan zat yang diperoleh bakteri, enzim tersebut kemungkinan menjadi perusak atau penghancur zat antibakteri pada sampel sehingga tidak terbentuk zona hambat (Suryati dkk., 2018).

2. Menguji bagian tumbuhan sirih hijau selain daunnya.
3. Menguji dengan metode penyari lain, seperti digesti, perkolasi, sokhletasi, dan maserasi.
4. Menggunakan antibiotik yang lebih spesifik untuk kontrol positif, pada pengujian bakteri gram positif dan gram negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah Rukmini, Danang Hadi Utomo, Ainun Nikmati Laily. 2020. Skrining Fitokimia *Familia Piperaceae*. *Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya (JB&P)*, 7(1): 28–32.
- B, Muthmainnah. 2019. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, 13(2): 36–41.
- Castoeri, Y. N., Suryadjaja, E. dan Wahjudi, M. 2022. Air Daun Sirih (*Piper betle* L.) Tidak Berpotensi Memicu Resistensi Sel *Escherichia coli* pada Dosis Pemakaian Secara Traditional. *Media Pharmaceutica Indonesia*, 4(1): 56-64.

- Dewangga, V.S., Qurrohman, M.T., 2019. Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Meniran Hijau (*Phyllanthus niruri* Linn.) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 10(2): 144–150.
- Fifendy, M. 2017. Mikrobiologi Edisi Pertama. *PT Balebat Dedikasi Prima*.
- Harborne, J. B. 1992. Phytochemical methods, a guide to modern techniques of plant analysis. London, New York: *Chapman and Hall*.
- Hasyim, M. F., Patandung, G. and Irfiana. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sawo Manila (*Manilkara zapota* L.) Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 4(7): 16-19
- Kurniawan, D., Sulistyowati, E., Hakim, R., 2019. Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Metanolik atau Dekokta Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Amoksisilin pada Bakteri *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli* secara in vitro. *Journal Bio Komplementer Medicine*, 6(3): 262–271.
- Marsono, O.S., Eko, T., Surjowardojo, P., 2017. The effect of decoction leaves from green leaf (*Piper betle* L.) to inhibition activity of *Streptococcus agalactiae* cause of mastitis in dairy cow. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, 12(1): 47–60.
- Nur Khoiriyah, Y. dan Murwaningsih, S. 2017. Kajian Ragam dan Periode Penyimpanan Kombinasi Air Rebusan Daun Sirih dan Kayu Siwak Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 5(2): 70–77.
- Pangesti, R. D., Cahyono, E. dan Kusumo, E. 2017. Perbandingan Daya Antibakteri Ekstrak dan Minyak *Piper betle* L. terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(3): 291–299.
- Permenkes RI. 2017. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011 Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. *Permenkes RI*, hal: 34–44.
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: *Penerbit Erlangga*.
- Santoso, I. Rina B, Y. Fadli, Z. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Dekokta Dan Ekstrak Kloroform Alga *Cladophora sp.* Pada Bakteri Gram Positif Dan Negatif. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11): 62–69.
- Sari, S.L., Hakim, R., Sulistyowati, E., 2019. Efek Antibakteri Kombinasi Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*) dengan Amoksisilin pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Kedokteran*, 8(1): 1-10.
- Simanjuntak, A. M. 2015. Penentuan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) terhadap Bakteri *Bacillus cereus* secara In Vitro', *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran*, 3(1): 4–9.
- Sonia Agustin Ervina A., Reza Hakim, Erna Sulistyowati. 2021. Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Metanol atau Dekokta Daun *Annona muricata* L. dengan Kloramfenikol pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11): 951–952.
- Suryati, N., Bahar, E. and Ilmiawati, I. (2018) 'Uji Suryati, N. dan Bahar, E. 2018. Uji Efektivitas Antibakteri Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(3): 518-522.
- Tjahjani, N. P. dan Lestari, D. W. 2022. Potensi Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.) Dan Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Proteus mirabilis*. *Jurnal Pranata Biomedika*, 1(1): 64–77.
- Willianti, E., Theodora, T. dan Parmasari, W. D. 2020. Analisa Aktivitas Antibakteri Rebusan Daun Sirih Dengan Rebusan Daun Kemangi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Hang Tuah Medical Journal*, 18(1): 36-48.
- Yusmaniar, Wardiyah and Nida, K. (2017) *Mikrobiologi dan Parasitologi, Badan PPSDM* Yusmaniar, Wardiyah dan Nida, K. 2017. Mikrobiologi dan Parasitologi. *Badan PPSDM Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Zeniusa, P. dkk. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Majority*, 8(2): 136–143.