

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF COMBINATION OF BETEL LEAF EXTRACT (*PIPER BETLE*) AND KERSEN LEAF EXTRACT (*MUNTINGIA CALABURA*) AGAINST *ESCHERICHIA COLI* BACTERIA

Ardy Tanfil. T^{1*}, Ema Hermawati¹, Ahmad Subagiyo²

¹Department of Biology, Faculty of Pharmacy, Universitas Medika Suherman, Cikarang Utara, Bekasi, 17530, Indonesia

²Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Medika Suherman, Cikarang Utara, Bekasi, 17530, Indonesia

Article info

Received: 03/06/2022

Review: 17/06/2022

Available online: 30/09/2022

Corresponding Author:

Ardy Tanfil. T

Department of Biology, Faculty of Pharmacy, Universitas Medika Suherman, Cikarang Utara, Bekasi, Indonesia

email: ardytanfill@gmail.com

ABSTRACT

Escherichia coli or commonly referred to as *E. coli* is a Gram-negative bacterium that can cause various problems in the human body, the mechanism of resistance built by *E. coli* to antibiotics is a reason for the need to look for compounds that have antibacterial potential. Betel leaf and cherry leaf are two types of plants that have the potential to have compounds that can be developed as antibacterial, this study tested the two types of plants using the disc diffusion method. The compounds identified in this plant are alkaloids, saponins, and flavonoids. These three compounds are thought to provide strong antibacterial activity in the samples, although further research is still needed to confirm this.

Keyword:

Antibacterial, *Piper betle*, *Muntingia calabura*, *Escherichia coli*



Copyright ©2022 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Escherichia coli atau yang biasa disebut dengan *E. coli* adalah bakteri Gram-negatif, bakteri jenis ini mudah mengalami perubahan genetik secara alami alami dan perubahan genetik yang terjadi umumnya terjadi secara acak. Ada banyak jenis genom *E. coli* yang diurutkan dan menunjukkan ukuran dan keragaman genom yang berbeda di antara komensal dan patogen. *Escherichia coli* terdiri dari bakteri non-patogen yang dapat bertindak sebagai komensal dan termasuk dalam mikrobiota usus normal manusia dan

banyak hewan. Namun ada juga varian *Escherichia coli* yang dapat bersifat sebagai patogen, varian yang bersifat sebagai patogen tersebut dapat dibagi sebagai patogen diaregenik dan ekstraintestinal, dengan patotipe yang berbeda dan berbagai strain hibrida alami¹.

Dari berbagai patotipe *E. coli* beberapa penyakit yang dapat disebabkan oleh bakteri ini diantaranya adalah gangguan inflamasi idiopatik, penyakit radang usus, penyakit chron atau yang dikenal juga sebagai penyakit radang usus kronis yang memengaruhi lapisan saluran

pencernaan². Resistensi antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* telah menjadi masalah yang cukup mengkhawatirkan dalam dunia kedokteran diseluruh dunia. *E. coli* secara intrinsik rentan terhadap hampir semua agen antimikroba yang relevan secara klinis, tetapi spesies bakteri ini memiliki kapasitas besar untuk mengakumulasi gen resistensi, sebagian besar melalui transfer gen horizontal. Mekanisme yang paling bermasalah pada *E. coli* berhubungan dengan perolehan gen yang mengkode β -laktamase spektrum luas (menghasilkan resistensi terhadap sefalosporin spektrum luas), karbapenemase (menghasilkan resistensi terhadap karbapenem), 16S rRNA metilase (mengakibatkan resistensi pan terhadap aminoglikosida), gen resistensi kuinolon yang dimediasi plasmid (PMQR) (memberikan resistensi terhadap fluoro-kuinolon), dan gen *mcr* (memberikan resistensi terhadap polimiksin)³.

Melihat banyaknya potensi resistensi antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, perlu dilakukan pencarian agen antibakteri baru. Dua dari banyak jenis tumbuhan yang memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri adalah Daun Sirih (*Piper betle*) dan Daun Kersen (*Muntingia calabura*).

Daun sirih merupakan tanaman obat yang telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai anti kandidiasis vagina atau oral. Pemanfaatan bakteri endofit dari tanaman obat memiliki cara baru untuk mendapatkan senyawa antibakteri tanpa harus mengekstrak langsung dari tanaman obat⁴. Ekstrak air daun sirih dengan konsentrasi 20% diketahui dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*⁵.

Daun kersen merupakan tanaman obat yang telah diketahui secara jelas mengandung berbagai metabolit sekunder yang memiliki potensi memberikan efek farmakologi, tumbuhan yang tumbuh dengan ketinggian sekitar 7,5–12 m ini telah dihubungkan sebagai agen dari berbagai jenis patogen, salah satunya sebagai agen antibakteri⁶. Berdasarkan latar belakang tersebut, kami tertarik untuk melihat potensi antibakteri kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*.

METODE

Alat dan Bahan

Alat dan bahan utama yang digunakan dalam penelitian harus ditulis dengan cara ilmiah, yaitu rasional, empiris dan sistematis. Sampel yang diambil wajib mencantumkan asalnya.

Metode Ekstraksi

Sampel berupa daun sirih dan daun kersen masing-masing dibuat dalam bentuk simplisia dengan pengeringan pada suhu 60°C, suhu 60°C dipilih sesuai dengan pedoman Farmakope Herbal Indonesia. Masing-masing sampel diekstraksi dengan metode maserasi. Singkatnya, sebanyak 100 gram ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Etanol 96% ditambahkan sampai simplisia terendam seluruhnya. Kemudian dibiarkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring dan dipisahkan residu dan filtratnya. residu dimaserasi kembali hingga larutan etanol jernih. Filtrat dikumpulkan dan untuk memperoleh ekstrak pekat digunakan alat rotary evaporator⁷.

Skrining Fitokimia

Alkaloid

Ekstrak dilarutkan ke dalam (HCl 2M) (2,5 mL) ditambahkan diperlakukan dengan reagen (Wagner, Dragendorff, dan Mayer) (0,5 mL), apabila terdapat endapan ketika pereaksi ditambahkan maka identifikasi menunjukkan sampel mengandung alkaloid⁸.

Saponin

Ekstrak dilarutkan menggunakan air (4 ml) dalam tabung reaksi, larutan kemudian dikocok selama 2 menit; apabila buih dengan tinggi 5 cm terbentuk dalam waktu

sekitar 10 menit maka sampel terindikasi berpotensi mengandung senyawa saponin⁸.

Flavonoid

Ekstrak dilarutkan menggunakan asam klorida (HCl 2M) (3 mL), natrium hidroksida (NaOH) (1,5 mL) ditambahkan ke dalam tabung reaksi, endapan warna kuning atau berwarna kekuningan menunjukkan sampel teridentifikasi berpotensi mengandung flavonoid⁸.

Metode Uji Antibakteri

Metode difusi cakram digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba dari masing-masing ekstrak tumbuhan (ekstrak daun sirih dan ekstrak daun kersen). ekstrak (50 mg) dilarutkan dalam 2,5 ml etanol, disterilkan melalui saringan Millipore (0,22 mm) kemudian dimuat di atas kertas saring steril (diameter 8 mm) untuk mendapatkan konsentrasi akhir 10 mg/cakram. Sepuluh ml media agar Mueller-Hilton dituangkan ke dalam cawan Petri steril (sebagai lapisan basal) diikuti dengan 15 ml media benih yang sebelumnya diinokulasi dengan suspensi bakteri (100 ml medium/1 ml 10⁷ CFU) untuk mencapai 10⁵ CFU /ml sedang. Cakram kertas saring steril yang berisi ekstrak tumbuhan konsentrasi (10 mg/ml) ditempatkan di atas pelat agar Mueller-Hilton. Cakram kertas saring yang diisi dengan 5 mg Gentamycin digunakan sebagai kontrol positif. Piring disimpan di

Tabel 1. Skrining Fitokimia Daun Sirih (*Piper betle*) dan Daun Kersen (*Muntingia calabura*)

Sampel	Senyawa	Hasil
Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i>)	Alkaloid	+
	Saponin	+
	Flavonoid	+
Ekstrak Daun Kersen (<i>Muntingia calabura</i>)	Alkaloid	+
	Saponin	+
	Flavonoid	+

lemari es pada suhu 5 ° C selama 2 jam. untuk memungkinkan difusi ekstrak tumbuhan kemudian diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Adanya zona hambat diukur dengan jangka sorong, dicatat dan dianggap sebagai indikasi aktivitas antibakteri⁹. Kombinasi antara ekstrak daun sirih dan ekstrak daun kersen dibuat dengan konsentrasi (1:1).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak

Kedua sampel memiliki tekstur ekstrak yang pekat dengan warna gelap dan sedikit kecoklatan. Ekstrak daun sirih dipekatkan selama 26 jam dengan perolehan persen rendamen sebesar 17,2%, sedangkan ekstrak daun kersen dipekatkan selama 28 jam dengan perolehan rendamen sebesar 14,2%. Perbedaan hasil pemekatan dengan total rendamen mungkin saja dipengaruhi oleh tekstur simplisia yang berbeda diantara keduanya, walaupun demikian, hal ini tidak dapat dijadikan kesimpulan tunggal. Perlu dilakukan

penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mengapa hal ini terjadi.

Skrining Fitokimia

Skrining Fitokimia dilakukan pada masing-masing ekstrak. Alkaloid, Saponin, dan Flavonoid dipilih untuk diidentifikasi berdasarkan riset-riset sebelumnya yang telah mengkonfirmasi bahwa ketiga jenis senyawa ini berpotensi bertindak sebagai antibakteri. Adapun hasil dari ketiga senyawa ini pada kedua sampel yang kami uji dinyatakan positif seperti yang tertera pada tabel 1.

Hasil positif yang menunjukkan kandungan Alkaloid pada Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Daun Kersen menandakan hal yang bagus dikarenakan alkaloid telah banyak dijadikan riset dan memang berpotensi sebagai antibakteri. Mekanisme antibakteri utama Alkaloid termasuk penghambatan sintesis dinding sel bakteri, perubahan permeabilitas membran sel, penghambatan metabolisme bakteri, dan penghambatan asam nukleat dan sintesis protein¹⁰. Walaupun tidak secara pasti diketahui jenis alkaloid yang terdapat

Tabel 2. Analisis Aktivitas Antibakteri Daun Sirih (*Piper betle*) dan Daun Kersen (*Muntingia calabura*) secara difusi cakram

Sampel	K (%)	Diameter Rata-Rata Zona Hambat (mm)
Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i>)	5	11
	10	15.2
	15	16.5
Ekstrak Daun Kersen (<i>Muntingia calabura</i>)	5	10.8
	10	13.7
	15	17.2
Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i>) dan Ekstrak Daun Kersen (<i>Muntingia calabura</i>)	5	18.3
	10	28.5
	15	29.8

pada kedua jenis ekstrak tersebut dan juga tidak diketahui apakah ada sinergitas diantara jenis alkaloid tersebut yang menunjukkan adanya aktivitas pengujian antibakteri pada bakteri *E. coli*.

Selain alkaloid, saponin dan flavonoid juga telah banyak mengalami riset dalam bidang mikrobiologi. Dalam salah satu riset, saponin diduga bekerja secara sinergis dengan antibiotik dalam mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme¹¹. Sementara Flavonoid dikenal sebagai agen antibakteri terhadap berbagai mikroorganisme patogen. Mekanisme anti bakteri pada Flavonoid telah dihipotesiskan dengan berbagai cara diantaranya; penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma, penghambatan metabolisme energi, penghambatan perlekatan dan pembentukan biofilm, penghambatan porin pada membran sel, perubahan permeabilitas membran, dan atenuasi patogenisitas¹².

Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram, berdasarkan hasil pengujian dapat terlihat bahwa tidak ada signifikansi antara Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) pada dosis tunggal seperti yang tertera pada tabel 2.

Tabel 1. Analisis Aktivitas Antibakteri Daun Sirih (*Piper betle*) dan Daun Kersen (*Muntingia calabura*) secara difusi cakram

Keterangan : K = Kosentrasi sampel, *EC* = *Eschericia coli*.

Walaupun tidak terdapat perbedaan yang signifikan, tiga konsentrasi yang diujikan yakni konsentrasi 5%, 10%, dan 15% menunjukkan aktivitas antibakteri kuat sesuai dengan parameter Davis and Stout (1971)¹³. Sementara kombinasi ekstrak daun sirih dan ekstrak daun kersen dengan perbandingan (1:1) menunjukkan aktivitas

antibakteri yang sangat kuat jika merujuk pada parameter yang sama. Namun, kita belum bisa mengambil kesimpulan akhir dari hasil percobaan ini dikarenakan banyak variabel yang mungkin saja mempengaruhi, termasuk kandungan metabolit sekunder yang bisa saja berbeda dari kedua jenis sampel jika diambil dari tempat yang berbeda.

KESIMPULAN

Berdasarkan Hasil penelitian kami, Kombinasi Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Daun Kersen diketahui berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Walaupun demikian, perlu penelitian lebih lanjut untuk mengkonfirmasi hal ini. Penelitian lebih lanjut dapat berupa replikasi penelitian, mencari tahu senyawa utama yang bersinergi dalam menghambat bakteri *E.Coli*, dan mengidentifikasi persentase kandungan senyawa tersebut pada masing-masing ekstrak dengan menggunakan instrumen seperti HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 123–140.
2. Pakbin B, Brück WM, Rossen JWA. Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* ; 22. Epub ahead of print 2021. DOI: 10.3390/ijms22189922.
3. Laurent P, Jean-Yves M, Agnese L, et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr* 2018; 6: 6.4.14.
4. Row L-CM, Ho J-C. The Antimicrobial Activity, Mosquito Larvicidal Activity, Antioxidant Property and Tyrosinase Inhibition of Piper Betle. *J Chinese Chem Soc* 2009; 56: 653–658.
5. Surjowardojo P, Setyowati E, Ambarwati I. Antibacterial Effects of Green Betel (*Piper betle* Linn.) Leaf Against. *AGRIVITA J Agric Sci* 2019; 41: 569–574.
6. Mahmood ND, Nasir NLM, Rofiee MS, et al. *Muntingia calabura*: A Review Of Its Traditional Uses, Chemical Properties, and Pharmacological Observations. *Pharm Biol* 2014; 52: 1598–1623.
7. Amelinda E, Widarta IWR, Darmayanti Ipt. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *J Ilmu dan Teknol Pangan* 2018; 7: 165.
8. Hassan A, Akmal Z, Khan N, et al. The Phytochemical Screening and Antioxidants Potential of *Schoenoplectus triqueter* L. Palla. *J Chem*; 2020. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.1155/2020/3865139.
9. Mostafa AA, Al-Askar AA, Almaary KS, et al. Antimicrobial Activity Of Some Plant Extracts Against Bacterial Strains Causing Food Poisoning Diseases. *Saudi J Biol Sci* 2018; 25: 361–366.
10. Yan Y, Li X, Zhang C, et al. Research Progress On Antibacterial Activities and Mechanisms Of Natural Alkaloids: A Review. *Antibiotics*; 10. Epub ahead of print 2021. DOI: 10.3390/antibiotics10030318.

11. Tagousop CN, Tamokou J de D, Kengne IC, et al. Antimicrobial Activities Of Saponins from *Melanthera elliptica* And Their Synergistic Effects With Antibiotics Against Pathogenic Phenotypes. *Chem Cent J* 2018; 12: 1–9.
12. Xie Y, Yang W, Tang F, et al. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry* 2015; 22: 132–149.
13. Fitri L, Bustam Bm. Screening of antimicrobial producing strains isolated from the soil of grassland rhizosphere in Pocut Meurah Intan Forest Park, Seulawah, Aceh Besar. *Biodiversitas J Biol Divers*; 11. Epub ahead of print 2010. DOI: 10.13057/biodiv/d110305.