

Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dan Madu terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*

Lucia Bilasonya Sakramentia*, Nurul Fitriani, Fajar Prasetya

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis”,
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email: luciabilasonya09@gmail.com

Abstract

Green betel leaf (*Piper betle L.*) and honey have been scientifically known to have antibacterial activity. The antibacterial activity of green betel leaf is caused by the presence of compounds, such as tannins, flavonoids, saponins, alkaloids, and terpenoids. While honey is due to the high sugar content, the acidity and compounds from the flavonoid, glycoside, and hydrogen peroxide groups. This study aims to determine the antibacterial activity of the combination of these extracts against *Propionibacterium acnes*. Antibacterial activity was tested using the well technique agar diffusion method with green betel leaf extract concentrations of 2.5%, 5%, 7.5%, 10%, and 12.5% and combined each concentration with 100% of honey. The results obtained by the extract antibacterial activity at concentrations of 2.5%, 5%, 7.5%, 10%, and 12.5%, each combined with 100% of honey respectively at 11,81 mm; 14,45 mm; 15,48 mm; 16,77 mm; and 14,68 mm against *Propionibacterium acnes*. The results of this study indicate the combination of green betel leaf extract with a concentration of 10% and 100% honey produces the most effective inhibition zone.

Keywords: Antibacterial, *Piper betle L.*, Honey, *Propionibacterium acnes*

Abstrak

Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dan madu telah diketahui secara ilmiah memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri daun sirih hijau disebabkan karena adanya senyawa yaitu tanin, flavonoid, saponin, alkaloid dan terpenoid. Sedangkan madu karena kandungan gula yang tinggi, keasaman, dan senyawa kelompok flavonoid, glikosida, dan hidrogen peroksida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak tersebut terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Aktivitas antibakteri diuji dengan menggunakan metode difusi agar dengan teknik sumuran dengan konsentrasi ekstrak daun sirih hijau yaitu 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, dan 12,5 % dan dikombinasi masing-masing konsentrasi dengan madu 100%. Hasil pengukuran diperoleh aktivitas antibakteri ekstrak pada konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, dan 12,5 % yang masing-masing dikombinasi dengan madu 100% berturut-turut sebesar 11,81 mm; 14,45 mm; 15,48 mm; 16,77 mm; dan 14,68 mm terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 10% dan madu 100% menghasilkan zona hambat paling efektif.

Kata Kunci: Antibakteri, *Piper betle L.*, Madu, *Propionibacterium acnes*

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.355>

■ Pendahuluan

Masyarakat Indonesia sejak dahulu sering menggunakan tanaman tradisional dan diolah menjadi obat tradisional atau jamu. Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat ialah daun sirih hijau (*Piper betle L.*) sering digunakan masyarakat sebagai obat untuk sariawan, batuk, dan antiseptik untuk mengurangi keputihan [1]. Madu sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat untuk penyakit batuk, bisul, jerawat, dan radang [2].

Acne vulgaris atau jerawat merupakan salah satu penyakit yang sering dialami oleh masyarakat yang berkisar 47-90% selama masa remaja [3]. Adapun salah satu bakteri penyebabnya ialah *Propionibacterium acnes* yang merupakan bakteri spesifik penyebab jerawat yang diisolasi dari lesi jerawat dan akan meningkat seiring dengan peningkatan sebum [4].

Aktivitas antibakteri daun sirih hijau disebabkan karena adanya senyawa yaitu tanin, flavonoid, saponin, alkaloid, dan terpenoid [5]. Sedangkan madu karena kandungan gula yang tinggi, keasaman pH senyawa dari kelompok flavonoid, glikosida, dan hidrogen peroksida [6].

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau yang berasal dari dataran tinggi pada konsentrasi 5 mg/mL menghasilkan zona hambat sebesar 10,7 mm dan sampel yang berasal dari dataran rendah pada konsentrasi 20 mg/mL menghasilkan zona hambat sebesar 11,5 mm menunjukkan zona hambat pada bakteri *Propionibacterium acnes* [7]. Sedangkan madu pada penelitian sebelumnya menghasilkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 100% dan menghasilkan zona hambat sebesar 16,2 mm [8].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan madu terhadap bakteri penyebab jerawat yaitu *Propionibacterium acnes*.

■ Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Daun sirih hijau (*Piper betle L.*), madu, etanol 96%, Na.CMC, NaCl, aquades, medium NA (*Nutrient Agar*), biakan bakteri *Propionibacterium acnes*

Alat yang digunakan adalah alat kaca dan alat non kaca, timbangan analitik (Precisa®), pencadangan, inkubator (Frailabo®), autoklaf (Tomy SN-700), LAF (*Laminar Air Flow*) dan mikrometer sekrup (Insize®).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau yang telah dibuat menjadi simplisia, diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% kemudian dimaserasi selama 3x24 jam. Lalu filtrat disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kentak etanol daun sirih hijau.

Pembuatan standar kekeruhan Mc.Farland

H₂SO₄ 1% sebanyak 99,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah BaCl₂ 1,175% sebanyak 0,05 mL. Kemudian diaduk hingga homogen. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standart, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah >3 X 10⁸ CFU/ml.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Dibuat suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* dengan beberapa perbandingan dengan NaCl hingga diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar Mc. Farland yang telah dibuat. Suspensi bakteri dibuat dengan mengambil koloni bakteri uji pada medium NA dengan ose dan disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9%. Kekeruhan yang disetarakan dengan standar kekeruhan Mc. Farland.

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Kontrol negatif dibuat dari Na. CMC 1% dengan melarutkan 1 gram serbuk Na. CMC dalam 100 mL aquades steril. Dikocok hingga larutan homogen. Kontrol negatif digunakan sebagai pembanding dan pelarut untuk pembuatan larutan uji.

Pembuatan Larutan

Larutan uji ekstrak etanol daun sirih hijau dibuat dengan mensuspensikan ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, dan 12,5% disuspensikan dengan larutan Na.CMC 1% dalam 10 mL. Dikocok hingga homogen. Larutan uji madu dibuat dengan mensuspensikan ekstrak madu dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% disuspensikan dengan larutan Na.CMC 1% dalam 10 mL. Dikocok hingga homogen. Sedangkan sampel madu dengan konsentrasi 100% tidak dilarutkan.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas anti bakteri daun sirih hijau dan madu menggunakan metode difusi agar dan teknik sumuran. Diinokulasikan suspensi bakteri dan 20 mL medium NA di dalam botol pengencer dan dihomogenkan. Selanjutnya medium yang telah diinokulasi tersebut dimauaskan ke dalam cawa petri steril dengan cara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* dan tunggu hingga memadat. Dibuat 6 lubang sumuran dengan pencadang dan kemudian diangkat sehingga terbentuk sumur-sumur yang akan digunakan dalam uji bakteri dan 1 sumuran diantaranya untuk kontrol negatif. Selajutnya masing-masing sumuran diisi dengan larutan uji, lalu diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C. Diamati zona hambat yang terbentuk dan

diukur daerah hambatan dengan menggunakan mikrometer skrup. Selanjutnya dibandingkan hasil daya hambat yang terbentuk antara sampel dengan kontrol negatif.

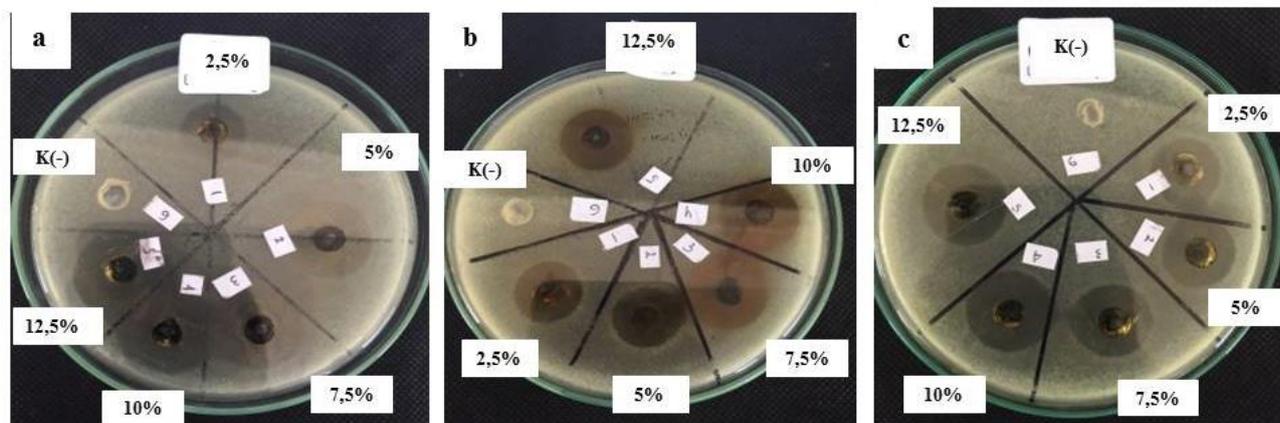
■ Hasil dan Pembahasan

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak 3 tahap yaitu pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau, pengujian aktivitas antibakteri madu, dan pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan madu. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau, digunakan 5 variasi yaitu 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, dan 12,5 %. Pada 5 variasi konsentrasi tersebut didapatkan aktivitas antibakteri daun sirih hijau yang menggunakan metode difusi agar dan hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*

| Pengujian | Nilai Diameter Luas Zona Hambat (mm) | | | | | |
|-------------|--------------------------------------|--------|-------|--------|-------|---------|
| | Kontrol negatif (-) | E 2,5% | E 5% | E 7,5% | E 10% | E 12,5% |
| Replikasi 1 | 0 | 11 | 15 | 16 | 16 | 13 |
| Replikasi 2 | 0 | 12 | 13 | 13 | 14 | 16 |
| Replikasi 3 | 0 | 11 | 12 | 13 | 14 | 14 |
| Rata-rata | 0 | 11,34 | 13,34 | 14 | 14,67 | 14,34 |

Keterangan: E= Ekstrak



Gambar 1. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (a) Replikasi 1, (b) Replikasi 2, dan (c) Replikasi 3. K(-) adalah Kontrol Negatif.

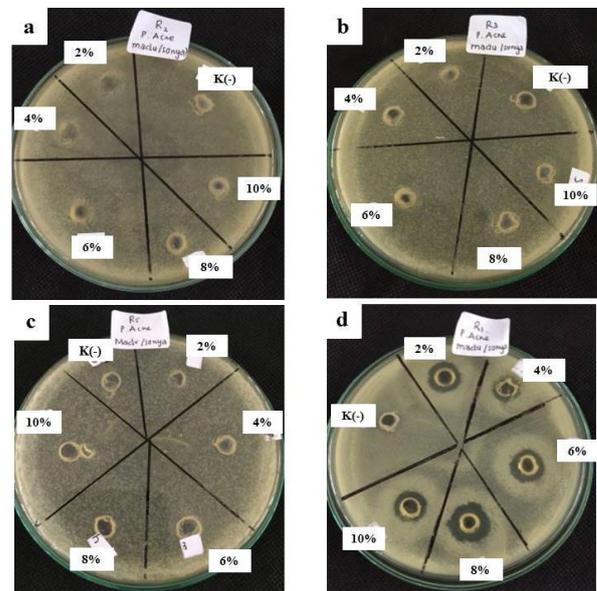
Ekstrak etanol daun sirih hijau mampu memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening sebagai zona hambat bakteri yang terlihat pada gambar dan tabel diatas. Peningkatan aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun sirih hijau ditunjukkan dari konsentrasi 2,5% hingga 10% dengan nilai rata-rata berkisar antara 11-14 mm untuk diameter luas daya hambatnya. Konsentrasi 10% merupakan konsentrasi efektif dengan zona hambat terbesar yaitu 14,67 mm kemudian pada konsentrasi 12,5% aktivitas antibakteri mengalami penurunan yaitu 14,3 mm. Berikut adalah kategori kekuatan aktivitas antibakteri yang dapat dilihat pada Tabel 2 [9].

Tabel 2. Kategori Kekuatan Aktivitas Antibakteri

| Diameter zona hambat (mm) | Kategori |
|---------------------------|-------------|
| >20 mm | Sangat kuat |
| 10-20 mm | Kuat |
| 5-10 mm | Lemah |

Sehingga dari zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol daun sirih hijau termasuk ke dalam kategori kuat. Sedangkan, penurunan aktivitas antibakteri ini diduga karena pengaruh peningkatan

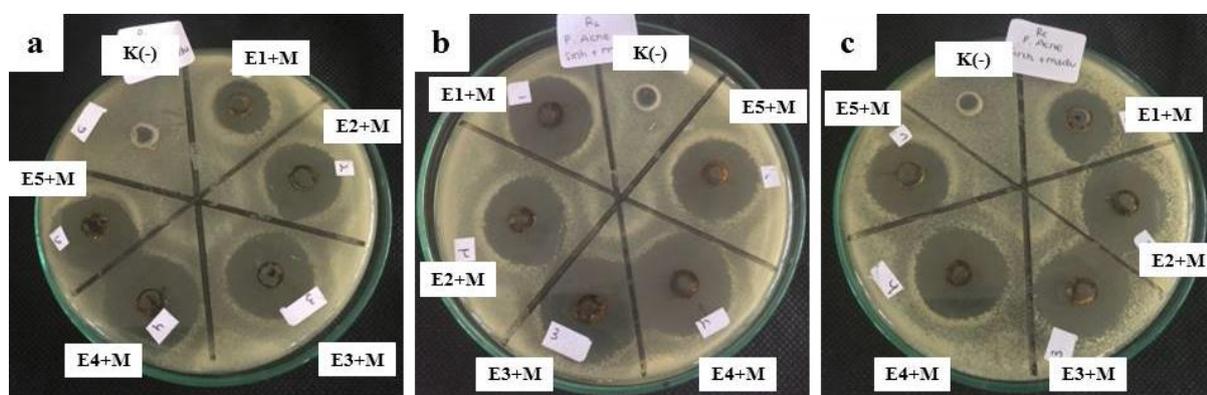
viskositas larutan ekstrak karena meningkatnya konsentrasi, sehingga larutan ekstrak belum terdifusi dengan baik dalam media agar.



Gambar 2. Uji aktivitas antibakteri madu terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (a) Replikasi 1, (b) Replikasi 2, (c) Replikasi 3, dan (d) Replikasi 1-3 (madu 100%).

Tabel 3. Hasil Pengukuran Rata-Rata Diameter Zona Hambat Madu Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*

| Pengujian | Nilai Diameter Luas Zona Hambat (mm) | | | | | | |
|-------------|--------------------------------------|---------|---------|---------|---------|----------|-----------|
| | Kontrol negatif (-) | Madu 2% | Madu 4% | Madu 6% | Madu 8% | Madu 10% | Madu 100% |
| Replikasi 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4,33 |
| Replikasi 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5,06 |
| Replikasi 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7,35 |
| Rata-rata | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5,58 |



Gambar 3. Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan madu terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (a) Replikasi 1, (b) Replikasi 2, (c) Replikasi 3. K(-) = Kontrol negatif, E1 = Ekstrak daun sirih hijau 2,5%, E2 = Ekstrak daun sirih hijau 5%, E3 = Ekstrak daun sirih hijau 7,5%, E4 = Ekstrak daun sirih hijau 10%, E5 = Ekstrak daun sirih hijau 12,5%, dan M = Madu dengan konsentrasi 100%

Tabel 4. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan madu terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*

| Pengujian | Nilai Diameter Luas Zona Hambat (mm) | | | | | |
|-------------|--------------------------------------|-----------------|---------------|-----------------|----------------|------------------|
| | Kontrol negatif (-) | E 2,5% + M 100% | E 5% + M 100% | E 7,5% + M 100% | E 10% + M 100% | E 12,5% + M 100% |
| Replikasi 1 | 0 | 8,67 | 13,76 | 15,09 | 17,00 | 14,17 |
| Replikasi 2 | 0 | 14,94 | 14,79 | 16,99 | 16,79 | 15,21 |
| Replikasi 3 | 0 | 11,83 | 14,82 | 15,86 | 16,52 | 14,67 |
| Rata-rata | 0 | 11,81 | 14,45 | 15,98 | 16,77 | 14,68 |

Keterangan:

E : Ekstrak

M : Madu

Pada pengujian aktivitas antibakteri madu digunakan 6 variasi konsentrasi yaitu 2%, 4%, 6%, 8%, 10% dan 100%. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat madu dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel 3. Dari pengujian yang dilakukan diketahui bahwa pada konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% tidak menghasilkan zona hambat.

Sedangkan pada konsentrasi madu 100% yang tidak dilakukan pelarutan dengan Na.CMC menghasilkan zona hambat dengan nilai rata-rata yaitu 5,58 mm sehingga termasuk dalam kategori lemah.

Dari hasil yang diperoleh maka dikombinasi masing-masing ekstrak etanol sirih hijau dengan madu pada konsentrasi 100% yang memiliki aktivitas antibakteri. Sehingga terdapat 5 variasi yaitu ekstrak 2,5% dan madu 100%, ekstrak 5% dan madu 100%, ekstrak 7,5% dan madu 100%, ekstrak 10% dan madu 100%, ekstrak 12,5% dengan madu 100%. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat dapat dilihat pada Gambar 3 dan Tabel 4.

Dari data yang diperoleh dapat diketahui bahwa peningkatan aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan madu ditunjukkan dari konsentrasi ekstrak 2,5% hingga ekstrak 10% dengan masing-masing dikombinasi madu 100% dan nilai rata-rata berkisar antara 11-16 mm untuk diameter luas daya hambatnya sehingga termasuk dalam kategori kuat.

Pada kombinasi dengan konsentrasi ekstrak 12,5% dan madu 100% mengalami penurunan aktivitas antibakteri yaitu 14,68 mm. Hasil penurunan aktivitas pada konsentrasi ini sesuai dengan hasil uji aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun sirih hijau yang juga mengalami penurunan pada konsentrasi tersebut. Hasil penurunan dari kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau 12,5% dan madu 100% ini dapat disebabkan karena peningkatan viskositas larutan karena meningkatkan konsentrasi ekstrak. Selain itu, madu dengan konsentrasi 100%

yang juga memiliki viskositas yang tinggi sehingga hasil larutan uji memiliki viskositas yang tinggi dan menyebabkan larutan uji belum terdifusi baik di dalam media agar.

■ Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau pada konsentrasi 10% yang dikombinasi dengan madu 100% memberikan zona hambat terbaik yaitu 16,77 mm dan termasuk dalam kategori kuat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

■ Daftar Pustaka

- [1] Damayanti RM. 2008. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab Dari Masa Ke Masa*. Jakarta: PT Argo Media Pustaka.
- [2] Ajibola A, Chamunorwa JP, Erlwanger KH. 2012. *Nutraceutical Values of Natural Honey and Its Contribution to Human Health and Wealth*. BioMed Central. Hal: 1–12
- [3] Movita, Theresia. 2013. *Acne vulgaris*. Volume 40. No 3. DOI:10.1016/j.mpmed.2017.03.003
- [4] Knutsen-Larson, S., A. L. Dawson, C. A. Dunnick, dan R. P. Dellavalle. (2012). *Acne vulgaris: Pathogenesis, treatment, and needs assessment*. Page: 99-106.
- [5] Kumari OS, Nirmala BR. 2015. Phyto Chemical Analysis of Piper Betel Leaf Extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS)* vol 4 (1) : 699-703.
- [6] Zulhawa DJ, Dewi NH. 2014. *Daya Hambat Madu Sumbawa Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus Isolat Infeksi Luka*

- Operasi*. Volume 12:40–44. DOI: 10.13057/biofar/f120105
- [7] Putra, I.M.D.S, Yustiantara, I.P.S, Paramita N.L.P.V. 2014. *Ekstrak etanol daun. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Propionibacterium Acne dari Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle L) Dataran Rendah dan Dataran Tinggi*. Universitas Udayana. Bali.
- [8] Julianti E, Rajah KK, Fidrianny I. 2017. *Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Cinnamon Bark, Honey, and Their Combination Effects against Acne-Causing Bacteria*. DOI: 10.3390/scipharm85020019
- [9] Davis, W. W. dan T. R. Stout. 1971. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. *Microbiology*. 22: 659-665.