

Green Antibiotic Daun Sirih (*Piper betle l.*) Sebagai Pengganti Antibiotik Komersial untuk Penanganan Mastitis

(Green antibiotic betel leaf (*Piper betle l.*) as a substitute for commercial antibiotic in mastitis treatment)

Gabby Lutviandhitarani¹, Dian Wahyu Harjanti² dan Fajar Wahyono¹

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

²Laboratorium Produksi Ternak Potong dan Perah Fakultas Peternakan dan Pertanian UNDIP

ABSTRACT The present study was carried out to investigate the possible antibacterial activity of betel leaf on the amount and microscopic appearance of mastitis-causing bacteria. The randomized block design with 5 treatment groups were : K group (mastitis milk only as negative control), Ab group (mastitis milk + antibiotic *penicillin-dihydrostreptomycin* as positive control), S1 group (mastitis milk + 1,25 ml betel leaf water extract), S2 group (mastitis milk+ 2,5 ml betel leaf water extract), and S3 group (mastitis milk + 5 ml betel leaf water extract). The result showed that the amount of bacteria in the betel leaves groups (S1, S2, and S3 groups) were lower ($P < 0,05$) than that of the control group (K group). Nonetheless the different concentration of betel leaf water extract in

the S1, S2 and S3 groups did not affect to the amount of bacteria ($P > 0,05$). Moreover, this research showed that betel leaf water extract had the same effectiveness with commercial antibiotic *penicillin-dihydrostreptomycin* to inhibit the growth of bacteria as indicated by the same amount of bacteria ($P > 0,05$) among the betel leaf groups (S1, S2, and S3 groups) and the Ab group. Gram-positive and negative bacteria were seen in the K group. However, only Gram-negative bacteria were visible in the betel leaf groups (S1, S2, and S3 groups) and in the Ab groups, indicating that betel leaf had the same effectiveness as *penicillin-dihydrostreptomycin* to inhibit the growth of Gram-positive bacteria.

Keywords: Betel leaf, mastitis milk, amount of bacteria, bacteria types.

2015 Agripet : Vol (15) No.1 : 28-32

PENDAHULUAN

Mastitis adalah suatu peradangan pada jaringan ambing yang dapat disebabkan oleh mikroorganisme yang umumnya bakteri, zat kimia, dan luka karena mekanis (Saleh, 2004). Penggunaan antibiotik pada pengobatan mastitis membawa dampak residu pada produk yang dihasilkan peternak. Residu antibiotika merupakan zat antibiotika termasuk metabolitnya yang terkandung dalam daging, telur, dan susu, baik sebagai akibat langsung maupun tidak langsung dari penggunaan antibiotika (SNI, 2008).

Residu antibiotika dalam susu dapat menimbulkan alergi, keracunan, gagalnya pengobatan akibat resistensi, gangguan jumlah mikroflora saluran pencernaan (Murdiati, 1997). Penggunaan antibiotik herbal salah satunya daun sirih (*Piper betle L.*) dapat

dijadikan solusi untuk mengganti antibiotik komersial yang diharapkan lebih aman untuk digunakan. Menurut Yuno (2003) secara empiris obat-obatan yang berasal dari alam, akan lebih digunakan dalam jangka waktu panjang dibanding obat-obatan kimia. Dalam pengobatan modern, daun sirih sering digunakan sebagai diuretika dan antiinflamasi, penerapannya umumnya dalam bentuk infusa dengan dosis 6% sampai 15% (Kartasapoerta 1992, Syukur dan Hermani 2002, Moeljanto dan Mulyono 2003).

Daun sirih mengandung fenol, yang memiliki peran sebagai racun bagi mikroba dengan menghambat aktivitas enzimnya. Katekol, pirogalol, quinon, eugenol, flavon dan flavonoid merupakan termasuk golongan fenol dan mempunyai kemampuan sebagian bahan antimikroba (Suliantari *et al.*, 2008), sedangkan menurut Mursito (2002) saponin dan tannin pada daun sirih bersifat sebagai

Corresponding author : dianharjanti@undip.ac.id

antiseptik pada luka permukaan, bekerja sebagai bakteriostatik yang biasanya digunakan untuk infeksi pada kulit, mukosa dan melawan infeksi pada luka serta flavanoid selain berfungsi sebagai bakteriostatik juga berfungsi sebagai anti inflamasi. Dalam penelitian Zalizar (2009) ekstrak daun sirih maupun salep daun sirih terbukti dapat menurunkan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri yang umum ditemukan pada susu mastitis. Penelitian tersebut menggunakan biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* dalam media spesifik. Seperti yang diketahui, mastitis tidak hanya disebabkan oleh bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* saja dan sampai dengan saat ini pengujian efektivitas antibakterial dari bahan herbal terhadap susu penderita mastitis belum pernah dilakukan.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu membuat rebusan daun sirih, koleksi susu mastitis subklinis, uji daya antibakteri rebusan daun sirih secara *in vitro* (*Total Plate Count*), dan uji efektivitas rebusan daun sirih terhadap bakteri melalui pewarnaan Gram.

Pembuatan Rebusan Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Daun sirih hijau segar sebanyak 100 gram dicuci bersih dan disterilkan dengan alkohol. Selanjutnya, ditambah dengan 1 liter aquades steril kemudian dipanaskan hingga mendidih dan aquades berkurang menjadi 500 ml. Setelah didinginkan, air rebusan tersebut kemudian digunakan untuk percobaan secara *in vitro*.

Koleksi Susu Mastitis Subklinis

Susu dikoleksi dari sapi mastitis yang sebelumnya telah diuji terlebih dahulu menggunakan metode *California Mastitis Test* (CMT) (Sudarwanto, 1999).

Uji Pengaruh Rebusan Daun Sirih Terhadap Koloni Bakteri Dalam Susu Mastitis Secara *In Vitro*

Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 5 kali pengulangan. Perlakuan terdiri dari kelompok 5 ml susu mastitis sebagai kontrol negatif (K); 5 ml susu mastitis + 1,25 ml rebusan daun sirih (S1); 5 ml susu mastitis + 2,5 ml rebusan daun sirih (S2); 5 ml susu mastitis + 5 ml rebusan daun sirih (S3); 5 ml susu mastitis + 5 ml antibiotik *penicillin-dihydrostreptomycin* sebagai kontrol positif (Ab).

Pengujian ini dilakukan menggunakan uji *Total Plate Count* (TPC). Semua sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dimulai dengan membuat preparat apusan bakteri dengan mengambil sampel bakteri dari masing-masing perlakuan (K, S1, S2, S3 dan Ab), dilanjutkan dengan proses pewarnaan menggunakan pewarna *kristal violet* dan *safranin*. Preparat kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 1000x (Objektif 100x dan okuler 10x).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Bakteri Pada Susu Sapi Mastitis Subklinis

Dari hasil uji yang telah dilakukan, rebusan daun sirih mampu menghambat pertumbuhan bakteri dalam susu mastitis subklinis, ditunjukkan dari jumlah bakteri pada kelompok perlakuan rebusan daun sirih (S1, S2, dan S3) yang lebih sedikit ($P < 0,05$) dibandingkan kontrol (K) (Tabel 1). Dibuktikan dalam penelitian Poeloengan *et al.* (2005) bahwa, pengujian ekstrak daun sirih secara *in vitro* (metode cakram) dan *in vivo* (dipping) mempunyai efektivitas untuk menurunkan jumlah bakteri susu dari sapi penderita mastitis.

Rebusan daun sirih telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam susu mastitis namun demikian, tidak ada perbedaan nyata ($P > 0,05$) pada jumlah bakteri dengan pemberian konsentrasi bertingkat rebusan daun sirih. Khustian (2013) meneliti pengaruh

banyaknya daun sirih merah (*Piper crocatum*) dalam rebusan terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Gram negatif) yang menyebabkan peradangan pada gusi dan gigi. Berdasarkan penelitian tersebut jumlah daun sirih merah (*Piper crocatum*) 10 dan 20 lembar tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Gram negatif). Sehingga diduga, meskipun jumlah daun dalam rebusan bertambah, namun jenis pelarut juga berperan penting dalam mengeluarkan bahan aktif dari dalam sel.

Tabel 1. Jumlah Bakteri Pada Susu Sapi Mastitis

Ulangan	Perlakuan				
	K	S1	S2	S3	Ab
	----- (x10 ⁵ CFU/ml) -----				
1	32	33	28	-	18
2	54	39	31	46	30
3	69	28	24	23	29
4	54	37	40	41	20
5	83	63	34	34	28
Rataan	58,4 ^a	40 ^b	31,4 ^b	36 ^b	25 ^b

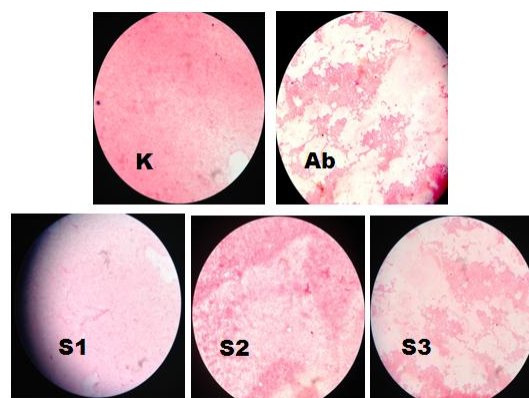
Keterangan : superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P<0,05).

Penggunaan jenis pelarut yang berbeda dalam mengekstrak komponen aktif dari sirih, dapat memberikan hasil aktivitas antimikroba yang berbeda pula (Suliantari *et al.*, 2008). Chou dan Yu (1985) menggunakan pelarut kloroform, etanol dan air ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan dan produksi aflatoxin A. *Parasiticus* dan ternyata ekstrak kloroform dan etanol mempunyai aktivitas antimikotik yang lebih baik dibandingkan air.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rebusan daun sirih mempunyai efektivitas yang sama dengan antibiotik *penicillin-dihydrostreptomycin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Daya efektivitas tersebut ditunjukkan dari jumlah koloni bakteri yang tidak berbeda nyata (P>0,05) antara kelompok perlakuan daun sirih (S) dan antibiotik (Ab). Kandungan zat antibakteri yang terdapat dalam daun sirih sangat efektif digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, seperti yang dikemukakan oleh Dalimartha (2005) bahwa, diketahui daun sirih memiliki minyak atsiri, minyak atsiri mengandung sitral dan eugenol yang berfungsi sebagai anestetik antiseptik.

Gambaran Mikroskopis Preparat Apusan Bakteri

Pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x (okuler 10x dan obyektif 100x) memperlihatkan bahwa gambaran keseluruhan dari preparat apusan berwarna merah. Pada kelompok perlakuan K terlihat terlihat lebih padat jika dibandingkan dengan kelompok S dan Ab (Gambar 1). Pada K terdapat bakteri Gram positif maupun Gram negatif karena K merupakan kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan apapun hanya susu sapi mastitis subklinis.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis bakteri susu mastitis akibat perlakuan rebusan daun sirih

Pada S1, S2, dan S3 menunjukkan penampang bakteri berwarna merah serta berbentuk batang pendek dan terlihat membentuk rantai yang bergerombol dari ciri-ciri tersebut menandakan bahwa bakteri yang terkandung dalam sampel susu yang dipakai adalah bakteri Gram negatif, hal ini sesuai pendapat Madigan *et al.* (2006), bahwa bakteri Gram negatif adalah bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu pewarnaan Gram, sehingga akan berwarna merah apabila diamati menggunakan mikroskop.

Kepadatan bakteri pada preparat apusan (S1, S2, dan S3) terlihat berkurang dibandingkan kontrol.. Tidak adanya bakteri Gram positif pada S1, S2, S3 diduga karena bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap zat antimikroba seperti tanin yang terdapat pada rebusan daun sirih, hal ini sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh Tian *et al.* (2009) bahwa bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) lebih sensitif terhadap

ekstrak daun sirih dibanding bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*) yang mengandung senyawa tanin lebih efektif melawan bakteri Gram positif dari pada Gram negatif. Sensitifitas bakteri Gram positif diduga karena perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki bakteri Gram positif dan Gram negatif, seperti yang dikemukakan oleh Maillard (2002) bahwa perbedaan struktur dinding sel berpengaruh pada ketahanannya terhadap perlakuan antimikroba. Diperkuat oleh Pelczar dan Chan (1988) bahwa perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif memberikan respon berbeda dalam pewarnaan Gram maupun pemberian antibiotik.

Hasil penelitian membuktikan bahwa daun sirih (*Piper betle L.*) mempunyai efektivitas yang sama dengan antibiotik *penicillin-dihydrostreptomycin*, hal ini ditunjukkan dengan hasil pengamatan mikroskopis pada preparat apusan dari kelompok (Ab), penampang menunjukkan warna merah, kepadatan bakteri berkurang dibandingkan kontrol, bentuk bakteri batang pendek, bergerombol dan berwarna merah. Berdasarkan ciri-ciri bakteri yang terdapat pada kelompok (Ab) diduga bakteri tersebut merupakan bakteri Gram negatif. Penisilin yang diberikan pada kelompok (Ab) merupakan salah satu jenis antibiotik yang memiliki cara kerja dengan mengganggu sintesis dinding sel bakteri, sehingga bersifat membunuh bakteri (Yuningsih, 2004). Pemberian antibiotik pada media padat akan menghambat atau mengganggu sintesis dari dinding sel bakteri, antibiotik akan menyebar atau berdifusi ke dalam media sehingga akan mempengaruhi pertumbuhan atau perkembangbiakan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Satish,1990). Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, hanya bakteri Gram negatif yang ditemukan pada kelompok daun sirih (S) dan kelompok antibiotik (Ab) hal ini membuktikan bahwa daun sirih mempunyai efektivitas yang sama dengan antibiotik *penicillin-dihydrostreptomycin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, disimpulkan bahwa rebusan daun sirih (*Piper betle L.*) memiliki efektivitas yang sama dengan antibiotik komersial *penicillin-dihydrostreptomycin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Sehingga daun sirih dapat digunakan sebagai *green antibiotic* alternatif dalam pengobatan mastitis yang murah tanpa menimbulkan residu pada ternak dan resistensi antibiotika.

DAFTAR PUSTAKA

- Chou, C. C., and Yu, R. C., 1985. Effect of *Piper betle L.* and its Extracts on The Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus*, In Proceeding: National Science Coune Republic China B. (1) 30-35.
- Dalimartha, S. 2005. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid ke-3. Trubus Agriwidyia. Jakarta.
- Kartsapoerta, G., 1992. Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat. Cetakan kedua, Penerbit Rineka Cipta, Jakarta.
- Khustian, F., 2013. Pengaruh Cara Pengolahan dan Jumlah Daun Sirih Merah (*Piper croatum*) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* (Kajian *in vitro*). Universitas Gajah Mada [skripsi].
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Brock T.D., 2006. Brock Biology of Microorganisms, Pearson Prentice Hall, New Jersey.
- Maillard, J. J., 2002. Bacterial Target Sites for Biocide Action. J. of Applied Microbiology Symposium Supplement (92): 16 S- 27 S.
- Moeljanto, R.D. dan Mulyono, 2003. Khasiat & Manfaat Daun Sirih: Obat Mujarab Dari Masa ke Masa, PT. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Murdiati, 1997. Teknik Deteksi Residu Antibiotika dalam Produk Peternakan, Seminar Nasional Peternakan dan

- Veteriner, Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Mursito, B., 2002. Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Malaria, PT. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Poeloengan, M., M.N. Susan dan Adriani. 2005. Efektivitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn) terhadap mastitis subklinis. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 12-13 September 2005. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Hal 1015-1019.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1. UI Press. Jakarta
- Saleh, E., 2004. Teknologi Pengolahan Susu Dan Hasil Ikutan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Sumatera Utara.
- Satish, G., 1990. Mikrobiologi Dasar, Terjemahan E. Suryawidjaja : The Short Text book of Medical Microbiology, Bina Rupa Aksara, Jakarta.
- SNI. 2008. Metode Uji Tapis (Screening Test) Residu Antibiotika pada Daging, Telur, dan Susu Secara Bioassay, BSN, Jakarta.
- Sudarwanto, M.B., 1999. Usaha Peningkatan Produksi Susu Melalui Program Pengendalian Mastitis Subklinis, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Orasi Ilmiah, 22 Mei 1999.
- Suliantari, B.S.L., Jenie, M. T., Suhartono dan Apriyantono, A., 2008. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri Patogen Pangan, Tesis, Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Syukur, C. dan Hermani, 2002. Budidaya Tanaman Obat Komersial, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tian, F., B. Li, B. Ji, J. Yang, G. Zhang, Y. Chen and Y. Luo. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis* : The polarity affects the bioactivities. Food Chemistry 113: 173-179.
- Yuningsih, 2004. Keberadaan Residu Pada Produk Peternakan (Susu Dan Daging), Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Yuno, S., 2003. Uji Efek Campuran Ekstrak Herbal Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rose) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Pada Tikus Putih Jantan yang Diinduks *Kalium Oksonat*, Universitas Indonesia, Depok.
- Zalizar, L., 2009. Formulasi Salep Herbal (*Piper betle* L. dan *Phyllanthus Niruri*) Untuk Pencegahan Mastitis Pada Sapi Perah, Laporan penelitian, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang.