

## Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Ida Bagus Oka Suyasa<sup>1)</sup>, Heri Setiyo Bekti<sup>1\*)</sup>, Luh Putu Rinawati<sup>1)</sup>, Luh Putu Laksmi<sup>1)</sup>,  
Putu Diah Wahyuni<sup>1)</sup>, Desak Gede Dwi Agustini<sup>1)</sup>, Aprilia Rakhmawati<sup>1)</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Denpasar, Indonesia  
Correspondence to: herisetiyobekti@poltekkes-denpasar.ac.id

### ABSTRACT

Tanggal Submit:  
27 November 2021

Tanggal Review:  
5 April 2022

Tanggal Publish  
Online:  
21 Juni 2022

*Staphylococcus aureus* is one of the causes of infectious disease, ranging from mild to severe infections such as meningitis. The drug that is often used is the penicillin class of antibiotics. Apart from chemical antibiotics, natural antibacterial compounds from plants can be also used as an alternative treatment for this infection. Such as green betel (*Piper betle* L.) and legundi (*Vitex trifolia* L.). The ethanol extract of betel leaf has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. The phytochemical content in legundi leaf is also able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. The ethanol extract of betel leaf and legundi is made through a maceration process. The extract concentrations used in this study were 20%, 30%, and 40%. The inhibition test of *Staphylococcus aureus* using the disc method. From the results of this study, the active substances found in betel leaf were flavonoids, tannins, and phenols, while in legundi were found flavonoids, tannins and phenols, and quinones. In total, the mean inhibition zone in this study ranged from 7.87mm to 17.33mm where legundi leaf extract was in the moderate category, betel and combination extract were classified as strong. There was a difference in the diameter of the inhibition zone of betel and legundi extract at a concentration 20% with 40%. In the combination extract there is a difference in the concentration of 20% with 40% and 30% with 40%. An antimicrobial compound can be said to synergize if a mixture of two or more antimicrobial compounds is able to provide an effect of each compounds. In this study, it has seen that the mean of the combination is higher than the mean of legundi leaf extract. Meanwhile, the mean of betel leaf extract is still greater than the combination extract.

**Keywords:** inhibition test, betel leaf, legundi leaf, *Staphylococcus aureus*

### PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang (Balawala, 2012). Salah satu penyebab terjadinya penyakit infeksi ini adalah *Staphylococcus aureus*. Infeksi dari *Staphylococcus aureus* yang belum

mencapai keadaan parah kemungkinan hanya menyebabkan infeksi ringan. Infeksi dari *Staphylococcus aureus* dalam kondisi yang lebih berat dapat mengakibatkan meningitis. Meningitis adalah suatu infeksi atau peradangan dari meninges, yaitu lapisan yang tipis dan

encer yang mengepung otak dan jaringan saraf dalam tulang punggung yang dapat terjadi secara akut dan kronis (Israr, 2008).

Obat pilihan yang sering digunakan untuk mengobati penyakit-penyakit tersebut adalah antibiotik golongan penisilin seperti amoksisilin, metisilin, vankomisin, kotrimoksazol, doksisisiklin, dan klindamisin (Kusuma, 2009). Pencegahan penyakit infeksi biasanya melalui pemberian antibiotik kimia, namun, alternatif senyawa antibakteri alami dari tanaman juga bisa diterapkan (Surjowardjojo et al., 2019). Beberapa tanaman mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai terapi anti bakteri, salah satunya adalah tanaman sirih hijau dan legundi (Khan and Naveen, 2011; Suarsana, Kumbara dan Satriawan, 2015). Sirih hijau (*Piper betle* L.) termasuk dalam famili *Piperaceae*, genus *Piper*, memiliki khasiat sebagai obat sariawan, mimisan, bau badan, batuk, keputihan, sakit kepala, gusi bengkak, dan radang tenggorokan. Daun sirih hijau mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, terpen, fenilpropan, saponin, tanin, steroid, alkaloid, dan minyak atsiri yang terdiri dari betlephenol, hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, cyneole, estragol, eugenol, metileugenol, dan karvakrol (Pradhan et al., 2013). Adapun klasifikasi tanaman legundi yaitu divisi

*Spermatophyta*, sub divisi *Angiospermae*, kelas *Dicotyledoneae*, bangsa *Lamiales* suku *Verbenaceae* marga *Vitex*, Jenis *Vitex Trifolia* L. (Herbie, 2015).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa ekstrak etanol dari daun sirih juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Khan and Naveen, 2011). Daun legundi dilaporkan memiliki kandungan fitokimia, yaitu: *saponin*, *flavonoid*, dan *alkaloid*, serta mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio para* dan *Escherichia coli* secara *invitro* (Cania B dan Setyaningrum, 2013; Aziz et al, 2011).

Penelitian tentang kombinasi dilakukan untuk mengetahui apakah aktivitas antibakterinya menjadi lebih kuat atau sebaliknya. Efek yang saling menguatkan dari pengkombinasian ini disebut dengan efek sinergis. Efek sinergis tersebut dapat dimunculkan karena kandungan antara daun sirih hijau dan daun legundi memiliki kesamaan yaitu flavonoid, saponin dan tanin. Otieno et al (2008) menyatakan bahwa ekstrak beberapa tanaman yang disatukan memiliki daya hambat antibakteri yang lebih besar dibanding dengan ekstrak tanaman tunggal. Jawetz, Melnick and Adelberg (2012) juga menyatakan bahwa bila dua agen antimikroba bekerja secara

bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa efek sinergis.

Tujuan dari penelitian ini, yaitu:

(1) mengidentifikasi kandungan zat antibakteri ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi; (2) mengukur diameter zona hambat ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi; (3) menentukan kategori daya hambat variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi serta kombinasinya; (4) mengetahui perbedaan daya hambat ekstrak etanol tunggal dari daun sirih dan daun legundi dalam berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*; (5) mengetahui perbedaan daya hambat kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi dalam berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*; (6) dan mengetahui perbedaan daya hambat ekstrak etanol tunggal dengan kombinasi dalam berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan bulan Juni-Desember 2020, di Laboratorium Kimia dan Bakteriologi Poltekkes Denpasar-Bali, serta di laboratorium Analitik Universitas Udayana-Bali.

Ekstrak yang digunakan, yaitu: ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak dari daun sirih (*Piper betle L.*) dan daun

legundi (*Vitex trifolia L.*) dengan perbandingan volume ekstrak daun sirih dan daun legundi yaitu 1:1, konsentrasi yang ditentukan pada penelitian ini adalah 20%, 30%, 40%, dengan pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali (Hanafiah, 2014).

### Prosedur Penelitian

#### Pembuatan ekstrak etanol menggunakan metode maserasi

Daun sirih dan daun legundi dipetik masing masing sebanyak 2 kg. Daun dicuci, dikeringkan, dan dihaluskan. Serbuk halus daun ditimbang sebanyak 200 g, kemudian masing-masing ditambahkan etanol 96% sebanyak 1.5 lt. Didiamkan selama enam hari sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 8 jam setiap harinya. Setelah enam hari, kemudian disaring dan filtrat ditampung ke dalam botol kaca, selanjutnya residu kembali dimaserasi dengan 500 ml etanol. Dibiarkan selama 3 hari sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 8 jam setiap harinya. Sesudah 3 hari kemudian disaring dan filtrat ditampung. Remaserasi dilakukan hingga warna filtrat bening. Filtrat dimasukkan ke dalam alat evaporator. Dilakukan proses ekstraksi secara *automatic* dengan diupkan pada suhu 40-60°C sampai didapatkan ekstrak kental. Hasil ekstraksi ditampung dalam tabung vial dan ditimbang berat bersih ekstrak.

### Pembuatan konsentrasi ekstrak daun sirih dan daun legundi.

Pengenceran ekstrak daun sirih dan daun legundi menggunakan rumus sebagai berikut :

$\% = b/v \times 100$ ; dengan % merupakan variasi konsentrasi (%), b adalah masa ekstrak etanol daun sirih/legundi (100%), dan v yaitu volume pelarut/pengencer (etanol 96%). Jumlah ekstrak daun 100% dapat dilihat pada **tabel 1**. Masing-masing konsentrasi dihomogenkan hingga ekstrak daun tersebut larut.

**Tabel 1.** Komposisi Bahan Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi pada Setiap Konsentrasi Perlakuan

Konsentrasi	Perlakuan	Komposisi Bahan		
		Ekstrak Sirih	Ekstrak Legundi	Etanol
20%	Ekstrak tunggal sirih	0,6 g		3 ml
	Ekstrak tunggal legundi		0,6 g	3 ml
	Ekstrak kombinasi 1:1	0,3 g	0,3 g	3 ml
30%	Ekstrak tunggal sirih	0,9 g		3 ml
	Ekstrak tunggal legundi		0,9 g	3 ml
	Ekstrak kombinasi 1:1	0,45 g	0,45 g	3 ml
40%	Ekstrak tunggal sirih	1,2 g		3 ml
	Ekstrak tunggal legundi		1,2 g	3 ml
	Ekstrak kombinasi 1:1	0,6 g	0,6 g	3 ml

Media yang digunakan adalah media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang dibuat sesuai dengan petunjuk dalam kemasan. Suspensi *Staphylococcus aureus* 0,5 Mc Farland dibuat dari biakan murni yang ditambahkan 5 ml larutan NaCl fisiologis 0,9%. Kekeruhan suspensi dibandingkan dengan kekeruhan standar 0,5 Mc Farland menggunakan alat densitometer.

### Uji difusi metode cakram.

Cakram disk kosong direndam ke dalam 50 µl pada masing masing larutan ekstrak yang telah dibuat. Untuk kontrol negatif digunakan cakram *disk* yang direndam ke dalam 50 µl etanol 96%. Swab kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri. Swab kapas digoreskan pada seluruh permukaan media MHA secara merata lalu didiamkan selama 15 menit. Cakram disk yang telah jenuh kemudian ditempelkan pada permukaan media MHA. Kontrol positif yang digunakan cakram *disk* antibiotik amoksisilin 30 mcg. Jarak antar cakram minimal 15 mm. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik.

### Analisis data.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Kolmogrov-smirnov* dan dilanjutnya dengan uji *one-way Anova*.

## PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini beberapa golongan zat antibakteri berhasil diteliti, adapun hasil uji kualitatif dengan skrining fitokimia terhadap kandungan senyawa antibakteri daun sirih dan daun legundi disajikan pada **tabel 2**. Sedangkan hasil analisis fitokimia daun sirih dan daun legundi dapat dilihat pada **tabel 3**.

**Tabel 2.** Hasil Uji Kualitatif Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Sirih dan Legundi

Golongan	Daun Sirih	Daun Legundi
Alkaloid	-	-
Flavanoid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	-	-
Fenol	+	+
Kuinon	-	+

**Tabel 3.** Hasil Analisis Fitokimia Daun Sirih dan Legundi

Ekstrak/konsentrasi	Flavonoid (mg/100g QE)	Tanin (mg/100g TAE)
sirih	9355,89	42028,73
liligundi	6086,53	6752,43
S:L (1:1)	6947,60	27232,52

Dari enam golongan zat antibakteri yang diteliti pada daun sirih hanya ditemukan tiga golongan yang positif yaitu flavonoid, tannin dan fenol. Hasil ini sejalan dengan penelitian Wijaya et al (2018), Moeljanto dan Mulyono (2003) dimana daun sirih hijau mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, terpen, fenilpropan, saponin, tanin, steroid berupa  $\beta$ -sitosterol, alkaloid berupa allypyrocatechol, dan minyak

atsiri yang terdiri dari betlephenol, hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, cyneole, estragol, eugenol, metileugenol, dan karvakrol.

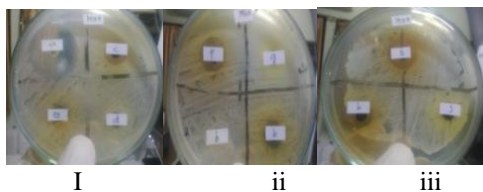
Pada daun legundi ditemukan flavonoid, tannin dan fenol dan kuinon. Hasil ini sejalan Iqlima, Erlidawati, dan Gani (2017) yang menemukan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Perbedaan hasil pada penelitian ini karena peneliti terbatas memilih zat antibakteri yang akan diperiksa, mengingat data kandungan zat antibakteri sudah dilaporkan beberapa peneliti. Namun ada satu hal yang menarik pada penelitian ini ditemukan zat kuinon pada daun legundi. Kuinon dapat dimanfaatkan sebagai larvasida atau insektisida serangga seperti nyamuk. Senyawa kuinon juga memiliki kemampuan sebagai antibiotik dan penghilang rasa sakit serta merangsang pertumbuhan sel baru pada kulit (Kristiana, Maryani dan Herti, 2008).

### Diameter zona hambat.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah amoksisillin 30 mcg sedangkan kontrol negatif digunakan etanol 96%. Selama 3 kali pengulangan diameter zone hambat kontrol positif memiliki jarak yang tidak jauh berbeda, sedangkan kontrol negatif dari pengulangan 1 sampai 3 nilainya 0 mm.

Konsentrasi ekstrak yang diamati pada penelitian terbatas pada konsentrasi 20%, 30% dan 40% baik pada ekstrak tunggal daun sirih dan daun legundi maupun pada ekstrak kombinasi kedua daun diatas. Adapun hasil yang diperoleh disajikan pada **tabel 4**. Hasil uji zona hambat dapat dilihat pada Gambar 1.

**Tabel 4** menunjukkan hasil rerata diameter zona hambat pada tiga konsentrasi ekstrak tunggal maupun kombinasi menunjukkan gradasi terendah ada pada konsentrasi 20% dan tertinggi pada konsentrasi 40%. Secara keseluruhan reratanya mulai dari 7,87 sampai dengan 17,33 mm. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang diamati maka semakin besar juga rerata diameter zona hambat. Perbedaan nilai rerata ini berhubungan dengan volume zat antibakteri yang terdapat pada masing-masing konsentrasi tersebut.



**Gambar 1.** Hasil Uji Zona Hambat pada replikasi pertama, (i) a : kontrol positif, b: kontrol negatif, c: ekstrak Sirih 20%, d: ekstrak Legundi 20% (ii) e: ekstrak Kombinasi 20%, f: ekstrak Sirih 30%, g: ekstrak Legundi 30%, h: ekstrak Kombinasi 30%; (iii) i: ekstrak Sirih 40%, j: ekstrak Legundi 40%, k : ekstrak kombinasi 40%. (Sumber: Data Primer)

**Tabel 4.** Diameter Zona Hambat

Kode	Ekstrak (%)	Replikasi			Rerata
		1	2	3	
A	Kontrol +	32.	32.	32.	32.47
B	Kontrol -	0	0	0	00.00
C	Sirih 20	14.	15.	13.	14.40
D	Legundi 20	7.8	7.6	8.2	7.87
E	Komb 20	11	12.	11.	11.73
F	Sirih 30	15.	16.	15	15.67
G	Legundi 30	8.4	9	9	8.80
H	Komb 30	12.	11.	12.	12.20
I	Sirih 40	17.	17.	17	17.33
J	Legundi 40	10.	9.8	9.4	9.80
K	Komb 40	14.	14.	14.	14.33

#### Kategori zona hambat.

Rerata data diameter zona hambat yang berhasil diteliti ditentukan kategorinya. Kategori yang umum digunakan adalah zona hambat yang nilainya  $\leq 5$  mm (lemah), 6-10 mm (sedang), 11-20 mm (kuat),  $\geq 21$  mm (sangat kuat) (Susanto, Sudrajat dan Ruga (2012). Hasil yang diperoleh, disajikan dalam **tabel 5**.

**Tabel 5.** Kategori Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Rerata	Kategori
Kontrol + (amoksisillin)	32.47	Sangat Kuat
Kontrol - (etanol 96%)	0.00	Lemah
Sirih 20%	14.40	Kuat
Legundi 20%	7.87	Sedang
Kombinasi 20%	11.73	Kuat
Sirih 30%	15.67	Kuat
Legundi 30%	8.80	Sedang



Kombinasi 30%	12.20	Kuat
Sirih 40%	17.33	Kuat
Legundi 40%	9.80	Sedang
Kombinasi 40%	14.33	Kuat

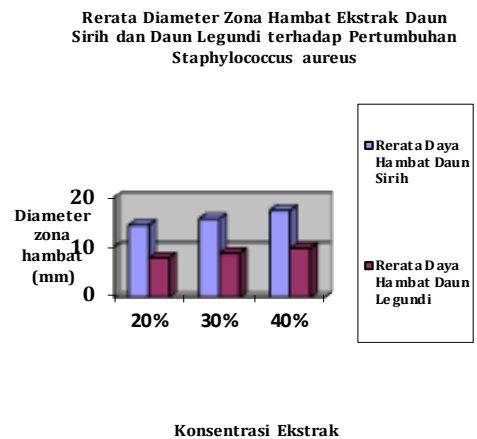
Dilihat dari kategorinya pada Tabel 5, ekstrak legundi memiliki kategori sedang, ekstrak sirih dan ekstrak kombinasi tergolong kuat. Hal ini diakibatkan karena besarnya konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini. Ekstrak legundi sampai pada konsentrasi 40% masih pada kategori sedang, apabila konsentrasinya ditambah maka kategorinya akan berubah kuat.

Berdasarkan hasil analisa statistik pada Tabel 6 dengan menggunakan Uji *One Way Anova* terlihat bahwa nilai signifikansinya 0.00 (dibawah 0.05), hal ini menunjukkan rerata zona hambat yang diperoleh pada semua perlakuan berbeda secara signifikan.

#### Perbedaan zona hambat ekstrak etanol tunggal.

Pada penelitian ini ekstrak daun sirih dan daun legundi, masing-masing diuji daya hambat dengan metoda difusi cakram konsentrasi 20%, 30% dan 40%. Pada Tabel 4, terlihat diameter zona hambat terkecil pada kedua ekstrak daun tersebut ada pada konsentrasi 20% (ekstrak daun sirih memiliki rata-rata 14,4 sedangkan daun legundi memiliki rata-rata 7,78). Selanjutnya adalah konsentrasi 30% (ekstrak daun sirih

memiliki rata-rata 15,67 sedangkan daun legundi memiliki rata-rata 8,8) dan yang tertinggi adalah pada konsentrasi 40% (ekstrak daun sirih memiliki rata-rata 17,33 sedangkan daun legundi memiliki rata-rata 9,8).



**Gambar 2.** Grafik Rerata Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. (sumber: data primer).

Diameter zona hambat terkecil pada ekstrak daun sirih ada pada konsentrasi 20% (14,4 mm), kemudian konsentrasi 30% (15,67 mm) dan yang tertinggi adalah pada konsentrasi 40% (17,33 mm). Perbedaan zona hambat ekstrak etanol daun sirih pada penelitian ini dianalisis dengan uji statistik Multiple Comparisons (Tukey HSD). Hasilnya diperoleh konsentrasi sirih 20% dan 30% memiliki nilai  $p > 0,05$  (0.89) artinya tidak ada perbedaan sirih 20% dengan 30%. Begitu juga pada konsentrasi sirih 30% dan 40% memiliki nilai  $p > 0,05$  (0.09)

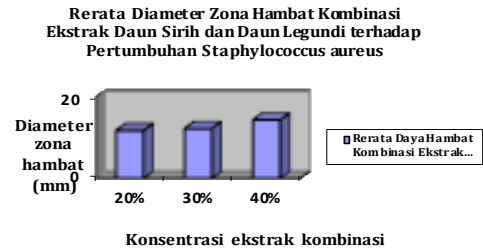
artinya tidak ada perbedaan sirih 30% dengan 40%. Sedangkan konsentrasi sirih 20% dan 40% memiliki nilai  $p < 0,05$  (0.00) artinya terdapat perbedaan sirih 20% dengan 40%.

Diameter zona hambat terkecil pada ekstrak daun legundi ada pada konsentrasi 20% (7,78 mm). Selanjutnya adalah konsentrasi 30% (8,8 mm) dan yang tertinggi adalah pada konsentrasi 40% (9,8 mm). Berdasarkan uji statistik Multiple Comparisons (Tukey HSD) diperoleh hasil konsentrasi legundi 20% dan 30% memiliki nilai  $p > 0,05$  (0.394) artinya tidak ada perbedaan legundi 20% dengan 30%. Begitu juga pada konsentrasi sirih 30% dan 40% memiliki nilai  $p > 0,05$  (0.306) artinya tidak ada perbedaan legundi 30% dengan 40%. Sedangkan konsentrasi sirih 20% dan 40% memiliki nilai  $p < 0,05$  (0.02) artinya terdapat perbedaan legundi 20% dengan 40%.

#### Perbedaan zona hambat kombinasi.

Pada penelitian ini kombinasi ekstrak daun sirih dan daun legundi dengan perbandingan 1:1 dalam tiga konsentrasi berbeda (20%, 30% dan 40%) diuji daya hambat dengan metoda difusi cakram. Pada Tabel 4, terlihat rerata diameter zona hambat terkecil ada pada konsentrasi 20% (11.73, tergolong kuat), kemudian pada konsentrasi 30% (memiliki rata-rata 12.20 tergolong kuat)

dan yang tertinggi adalah pada konsentrasi 40% (14.33 tergolong kuat).



**Gambar 3.** Grafik Rerata Diameter Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Daun Sirih dan Legundi Perbandingan 1:1 Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (sumber: data primer).

Dalam membuat ekstrak kombinasi, peneliti mengukur volume ekstrak yang digunakan sama besarnya karena perbandingan yang digunakan 1:1. Pada Tabel 4, terlihat rerata diameter zona hambat terkecil ada pada konsentrasi 20% (11.73), kemudian pada konsentrasi 30% (12.20) dan yang tertinggi adalah pada konsentrasi 40% (14.33). Berdasarkan uji statistik Multiple Comparisons (Tukey HSD) diperoleh hasil rerata zona hambat ekstrak kombinasi konsentrasi 20% dan 30% memiliki nilai  $p > 0,05$  (0.947) artinya tidak ada perbedaan kombinasi 20% dengan 30%. Sedangkan konsentrasi kombinasi 20% dan 40% memiliki nilai  $p < 0,05$  (0.00) artinya terdapat perbedaan kombinasi 20% dengan 40%. Begitu juga pada konsentrasi 30% dan 40% memiliki nilai



$p < 0,05$  (0.01) artinya terdapat perbedaan kombinasi 30% dengan 40%.

Dengan demikian hipotesis penelitian ini yaitu kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) dan legundi (*Vitex trifolia Linn.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dapat dijelaskan dengan nilai *significant* pada uji statistik Multiple Comparisons (Tukey HSD). Dengan uji tersebut dapat dikatakan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) dan legundi (*Vitex trifolia Linn.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, hal ini ditunjukkan dengan rerata diameter zona hambat ekstrak kombinasi memiliki nilai  $p < 0,05$  pada konsentrasi 20% dengan 40% dan pada konsentrasi 30% dengan 40%.

#### **Perbedaan zona hambat ekstrak etanol tunggal dengan kombinasi.**

Pada konsentrasi 20% ditemukan rerata diameter zona hambat ekstrak kombinasi sebesar 11,73% sedangkan pada ekstrak daun sirih memiliki rerata 14,4 dan daun legundi memiliki rerata 7,78. Pada konsentrasi 30% ditemukan rerata diameter zona hambat ekstrak kombinasi sebesar 12,20% sedangkan pada ekstrak daun sirih memiliki rerata 15,67 dan daun legundi memiliki rerata 8,80. Pada konsentrasi 40% ditemukan

rerata diameter zona hambat ekstrak kombinasi sebesar 14,33% sedangkan pada ekstrak daun sirih memiliki rerata 17,33 dan daun legundi memiliki rerata 9,80.

Pada setiap nilai rerata diameter zona hambat pada konsentrasi 20%, 30% dan 40%, nilai rerata kombinasi selalu lebih tinggi dari legundi dan selalu dibawah sirih. Hal ini kemungkinan terjadi karena pemilihan perbandingan dalam membuat kombinasi dimana pada penelitian ini dipilih perbandingan 1:1. Dalam hal ini perlu dipelajari lebih lanjut perbandingan volume yang harus digunakan supaya rerata ekstrak kombinasi lebih tinggi dari rerata sirih.

Berdasarkan hasil analisis statistik, untuk mengetahui normalitas distribusi data dilakukan uji *Kolmogrov-smirnov*. Hasil diperoleh nilai signifikansi diatas 0.05. Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Maka selanjutnya untuk uji perbedaan rata-rata dilanjutkan dengan uji *one-way Anova*, hasil uji *one-way Anova* disajikan pada tabel 6.

Hasil analisis diperoleh nilai sig 0,000 (dibawah 0,05). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan daya hambat pada berbagai variasi perlakuan (konsentrasi tunggal maupun kombinasi). Selanjutnya dilakukan analisis perbedaan nilai rata-rata antar perlakuan (Multiple Comparisons) dengan uji Post Hoc Tukey HSD.

**Tabel 6.** Hasil Uji *One Way Anova*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.901462	10	190.146	857.216	.000
Within Groups	4.880	22	.222		
Total	1.906342	32			

Berdasarkan hasil analisa statistik pada Tabel 6 dengan menggunakan Uji *One Way Anova* terlihat bahwa nilai signifikansinya 0.00 (dibawah 0.05), hal ini menunjukkan rerata zona hambat yang diperoleh pada semua perlakuan berbeda secara signifikan.

Berdasarkan uji statistik Multiple Comparisons (Tukey HSD) diperoleh hasil, rerata diameter zona hambat sirih dengan kombinasi pada konsentrasi 20%, 30% dan 40% memiliki nilai  $p < 0,05$  (0.00) artinya terdapat perbedaan sirih dengan kombinasi konsentrasi 20%, 30% dan 40%. Begitu juga pada ekstrak legundi dengan kombinasi, berdasarkan uji statistik Multiple Comparisons (Tukey HSD) diperoleh hasil pada konsentrasi 20%, 30% dan 40%, nilai  $p$  yang diperoleh 0.00 (dibawah 0.05) artinya terdapat perbedaan legundi dengan kombinasi konsentrasi 20%, 30% dan 40%.

Suatu senyawa antimikroba dapat dikatakan bersinergi jika campuran dari dua atau lebih senyawa antimikroba mampu memberikan efek yang lebih besar daripada efek kumulatif dari masing-masing senyawa campuran tersebut. Hal ini sudah terlihat dimana

rerata kombinasi lebih tinggi dari rerata legundi. Sedangkan rerata sirih masih lebih besar dari kombinasi diakibatkan karena pengaruh konsentrasi 1:1. Otieno *et al* (2008) menyatakan bahwa ekstrak beberapa tanaman yang disatukan memiliki daya hambat antibakteri yang lebih besar dibanding dengan ekstrak tanaman tunggalnya. Jawetz, Melnick and Adelberg (2012) juga menyatakan bahwa bila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa efek sinergis atau efek yang saling menguatkan dari pengkombinasian dua atau lebih ekstrak tanaman tunggal. Efek sinergis dari ekstrak kombinasi ini muncul karena kandungan bahan aktif atau zat antimikroba yang ditemukan dalam penelitian ini beberapa sama seperti yang terlihat pada Tabel 2 yaitu flavonoid, fenol dan tannin.

## KESIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini, yaitu: (a) zat aktif flavonoid, tannin dan fenol ditemukan baik pada ekstrak daun sirih dan daun legundi, sedangkan zat aktif kuinon hanya ditemukan pada ekstrak daun legundi; (b) secara keseluruhan rerata diameter zona hambat pada penelitian ini mulai dari 7,87 mm sampai dengan 17,33 mm; (c) kategori daya hambat ekstrak legundi memiliki kategori sedang, ekstrak sirih dan ekstrak

kombinasi tergolong kuat; (d) rerata daya hambat baik pada ekstrak daun sirih dan legundi tunggal terdapat perbedaan pada konsentrasi 20% dengan 40%; (e) rerata daya hambat baik pada kombinasi ekstrak daun sirih dan legundi terdapat perbedaan pada konsentrasi 20% dengan 40%, serta konsentrasi 30% dengan 40%; (f) dan terdapat perbedaan nilai rerata zona hambat ekstrak sirih tunggal dibandingkan dengan kombinasi pada konsentrasi 20%, 30% dan 40% begitu juga pada ekstrak legundi dengan ekstrak kombinasi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Ido S. 2009. Pengujian aktivitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Rhizoctonia sp.* secara In vitro. *But Littro* 20:92-98
- Agustin, D.W. 2005. Perbedaan khasiat antibakteri bahan irigasi saluran akar antara Hidrogen Peroksida dan Infusum daun sirih merah 20% terhadap bakteri *Mix*. *MKG* 1:45-70
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. 8: 53–61. tersedia dalam: [http://konservasiborobudur.org/wp-content/uploads/2015/01/Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam.pdf](http://konservasiborobudur.org/wp-content/uploads/2015/01/Metode_Isolasi_dan_Identifikasi_Struktur_Senyawa_Organik_Bahan_Alam.pdf). diakses tanggal 8 Oktober 2017.
- Azis, T.,S. Febrizky, dan A. D. Mario. 2014. ‘Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yield alkaloid dari Daun Salam India (*Murraya Koenigii*)’, *Teknik Kimia*, 20(2), pp. 1–6.
- Balawala GB. 2012. aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, dan *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- Bonang G dan Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya, PT Gramedia
- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, and T. A. Mietzner. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi: 25. Alih bahasa: Aryandhito Widhi Nugroho, dkk. Jakarta: EGC.
- Cania B, E. dan E. Setyaningrum. 2013. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Medical Journal of Lampung University*. 52(4): 52–60.
- Herbie, T. 2015. *Kitab tanaman berkhasiat obat: 226 Tumbuhan Obat untuk penyembuhan penyakit dan kebugaran tubuh*. Yogyakarta: Octopus Publishing House
- Hariana, A. 2013. *Kitab tanaman berkhasiat obat :262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Iqlima, Erlidawati, dan A. Gani. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Legundi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Mencit, 2(2), 99–106. *Jurnal Unsyiah*.
- Israr YA. 2008. *Meningitis*. Riau: Faculty of Medicine, University of Riau.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, 2012, *Medical Microbiology*, 26<sup>rd</sup>. Ed. Elferia Nr. Jakarta
- Karteek P, Jahnavi V, Keerthi DV, Sravhanti KC. 2012. Evaluation antibacterial activity of herbs. *International Research Journal of Pharmacy* 3(8): 230-232
- Kemenkes RI.2010. *Farmakope Herbal Indonesia*, Suplemen I. Jakarta: Depkes
- Khan JA, K. Naveen. 2011. Evaluation of antibacterial properties of extracts of *Piper betel* Leaf. *JPBMS* 11:2230-7885.
- Kristiana, Maryani, Herti. 2008. Kasiat dan Manfaat Rosela. Jakarta: PT. Agro Media Pustaka
- Kusuma SAF. 2009. *Makalah Staphylococcus aureus*. Bandung: Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.
- Moeljanto RD, Mulyono. 2003. *Khasiat & Manfaat Daun Sirih (Obat Mujarab dari Masa ke Masa)*. Jakarta: Agromedia pusaka.
- Nazhifah R, Darwin D. 2013. Uji sensitivitas isolat bakteri dari pasien luka bakar di bangsal luka bakar RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Prosiding seminar nasional perkembangan terkini sains farmasi dan klinik III2013 Universitas Andalas* hal. 212-220
- Nuria, M. C., A. Faizaitun, dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923, *Escherichia Coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella Typhi* Atcc 1408. *Mediagro*. 5(2):26–37.
- Otieno JN, Kennedy MMH, Herbert VL, Rogasian LAM. 2008. Multiplant or single plant extracts, which is the most efective for local healing in Tanzania?. *Afr. J. Trad. CAM* 5(2): 165-172
- Pakpahan RA, Kotimah S, Turnip M. 2015. Efektivitas ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*) dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai alternatif pengawet tahu. *Protobiont* 4:115-119
- Philp RB. 2004. *Herbal-Drug Interactions and Adverse Effects*. United State of America: McGraw-Hill Company.
- Pakpahan RA, Kotimah S, Turnip M. 2015. Efektivitas ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*) dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai alternatif pengawet tahu. *Protobiont* 4:115-119
- Philp RB. 2004. *Herbal-Drug Interactions and Adverse Effects*. United State of America: McGraw-Hill Company.
- Pradhan D, Suri KA, Pradhan DK, Biswasroy P.2013. Golden heart of the nature : *Piper betle*L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1: 147-160.
- Pramono Suwijiyo. 2006. *Peningkatan Efektivitas dan Daya Saing Obat Alam Indonesia*. Yogyakarta; Universitas Gajah Mada

- Rijayanti, R. P., S. Luliana. dan H. F. Trianto. 2014. 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (Mangifera foetida L.) Terhadap Staphylococcus aureus Secara In Vitro', *Jurnal Untan*. 1(1), pp. 10–12.
- Sudirman TA. 2014. Uji efektivitas ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. [Skripsi] Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanudin Makasar
- Suarsana, I. N., A. A. N. A. Kumbara, dan I. K. Satriawan. 2015. *Tanaman Obat : Sembuhkan Penyakit untuk sehat*. Denpasar: Swasta Nulus.
- Sugiyono. 2011. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Surjowardjojo, P., Setyowati, E., & Ambarwati, I. (2019). Antibacterial Effects of Green Betel ( Piper betle Linn .) Leaf Against Streptococcus agalactiae and Escherichia coli. *Agrivita Journal of Agricultural Science*, 41(3), 569–574.
- Susanto, D. Sudrajat dan R. Ruga. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie* 11(2): 181-190.
- Vandepitte, J., J. Verhaegen, K. Engbaek, Piot, P. and C. Heuck. 2010. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologis Klinis*. Edisi 2. Alih Bahasa: Lyana Setiawan. Jakarta: EGC
- Wijaya, W. A., N. L. P. V. Paramita, dan N. M. P. Susanti, 2018 'Optimasi Metode Purifikasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) Yang Memiliki Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*', *JURNAL KIMIA*, 12(1), pp. 36–42.
- Warsa UC. 1994. *Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Penerbit Binarupa Aksara. hlm 103-110
- Yuwono. 2010. *Pandemi Resistensi Antimikroba: Belajar dari MRSA*. Departemen Mikrobiologi FK Unsri. hlm 2837-2850.
- Zaidi M, Tayyab K, Wajahat A, Shafique M, Naz SA. 2013. Inhibitory effect of natural herbal extracts on systemic bacteria. *Int. J. Biol. Res.* 1:89-93.