

**Efek Antimikroba Infusa Biji Pinang (*Areca catechu* Linn.), Daun Sirih (*Piper betle* Linn) dan Kombinasinya Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro**

Sherrina O. Gosandra,<sup>1</sup> Djaja Rusmana,<sup>1\*</sup> Wahyu Widowati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha Bandung

<sup>2</sup>Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha Bandung

**Abstrak**

*Staphylococcus aureus* menjadi bakteri penyebab utama terjadinya abses di rongga mulut. Frekuensi dental abses di dunia mulai dari 0,7% sampai 15% dan 14% di Indonesia. Biji pinang (*Areca catechu* L.) dan Daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki aktivitas antimikroba. Tujuan penelitian ini adalah menilai aktivitas antimikroba dari infusa biji pinang, daun sirih dan kombinasinya terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik metode difusi dengan metode Kirby-Bauer. Penelitian ini dilakukan triplo. Rerata zona inhibisi terbesar terdapat pada ciprofloxacin (25,46±0,19 mm), diikuti infusa biji pinang 6% (11,76±0,96 mm), 8% (11,60±0,64 mm), 10% (11,38±0,96 mm), kombinasi infusa biji pinang 6% dan daun sirih (10,88±0,72mm), infusa daun sirih (9,82±0,81 mm), kombinasi infusa biji pinang 8% dan daun sirih (8,66±0,41 mm), dan kombinasi infusa biji pinang 10% dan daun sirih (8,54±1,23 mm). Simpulan penelitian infusa biji pinang 6%, 8%, 10%, infusa daun sirih, dan kombinasinya memiliki efek antimikroba terhadap *S. aureus*.

**Kata Kunci:** biji pinang; daun sirih; antimikroba; *Staphylococcus aureus*

**Antimicrobial Activity of Areca Nut Seed (*Areca catechu* Linn.), Betel Leaf (*Piper betel* Linn.) and Their Combination against *Staphylococcus aureus* In Vitro**

**Abstract**

*Staphylococcus aureus* is the main cause of abscesses in the oral cavity. The frequency of dental abscesses in the world ranges from 0.7% to 15% and 14% in Indonesia. Areca nut (*Areca catechu* L.) and Betel leaf (*Piper betle* L.) has antimicrobial activity. The purpose of this study was to measure the inhibition zone from infusion of areca nut, betel leaf and their combination against *Staphylococcus aureus* and is expected to be a complementary therapy. This research is a laboratory experimental study using the Kirby-Bauer method of diffusion. This research was conducted in triplo. The largest mean zone of inhibition was found in ciprofloxacin (25.46±0.19 mm), followed by areca nut infusion 6% (11.76±0.96 mm), 8% (11.60±0.64 mm), 10% (11.38±0.96 mm), combination of betel leaf infusion and 6% areca nut (10.88±0.72mm), betel leaf infusion (9.82±0.81 mm), combination of betel leaf and 8% areca nut (8.66±0.41 mm), and combination of 10% areca nut infusion and betel leaf (8.54±1.23 mm). The conclusion of this research was that betel nut infusion 6%, 8%, 10%, betel leaf infusion, and their combination have antimicrobial effect against *S.aureus*.

**Keywords:** areca nut; betel leaf; antimicrobial; *Staphylococcus aureus*

\*DR: Penulis Koresponden; Email: jayarusmana67@gmail.com

## Pendahuluan

Abses dental adalah kumpulan nanah (pus) terlokalisasi yang berhubungan dengan gigi. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab abses di rongga mulut. Angka kejadian abses dental berkisar antara 0,7% sampai 15%. Mayoritas masalah kesehatan mulut yang dialami penduduk Indonesia adalah gusi bengkak dan/atau abses sebesar 14%. Abses dental yang tidak diterapi dapat meluas ke jaringan lunak hingga tulang.<sup>1</sup>

Biji pinang (*areca nut*) merupakan endosperma buah pinang (*Areca catechu* Linn.) yang termasuk famili Arecaceae. Salah satu fungsi biji pinang adalah sebagai antibakterial.<sup>2</sup>

Sirih (*Piper betle* Linn) merupakan jenis tanaman rambat yang termasuk dalam famili Piperaceae, dan sering digunakan sebagai tanaman obat dan dimanfaatkan sebagai terapi komplementer penyakit yang disebabkan bakteri *S. aureus* karena memiliki daya antimikroba yang baik.<sup>3</sup>

Pada tulisan ini dilaporkan hasil penelitian tentang perbandingan efek antimikroba antara biji pinang, sirih dan kombinasinya keduanya terhadap *S. aureus*. Efek yang diharapkan dengan kombinasi infusa daun sirih dan biji pinang untuk didapatkan potensi antimikroba yang lebih maksimal.

## Bahan dan Cara

Jenis penelitian yang digunakan bersifat studi eksperimental laboratorik. Metode yang dipakai adalah difusi cakram/ *Kirby-Bauer disk diffusion method* dikutip dari Hombach *et al.*<sup>4</sup>

Pembacaan hasil dengan mengukur zona hambat *S. aureus* yang dibiak pada agar Mueller Hinton (MHA). Bahan yang digunakan berupa *mannitol salt agar/MSA* (Oxoid™), *mueller hinton agar* (Oxoid™), *trypticase soy agar/TSA* (Oxoid™), *trypticase soy broth* (Oxoid™), gliserol

20%, saringan kertas (Kova), cakram kertas kosong (Oxoid™), dan cakram yang berisi siprofloksasin 5 µg (Oxoid™).

## Pengumpulan Bahan Uji

Bakteri yang digunakan adalah *S. aureus* ATCC® 29213™ yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Serbuk biji pinang didapatkan dari Kalibawang, Kabupaten Kulonprogo dan serbuk daun sirih didapatkan dari Kabupaten Karang Anyar.

## Identifikasi Bakteri Uji

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis setelah dilakukan pewarnaan Gram, tes katalase, biakan agar darah, dan biakan pada MSA.

## Pembuatan Infusa Biji Pinang

Serbuk kering biji pinang sebanyak 6g, 8g 10g masing-masing dimasukkan ke dalam tabung berisi 100 ml akuades untuk diolah menjadi larutan infusa dengan konsentrasi 6%, 8% dan 10%. Selanjutnya campuran dipanaskan di atas penangas air pada suhu 90°C selama 15 menit. Volume rebusan disesuaikan hingga mencapai volume 100 ml dengan penambahan akuades panas. Selanjutnya larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring, ditampung dalam gelas Erlenmeyer 100 ml dan ditutup rapat.

## Pembuatan Infusa Daun Sirih

Serbuk daun sirih sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam tabung berisi 100 ml akuades untuk diolah menjadi larutan infusa dengan konsentrasi 10%. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam panci infusa dan dipanaskan di atas penangas air pada suhu 90°C selama 15 menit. Volume rebusan disesuaikan menjadi 100 ml dengan

menambahkan akuades panas Larutan infusa 10% diuapkan sampai mendapat konsentrasi 100%, lalu di masukkan ke dalam gelas Erlenmeyer 100 ml yang ditutup secara rapat.

### **Pembuatan Kombinasi Infusa Biji Pinang dan Daun Sirih**

Cara pembuatan infusa sama seperti prosedur pada pembuatan infusa daun sirih dan biji pinang, kemudian keduanya dikombinasikan dengan perbandingan 1:1.

### **Pembuatan Suspensi Bakteri Uji**

Diambil 4-5 koloni dari TSA menggunakan ose dan diinokulasikan ke tabung berisi 5 ml cairan NaCl fisiologis, kemudian dihomogenisasi dengan vorteks. Suspensi disetarakan dengan standar 0,5 McFarland ( $0,20 \times 10^8$  CFU/mL).

### **Uji Kepekaan Antimikroba**

Uji kepekaan antimikroba dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer disk diffusion*. Caranya; kapas lidi steril dimasukkan ke dalam suspensi, kemudian di inokulasikan di seluruh permukaan MHA. Selanjutnya cakram uji steril diletakkan yang telah ditetesi infusa biji pinang 6%, 8%, 10%, infusa daun sirih 100%, dan kombinasinya. Percobaan dilakukan secara triplo dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam.

Pengukuran zona inhibisi dilakukan menggunakan jangka sorong pada masing-masing cakram kemudian hasilnya dibagi tiga untuk mendapatkan nilai rerata. Data disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis secara deskriptif. Ukuran diameter zona inhibisi pertumbuhan *S. aureus* oleh siprofloksasin dipakai sebagai kontrol positif menurut standar Clinical Laboratory Standard institute (CLSI) *Staphylococcus aureus* dianggap resisten jika diameter zona inhibisi yang terbentuk  $\leq 15$  mm, intermediet 16-20 mm, dan sensitif  $\geq 21$  mm.<sup>5</sup>

## **Hasil**

### **Identifikasi Ulang Bakteri Uji**

Untuk memastikan bahwa koloni ATCC® 29213™ adalah koloni murni tanpa kontaminasi dilakukan identifikasi ulang terhadap galur tersebut. Pada pewarnaan Gram ditemukan kokus gram positif, sementara uji katalase ditemukan gelembung udara (positif), sehingga disimpulkan bakteri yang diidentifikasi adalah *Staphylococcus* sp. Hasil biakan menggunakan agar darah tumbuh koloni kuman yang berwarna kuning keemasan karena terbentuknya hemolisis tipe beta di sekitar koloni. Pada biakan MSA tumbuh koloni kuman berwarna putih kekuningan dikelilingi zona berwarna kuning. Sehingga dari ke tiga pemeriksaan tersebut disimpulkan bahwa bakteri tersebut adalah murni *S. aureus*. ATCC® 29213™

### **Uji Aktivitas Antimikroba**

**Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba**

Cakram	Rata-rata Zona Inhibisi (mm)
Kontrol positif (siprofloksasin)	25,5±0,2
Infusa biji pinang 6%	11,8±1
Infusa biji pinang 8%	11,6±0,6
Infusa biji pinang 10%	11,4±1
Infusa daun sirih 100%	9,8±0,8
Infusa daun sirih 100% & infusa biji pinang 6%	10,9±0,7
Infusa daun sirih 100% & infusa biji pinang 8%	8,7±0,4
Infusa daun sirih 100% & infusa biji pinang 10%	8,5±1,2
Kontrol negatif	0

Uji kepekaan *S. aureus* menggunakan infusa daun sirih maupun biji pinang menunjukkan bahwa baik tunggal maupun kombinasi, mempunyai efek antimikroba (Tabel 1).

Kontrol pembanding siprofloksasin (kontrol positif) mempunyai rata-rata diameter zona inhibisi sebesar 25,46 mm yang berarti *S. aureus* yang digunakan masih sensitif terhadap siprofloksasin dan sistem yang digunakan berjalan baik.

## Diskusi

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa infusa daun sirih dan infusa biji pinang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Standar CLSI, zona inhibisi untuk siprofloksasin dapat dinyatakan dengan menilai respons terhadap obat. Diameter zona inhibisi berukuran >20 mm memiliki respons sangat kuat, diameter zona hambat 11-20 mm termasuk respons kuat, zona inhibisi 5-10 mm memiliki respons sedang dan zona inhibisi <5 mm berarti memiliki respons lemah. Hasil penelitian ini, didapatkan rata-rata zona inhibisi infusa daun sirih adalah 9,8 mm (respons sedang) yang berarti ada efek antimikroba terhadap *S. aureus* tetapi responsnya lebih rendah dibandingkan kontrol.

Hasil ini lebih kecil bila dibandingkan dengan hasil penelitian Ratnaningsih *et al.*,<sup>6</sup> yang meneliti uji efek anti bakteri infusa daun sirih hijau (*Piper betle L.*) terhadap *S. aureus* dengan metode difusi cakram dengan konsentrasi 100%. Pada penelitian tersebut didapatkan diameter rata-rata zona inhibisi sebesar 18,9 mm. Hal itu mungkin disebabkan perbedaan kondisi geografis tempat bahan herbal ditanam yang menyebabkan perbedaan kandungannya sehingga terjadi perbedaan diameter zona inhibisi. Selain itu hal tersebut mungkin disebabkan oleh perbedaan galur *S. aureus* yang dipakai.

Hasil penelitian infusa biji pinang pada konsentrasi 6%, 8%, dan 10% didapatkan masing-masing zona inhibisi berturut-turut 11,8 mm, 11,6 mm, dan 11,4 mm. Penelitian Wael *et al.*, pada tahun 2017 tentang daya hambat infusa biji pinang (*Areca catechu L.*) terhadap *S. aureus* adalah 18 mm pada konsentrasi 6%. Terdapat perbedaan antara penelitian tersebut dengan penelitian ini yang mungkin disebabkan perbedaan metode. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram sedangkan pada Wael *et al.*, menggunakan metode sumur yang diisi infusa. Selain itu perbedaannya mungkin juga terletak pada galur *S. aureus* yang digunakan, ketebalan media MHA dan asal tanam yang digunakan. Perbedaan ketebalan agar dan tempat tanaman berasal juga akan memberikan hasil berbeda.<sup>7</sup>

Pada penelitian ini, didapatkan bahwa konsentrasi infusa biji pinang tidak berbanding lurus dengan diameter zona hambat yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang makin besar tidak memberikan daya hambat yang lebih besar. Kemungkinan konsentrasi 6% adalah konsentrasi dengan efek antimikroba yang maksimal. Kemungkinan lain karena kepekaan infusa daun pinang 8% dan 10% mengakibatkan daya difusi pada media MHA berkurang. Sehingga meskipun konsentrasi bertambah, namun zat bioaktif yang berdifusi ke dalam medium tidak bertambah, yang mempengaruhi respons kuman terhadap obat dan terlihat sebagai ukuran zona inhibisi yang tetap.<sup>8</sup>

Kombinasi infusa daun sirih 100% dan infusa biji pinang 6%, 8%, dan 10% berturut-turut adalah 10,88 mm, 8,66 mm, dan 8,54 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi infusa daun sirih 100% dan infusa biji pinang 6% bersifat *indifference*, yaitu ketika menggabungkan dua agen antibakteri yang bekerja bersamaan dalam satu populasi bakteri mempunyai efektivitas yang tidak lebih baik dibandingkan ketika antibakteri

tersebut digunakan secara tunggal. Sedangkan kombinasi daun sirih dan infusa biji pinang 8% dan 10% menunjukkan sifat antagonis dan tidak sebesar kontrol siprofloksasin. Sifat antagonis mungkin disebabkan karena salah satu zat aktif pada biji pinang maupun daun sirih bersifat sebagai *competitive inhibitor* atau *allosteric inhibitor*.<sup>8</sup>

Penyebab terjadinya efek indifferens masih belum bisa dipastikan, namun mungkin terjadi karena agonis parsial yang berikatan dengan reseptor mengakibatkan kerja agonis penuh menjadi menurun karena reseptor tersebut sudah diduduki oleh agonis parsial, sehingga efek dari kombinasi dua herbal menjadi menurun.<sup>8</sup>

### Kesimpulan

Infusa biji pinang 6%, 8%, 10% dan infusa daun sirih 100% memiliki efek antimikroba terhadap *S. aureus*. Kombinasi infusa daun sirih 100% dan infusa biji pinang juga memiliki efek anti mikroial terhadap *S. aureus*

### Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan RI. Situasi Kesehatan Gigi dan Mulut 2019. InfoDantin. 2019 diunduh dari: <https://pusdatin.kemkes.go.id/article/view/20031000001/kesehatan-gigi-nasional.html> 2 Februari 2021.
2. Jam N, Hajimohammadi R, Gharbani P, Mehrizad A. Evaluation of antibacterial activity of aqueous, ethanolic and methanolic extracts of areca nut fruit on selected bacteria. *BioMed Res Internat*. 2021; ID 6663399.
3. Lubis RR, Marlisa, Wahyuni DD. Antibacterial activity of betle leaf (*Piper betle* l.) extract on inhibiting *Staphylococcus aureus* in conjunctivitis patient. *Am J Clin Exp Immunol* 2020;9(1):1-5.
4. Hombach M, Maurer FP, Pfiffner T, Böttger EC, Furrer R. Standardization of operator-dependent variables affecting precision and accuracy of the disk diffusion method for antibiotic susceptibility testing. *J Clin Microbiol*. 2015;53(12):3864-9.
5. CLSI. Antimicrobial agent disk content interpretive categories and zone. Diunduh dari: [https://clsi.org/media/1800/m100\\_archivable\\_forwebsite.pdf](https://clsi.org/media/1800/m100_archivable_forwebsite.pdf) Desember 2020
6. Retnaningsih A, Ulfa AM, Khomsatun DM. Uji daya hambat antibakteri infusa daun sirih merah (*Piper corcatum Ruiz & Pav*) & daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi. *J Analis Farmasi*. 2018 3(1): 79-88
7. Wael MU, Dewi SS, Maharani ETW. Daya hambat infusa biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Seminar Nasional Pendidikan, Sains dan Teknologi FMIPA Universitas Muhammadiyah Semarang. 2017: 7-10
8. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Basic and clinical pharmacology*. 12<sup>th</sup> New York City: McGraw Hill, Lange Medical 2012.