

Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* dan Khamir *Malassezia furfur*

Rachmayanti Dewi¹, Amelia Febriani^{1*}, Desy Muliana Wenas¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, ISTN, Jl. Moh Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640, Indonesia

*Email korespondensi: ameliafebriani@istn.ac.id

ABSTRAK

Indonesia memiliki beraneka ragam jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, diantaranya adalah daun sirih (*Piper betle L.*) yang mengandung senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes* dan *Malassezia furfur*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur Diameter Daya Hambat (DDH) melalui metode difusi cakram dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) melalui metode dilusi agar padat. Uji DDH dilakukan pada konsentrasi 6,25%; 12,5%; 25% dan 50%, kontrol negatif yaitu DMSO 10% serta kontrol positif yaitu cakram klindamisin 2 µg/disk (*P. acnes*) dan cakram ketokonazol 20 µg/disk (*M. furfur*). Pengujian KHM dilakukan terhadap konsentrasi 6,25%; 5,25%; 4,25%; 3,25%; 2,25% dan 1,25% untuk *P. acnes*, sedangkan untuk *M. furfur* pada konsentrasi 12,5%; 10%; 7,5% dan 6,25%. Hasil menunjukkan nilai DDH untuk *P. acnes* sebesar 9,05 mm ± 0,62; 11,50 mm ± 0,36 ; 12,18 mm ± 0,16 ; 13,53 mm ± 0,36 dan kontrol positif sebesar 17,55 mm ± 0,13; sedangkan pada *M. furfur* nilai DDH sebesar 0,00 mm ± 0,00 ; 9,47 mm ± 0,28; 15,19 mm ± 2,60; 28,70 mm ± 0,72 dan kontrol positif sebesar 44,60 mm ± 0,22. Hasil KHM untuk *P. acnes* yaitu pada konsentrasi 3,25%, sedangkan pada *M. furfur* yaitu pada konsentrasi 10%. Uji statistik menunjukkan ekstrak metanol daun sirih memiliki perbedaan aktivitas antimikroba terhadap pertumbuhan *P. acnes* dan *M. furfur* (p<0,05).

Kata kunci: antimikroba, daun sirih, ekstrak metanol, *Malassezia furfur*, *Propionibacterium acnes*

Antimicrobial Activity Of Methanolic Extract Of Betel Leaf (*Piper betle L.*) Against The Growth Of *Propionibacterium acnes* Bacteria and *Malassezia furfur* Yeast

ABSTRACT

Indonesia has a wide variety of plants that can be used as traditional medicines, including betel leaves (*Piper betle L.*) which contain tannins, flavonoids, alkaloids, saponins, and terpenoids. The aimed of this study is to determine the antimicrobial activity methanolic extract of betel leaf (*Piper betle L.*) against *Propionibacterium acnes* and *Malassezia furfur*. Antibacterial activity test by measuring the Inhibitory Zone Diameter (IZD) with the disc diffusion method and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) with a solid dilution method. IZD testing carried out at a concentration of 6.25%; 12.5%; 25% and 50%, negative control was 10% DMSO and positive control was Clindamycin 2 µg/disc (*P. acnes*) and Ketoconazole disc 20 µg/disc (*Malassezia furfur*). MIC testing was performed at concentration 6.25%; 5.25%; 4.25%; 3.25%; 2.25% and 1.25% for *P. acnes*, while for *M. furfur* was 12.5%; 10%; 7.5% and 6.25%. The results showed that IZD values for *P. acnes* were 9.05 mm ± 0.62; 11.50 mm ± 0.36; 12.18 mm ± 0.16; 13.53 mm ± 0.36 and positive control was 17.55 mm ± 0.13. While IZD of *M.furfur* was 0.00 mm ± 0.00; 9.47 mm ± 0.28; 15.19 mm ± 2.60; 28.70 mm ± 0.72 and positive control was 44.60 mm ± 0.22. MIC results for *P. acnes* were 3.25%, while those of *M.furfur* was at a concentration of 10%. The statistical test showed that the methanolic extract of betel leaves had different antimicrobial activity against the growth of *P. acnes* and *M. furfur* (p < 0.05).

Keywords: antimicrobial, betel leaves, *Malassezia furfur*, methanolic extract, *Propionibacterium acnes*

PENDAHULUAN

Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan ketampilan yang secara turun-temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya (Bustanussalam, 2016). Sirih merupakan salah satu jenis tumbuhan yang banyak dimanfaatkan untuk pengobatan. Bagian dari tumbuhan sirih (*Piper betle L.*) seperti akar, biji, dan daun berpotensi untuk pengobatan, tetapi yang paling sering dimanfaatkan adalah bagian daun, secara empiris daun sirih dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan sariawan, batuk, dan antiseptik untuk mengurangi keputihan (Damayanti, 2008). Daun sirih memiliki potensi sebagai alternatif jerawat dan antifungi dalam menghambat pertumbuhan *Malassezia furfur* penyebab panu maupun ketombe (Carolina & Wulan, 2016; Padma, et al. 2015).

Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan suatu kondisi kulit yang mengalami peradangan pada kelenjar pilosebacea. Hal ini disebabkan oleh pori-pori kulit yang terbuka dan akan tersumbat oleh minyak dan sel-sel kulit mati sehingga terbentuk sebum. Bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan organisme utama dalam proses lesi peradangan pada jerawat, dimana pertumbuhannya meningkat oleh karena meningkatnya produksi sebum. (Knutsen-Larson et al., 2012). Panu atau *pityriasis versicolor* merupakan suatu kondisi kelainan kulit dengan gejala bercak berwarna putih sampai coklat kemerahan. *Malassezia furfur* merupakan khamir yang dapat menyebabkan penyakit panu (Tuti et al., 2016).

Daun sirih mengandung senyawa antimikroba meliputi tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid (Kumari & Nirmala, 2016). Ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) menunjukkan adanya efek antifungi terhadap *Candida albicans* pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 100% dengan terbentuknya zona hambat berturut-turut yaitu 13,62 mm; 17,3 mm; 21,76 mm; dan 28,01 mm. Daya hambat yang dihasilkan dalam penelitian tersebut dapat dikategorikan sebagai daya hambat kuat (Chairunnisa et al., 2015). Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan menggunakan pelarut yang berbeda yaitu etanol dan metanol menunjukkan adanya efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 6,25%; 12,5%; 25% dan 50%, dari kedua pelarut yang digunakan pada penelitian tersebut, pelarut metanol menunjukkan zona hambat yang baik dibandingkan pelarut etanol dengan kategori daya hambat sedang sampai kuat. (Masniari et al., 2008).

Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba. Sedangkan, metode dilusi digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Jawetz et al., 2007).

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat dan khamir *Malassezia furfur* penyebab panu dengan metode difusi cakram dan metode dilusi padat.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian. Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai Juni 2018 di Laboratorium Fitokimia, dan Laboratorium Mikrobiologi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta.

Bahan dan Alat Penelitian. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, jarum ose, bunsen, pinset, kapas, kasa, vorteks, cawan petri, pipet tetes, pipet volume, rak tabung, jangka sorong, erlenmeyer, vial 10 ml, autoclave, yellow tip ukuran 20 µl, blue tip ukuran 1 ml, cakram uji, oven, laminar air flow, inkubator, hot plate, botol kaca maserasi, rotary evaporator, waterbath.

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun sirih hijau (*Piper betle L.*) segar yang diperoleh dari BALITRO (Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat) Bogor. Mikroorganisme uji yang digunakan yaitu bakteri *Propionibacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur* koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi ISTN Jakarta. Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA), NaCl fisiologis, cakram Ketokonazol 20 µg/disk sebagai kontrol positif untuk khamir *Malassezia furfur* dan cakram Klindamisin 2 µg/disk sebagai kontrol positif untuk bakteri *Propionibacterium acnes*, DMSO 10% sebagai kontrol negatif.

Tahapan Penelitian

Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Sirih. Pembuatan ekstrak daun sirih dilakukan dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah metanol dengan perbandingan 1:10. Serbuk simplisia daun sirih sebanyak 120 g dimasukkan ke dalam maserasi, ditambah 1.200 ml pelarut metanol, kemudian direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk dan didiamkan selama 18 jam. Maserat disaring menggunakan kain flannel dan kertas penyaring ke dalam wadah penampung maserat. Ampas serbuk ditambahkan kembali dengan pelarut dan jumlah yang sama. Proses diulangi dua kali. Setelah semua maserat terkumpul kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator dan diuapkan kembali menggunakan waterbath pada suhu 40 – 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Departemen Kesehatan RI, 2008). Rendemen dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot simplisia yang ditimbang}} \times 100 \%$$

Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Metanol Daun Sirih. Penapisan fitokimia meliputi identifikasi flavonoid, tannin, saponin, alkaloid, triterpenoid dan steroid.

Pembuatan Media. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) digunakan untuk peremajaan dan sebagai media untuk pengujian aktivitas antimikroba pada bakteri *Propionibacterium acnes*, sedangkan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) digunakan untuk peremajaan dan sebagai media untuk pengujian aktivitas antimikroba pada khamir *Malassezia furfur*.

Peremajaan Mikroba Uji. Peremajaan mikroba uji dilakukan dengan cara mengambil biakan awal mikroba sebanyak satu ose kemudian digoreskan pada bagian permukaan agar miring. Untuk bakteri *Propionibacterium acnes* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, sedangkan khamir *Malassezia furfur* diinkubasi pada suhu ruang 20-25°C selama 48 jam.

Pewarnaan Mikroba uji. Pewarnaan mikroba uji merupakan prosedur mewarnai mikroba uji dengan menggunakan zat warna yang dapat menonjolkan struktur tertentu dari mikroba uji yang akan diamati (Pratiwi, 2008). Bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif, maka dilakukan pewarnaan Gram. Hasil positif ditunjukkan dengan gambaran mikroskopik berbentuk batang tidak teratur berwarna ungu (Achermann *et al.*, 2014) Pewarnaan khamir *Malassezia furfur* dengan menggunakan pewarna *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB). Hasil positif ditunjukkan dengan gambaran mikroskopik sel yang berbentuk lonjong dengan satu sel atau bentuk bulat bertunas (Sutanto *et al.*, 2008).

Pembuatan Suspensi Mikroba Uji. Pembuatan suspensi mikroba uji dilakukan dengan cara mengambil beberapa ose hasil peremajaan bakteri *Propionibacterium acnes* selama 24 jam dan khamir *Malassezia furfur* yang sudah diremajakan selama 48 jam, kemudian secara terpisah bakteri *Propionibacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur* dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 5 ml larutan NaCl 0,9% steril, kemudian kekeruhannya disamakan dengan Mc Farland 3 yang setara dengan konsentrasi 10⁸ CFU/ml. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan mengambil sebanyak 1 ml dari suspensi tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl 0,9% (10⁷ CFU/ml) (Nakatsuji *et al.*, 2009; Agrawal *et al.*, 2014).

Pembuatan Larutan Konsentrasi Ekstrak. Pembuatan konsentrasi ekstrak metanol daun sirih dilakukan dengan mengencerkan ekstrak metanol daun sirih menggunakan DMSO 10% hingga diperoleh variasi konsentrasi yaitu 50%; 25%; 12,5%; dan 6,25%.

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian Diameter Daya Hambat. Pengujian diameter daya hambat dilakukan dengan metode tuang (*pour plate method*) dengan menggunakan kertas cakram. Hasil suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur* diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang berbeda, selanjutnya media MHA dan SDA steril sebanyak 20 ml dituangkan ke dalam masing-masing cawan petri yang sudah terdapat mikroba uji. Secara perlahan cawan petri digoyang dengan gerakan memutar tanpa diangkat dari permukaan meja, sehingga mikroba uji tercampur rata dalam medium agar. Medium agar didiamkan sampai memadat (Berlian *et al.*, 2016).

Dalam cawan petri steril berbeda sebanyak 20 µl ekstrak uji dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25% dan kontrol negatif yaitu DMSO 10% ditetesi ke dalam cakram steril dan didiamkan hingga cakram kering, setelah cakram steril kering diletakkan di atas media agar padat yang sudah terdapat mikroba uji. Kontrol positif bakteri yang digunakan adalah cakram klindamisin 2 µg/disk dan kontrol positif khamir adalah cakram ketokonazol 20 µg/disk. Cawan petri dibungkus rapat dan diinkubasi, untuk bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Khamir diinkubasi pada suhu ruang 20-25°C selama 48 jam. Pengamatan aktivitas antimikroba dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terdapat pada sekitar cakram dengan menggunakan jangka sorong (Berlian *et al.*, 2016).

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan apabila pada uji Diameter Daya Hambat (DDH) yang telah dilakukan menunjukkan adanya zona hambat yang dapat dilihat dan diukur diameternya.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu 6,25%; 5,25%; 4,25%; 3,25%; 2,25%; 1,25% dan konsentrasi ekstrak untuk khamir *Malassezia furfur* yaitu 12,5%; 10%; 7,5% dan 6,25%. Pengujian KHM dilakukan dengan memipet konsentrasi ekstrak dan suspensi mikroba uji sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri steril yang telah berisi 9 ml media agar cair, kemudian dihomogenkan dengan memutar membentuk angka 8. Media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri, sedangkan untuk khamir diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 48 jam. Hasil pengamatan KHM ditentukan pada cawan konsentrasi ekstrak terendah yang tidak ditumbuhi mikroba (Oom *et al.*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi 120 g serbuk kering daun sirih dengan pelarut metanol diperoleh ekstrak kental sebesar 17,2 g dengan persentase rendemen sebesar 14,33%.

Hasil penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak kental daun sirih dapat dilihat pada Tabel 1 berikut:

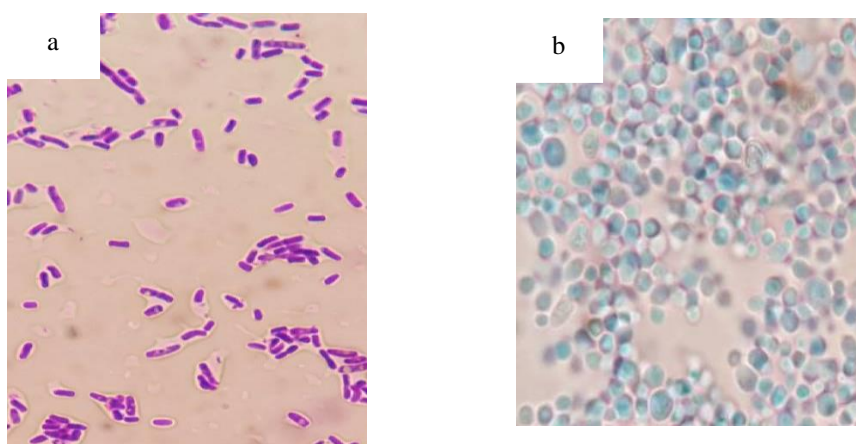
Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle L.*)

No	Uji	Pereaksi/ Reagen	Hasil		Kesimpulan	
			Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
1	Flavonoid	NaNO ₂ 5 % AlCl ₃ 10%, NaOH 1 M	Lapisan berwarna merah	Lapisan berwarna merah	Positif (+)	Positif (+)
2	Tanin	FeCl ₃ 1%,	Warna hitam kehijauan	Warna hitam kehijauan	Positif (+)	Positif (+)
3	Saponin	Aquadest panas + HCl	Terbentuk buih setinggi 1 cm,	Terbentuk buih setinggi 1 cm, Setelah penambahan	Positif (+)	Positif (+)
		Pereaksi Mayer	Tidak ada endapan putih atau kuning	Tidak ada endapan putih atau kuning	Negatif (-)	Negatif (-)
4	Alkaloid	Pereaksi Dragendroff	Tidak ada endapan merah coklat	Tidak ada endapan merah coklat	Negatif (-)	Negatif (-)
		Pereaksi Bouchardat	Tidak ada endapan coklat sampai hitam	Tidak ada endapan coklat sampai hitam	Negatif (-)	Negatif (-)
5	Tri-terpenoid	Pereaksi Lieberman-Buchard	Terbentuk lapisan berwarna ungu	Terbentuk lapisan berwarna ungu	Positif (+)	Positif (+)

Berdasarkan Tabel 1. hasil penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle L.*) yang didapatkan yaitu mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid.

Hasil pewarnaan yang telah dilakukan didapatkan bahwa pada pewarnaan bakteri

Propionibacterium acnes menunjukkan bakteri berwarna ungu dengan bentuk batang tidak teratur (Gambar 1a), sedangkan untuk hasil pewarnaan *Malassezia furfur* menunjukkan sel yang berbentuk lonjong dengan satu sel atau bentuk bulat bertunas (Gambar 1b).



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Mikroba Uji. a. *Propionibacterium acnes*. b. *Malassezia furfur*

Hasil uji diameter daya hambat ekstrak metanol terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan

khamir *Malassezia furfur* dapat dilihat pada Tabel 2. dan Gambar 2. berikut:

Tabel 2. Hasil pengukuran rata-rata diameter ekstrak metanol daun sirih terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (n=3) dan khamir *Malassezia furfur* (n=3)

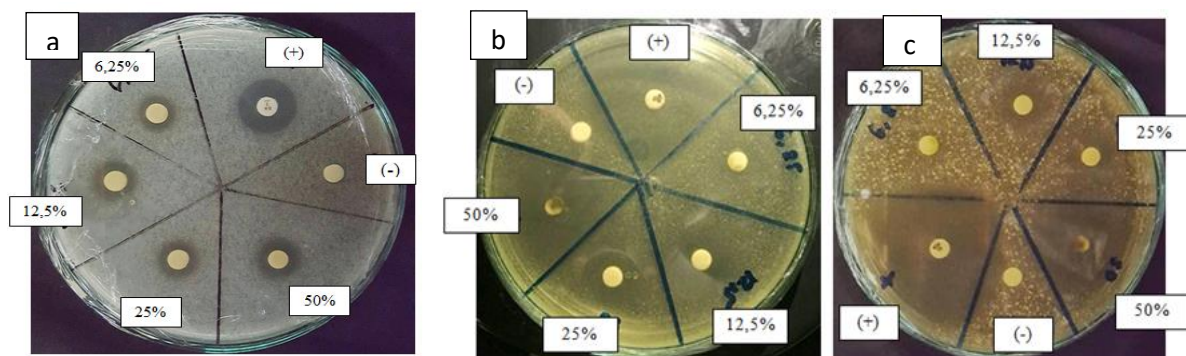
Perlakuan	Diameter Zona Hambat <i>Propionibacterium acnes</i> Rerata ± SD (mm)	Diameter Zona Hambat <i>Malassezia furfur</i> Rerata ± SD (mm) 24 jam	Diameter Zona Hambat <i>Malassezia furfur</i> Rerata ± SD (mm) 48 jam
6,25%	9,05 ± 0,62 ^b	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
12,5%	11,50 ± 0,36 ^c	8,76 ± 0,30 ^b	9,46 ± 0,28 ^b
25%	12,18 ± 0,16 ^d	11,71 ± 0,61 ^c	15,19 ± 2,60 ^c
50%	13,53 ± 1,53 ^e	25,19 ± 2,93 ^d	28,70 ± 0,72 ^d
Klindamisin 2 µg/disk	17,55 ± 0,13 ^f	-	-
Ketokonazol 20 µg/disk	-	36,58 ± 1,05 ^e	44,60 ± 0,22 ^e
DMSO 10%	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh superscript berbeda dalam satu kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan berdasarkan uji Mann-Whitney (p < 0,05).

Diameter daya hambat ekstrak metanol daun sirih terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5% dan 6,25% yaitu sebesar 13,53 mm ± 0,36 ; 12,18 mm ± 0,16 ; 11,50 mm ± 0,36 dan 9,05 mm ± 0,62. Menurut Greenwood (1995), respon hambatan pertumbuhan mikroba dapat diklasifikasikan sebagai berikut, apabila diameter yang dihasilkan >20 mm dikategorikan kuat, diameter yang dihasilkan 16-20 mm dikategorikan sedang, diameter yang dihasilkan 10-15 mm dikategorikan lemah, dan diameter yang terbentuk < 10 mm dikategorikan kurang efektif. Ekstrak metanol daun sirih dengan konsentrasi 50%; 25% dan 12,5% memiliki respon hambatan pertumbuhan lemah karena menghasilkan diameter zona hambat sebesar 10-15 mm, sedangkan ekstrak metanol daun sirih dengan konsentrasi 6,25% memiliki respon hambatan pertumbuhannya kurang efektif karena diameter yang dihasilkan <10 mm. Kontrol positif yang digunakan adalah klindamisin 2 µg/disk karena merupakan jenis antibiotik yang diindikasikan untuk bakteri *Propionibacterium* (Irma dan Wresti, 2009) Hasil rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dari kontrol positif yaitu 17,55 mm ± 0,13 dan kontrol negatif DMSO 10% tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat

Pada khamir *Malassezia furfur* mengalami perubahan peningkatan diameter zona hambat dari

24 jam ke 48 jam. Pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5% yang telah diinkubasi selama 24 jam menghasilkan rata-rata diameter secara berturut-turut sebesar 25,19 mm ± 2,93 ; 11,72 mm ± 0,61 ; 8,76 mm ± 0,30. Setelah masa inkubasi 48 jam, semua konsentrasi uji mengalami peningkatan zona hambat menjadi 28,70 mm ± 0,72 ; 15,19 mm ± 2,60 ; 9,47 mm ± 0,28. Peningkatan diameter zona hambat yang dihasilkan dari masing-masing konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan khamir *Malassezia furfur* menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sirih memiliki sifat fungisidal. Sifat suatu antifungi dapat dibedakan sebagai fungistatik ataupun fungisidal dengan membandingkan hasil pengukuran zona hambat pada saat masa inkubasi yaitu 24 jam dan 48 jam. Suatu antifungi dikatakan fungistatik apabila ukuran diameter zona hambat yang dihasilkan berbanding terbalik dengan waktu inkubasi, dimana semakin lama waktu inkubasi maka semakin kecil diameter zona hambat yang terbentuk, sedangkan bersifat fungisidal apabila terdapat penambahan diameter zona hambat sejalan dengan penambahan waktu inkubasi (Tuti, Siti, Achmad, 2016). Ekstrak metanol daun sirih dapat dinilai bersifat fungisidal, karena bertambahnya diameter zona hambat sejalan dengan penambahan waktu inkubasi.



Gambar 2. Hasil pengujian daya hambat ekstrak metanol daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* (a) dan khamir *Malassezia furfur* setelah 24 jam (b) dan 48 jam (c)

Penentuan KHM terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak metanol daun sirih yang memiliki DDH dengan konsentrasi terkecil yaitu 6,25% kemudian diturunkan menjadi 5,25%; 4,25%; 3,25%; 2,25% dan 1,25%. Berdasarkan Tabel 3 didapatkan hasil bahwa ekstrak metanol daun sirih konsentrasi 2,25% dan 1,25% menunjukkan masih terlihat adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 6,25 – 3,25% tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*, sehingga KHM bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu pada konsentrasi 3,25%.

Penentuan KHM terhadap khamir *Malassezia furfur* dilakukan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak metanol daun sirih yang memiliki DDH dengan konsentrasi terkecil yaitu 12,5% kemudian diturunkan menjadi 10%, 7,5% dan 6,25%. Berdasarkan Tabel 3 didapatkan hasil bahwa ekstrak metanol daun sirih konsentrasi 7,5% dan 6,25% menunjukkan masih terlihat adanya pertumbuhan khamir, sedangkan pada konsentrasi 12,5% dan 10% tidak terlihat adanya pertumbuhan khamir pertumbuhan *Malassezia furfur*. Berdasarkan hasil tersebut, maka nilai KHM khamir *Malassezia furfur* yaitu pada konsentrasi 10%.

Tabel 3. Hasil Uji nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol daun sirih terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur*

Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>		Khamir <i>Malassezia furfur</i>	
Konsentrasi	Hasil Pertumbuhan Pada Media Uji	Konsentrasi	Hasil Pertumbuhan Pada Media Uji
6,25%	-	12,5%	-
5,25 %	-	10 %	-
4,25 %	-	7,5 %	+
3,25 %	-	6,25 %	+
2,25 %	+		
1,25%	+		

Keterangan: (-): tidak ada pertumbuhan; (+): ada pertumbuhan

Hasil analisis varian data pada bakteri *Propionibacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur* didapatkan distribusi data normal, namun tidak homogen, maka digunakan Uji Non Parametrik Kruskal Wallis yang hasil menunjukkan terdapat perbedaan sehingga dilakukan uji Mann Whitney. Berdasarkan pengujian analisis statistik pada uji Mann Whitney menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sirih memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur* karena terdapat perbedaan bermakna dibandingkan kontrol negatif (DMSO 10%), namun kemampuan atau kekuatan ekstrak daun sirih sebagai antimikroba tidak sebanding atau setara dibandingkan kontrol positif.

Kemampuan daya antimikroba ekstrak metanol daun sirih diduga berasal dari kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun sirih, yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid (Syahidah et al., 2017). Senyawa Flavonoid mempunyai aktivitas antimikroba dengan mengganggu fungsi metabolisme melalui perusakan dinding sel dan mendenaturasi protein mikroba. Tanin mempunyai aktivitas antimikroba dengan merusak dinding sel mikroba (Wisyaningtyas et.al, 2014). Saponin memiliki aktivitas antimikroba dengan mengganggu tegangan permukaan dinding sel sehingga zat antimikroba akan mudah masuk ke dalam sel dan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian sel mikroba (Enwa et al., 2014) Mekanisme antimikroba dari terpenoid belum

sepenuhnya diketahui tetapi diduga terjadi gangguan membran mikroba oleh adanya senyawa lipofilik (Olgica et al., 2012).

KESIMPULAN

Nilai Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle L.*) pada konsentrasi 6,25%; 12,5%; 25% dan 50% untuk *Propionibacterium acnes* sebesar 9,05 mm ± 0,62 (respon hambatan kurang efektif) ; 11,50 mm ± 0,36 ; 12,18 mm ± 0,16 ; 13,53 mm ± 0,36 (respon hambatan lemah) dan kontrol positif (klindamisin 2 µg/disk) sebesar 17,55 mm ± 0,13. Sedangkan pada khamir *Malassezia furfur* nilai Diameter Daya Hambat (DDH) sebesar 0,00 mm ± 0,00 ; 9,47 mm ± 0,28 (respon hambatan kurang efektif) ; 15,19 mm ± 2,60 (respon hambatan lemah) ; 28,70 mm ± 0,72 (respon hambatan kuat) dan kontrol positif (ketokonazol 20 µg/disk) sebesar 44,60 mm ± 0,22.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle L.*) pada bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu pada konsentrasi 3,25%, sedangkan pada khamir *Malassezia furfur* yaitu pada konsentrasi 10%.

Hasil uji statistik menunjukkan ekstrak metanol daun sirih memiliki perbedaan aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur* (p<0,05).

DAFTAR PUSTAKA

- Achermann Y, Ellie JC, Goldstein, Tom C, Mark ES. (2014). *Propionibacterium acnes*: from Commensal to Opportunistic Biofilm-Associated Implant Pathogen. *Clinical Microbiology Review*, 27(3), 419-440.
- Agrawal V, Bhagwat AM, Sawant CS. Sesame Oil. (2014). Incorporated Medium For Isolation And Enumeration Of Lipophilic Yeasts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(7).
- Berlian Z, Fitratul A, Weni L. (2016). Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum L.*) Terhadap Fungi *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Jurnal Biota*, 2(1), 99-105.
- Bustanussalam. (2016). Pemanfaatan obat tradisional (herbal) sebagai obat Alternatif. *BioTrends*, 7(1).
- Carolia N, Wulan N. (2016). Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) sebagai Alternatif Terapi Acne vulgaris. *Jurnal Majority*, 5(1), 140-145.
- Chairunnisa S, Tri S, Nursyamsi N. (2015). Inhibition Of Betel Leaf Extract (*Piper betle L.*) Against *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*, 2(3), 25-33.
- Damayanti RM. (2008). *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab Dari Masa Ke Masa*. Cetakan Pertama. Jakarta: PT ArgoMedia Pustaka.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Enwa FO, Omajate G, Jewo AO, Eza CO. (2014). Mechanisms of Antimicrobial Actions of Phytochemicals against Enteric Pathogens. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 2(2), 77-85.
- Greenwood. (1995). *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemoterapy*. San Fransisco: Addison Westley Longman Inc.
- Irma B, Wresti I. (2011). Penggunaan Klindamisin Oral Pasien Acne Vulgaris Sedang di Poliklinik RSCM Jakarta Tahun 2009. *Jurnal MDVI*, 38(3).
- Jawetz, Melnick, Adelberg. (2007) Mikrobiologi Kedokteran, 23th ed. Jakarta: ISBN 978-979-448-859-1.2007.
- Knutsen-Larson, S., A. L. Dawson, C. A. Dunnick, dan R. P. Dellavalle. (2012). Acne vulgaris: Pathogenesis, treatment, and needs assessment, *Dermatol Clin*, 30(1), 99-106.
- Kumari OS, Nirmala BR. (2015). Phyto Chemical Analysis Of *Piper Betel* Leaf Extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS)*, 4(1), 699-703.
- Masniari P, Susan MN. (2008). Andriani. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle Linn*) Terhadap Mastitis Subklinis (Efficacy Of *Piper betle Linn* Toward Subclinical Mastitis). *Jurnal Penelitian Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, Balai Penelitian Veteriner: Bogor;
- Nakatsuji T, Mandy CK, Jia-You F, Christos CZ, Liangfang Z, Richard LG, Chun MH. (2009). Antimicrobial Property of Lauric Acid Against *Propionibacterium acnes*: Its Therapeutic Potential for Inflammatory Acne Vulgaris. Published in final edited form as: *J Invest Dermatol*, 129(10), 2480-2488.
- Olgica S, Ivana R, Sava V, Ljiljana C. (2012). *Antibacterial Activity of Naturally Occurring Compounds from Selected Plants* dalam ebook *Antimicrobial Agents* Edited by Varaprasad Bobbarala. InTech
- Oom K, Bina LS, Nina S. (2012). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia L*) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhi*. *Jurnal Fitofarmaka*, 2(1), 36-41.
- PadmaN P, Anuradha K, Divya K. (2015). Comparison of Potency of Antifungal Action of Dandruff Shampoos and Different Plant Extracts. *International Journal of Medical Research and Health Sciences*, 4(2), 327-331.
- Pratiwi ST. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Sutanto, Inge, Is Suhariah I, Pudji KS, Saleha S. (2008). *Parasitologi Kedokteran*, Edisi Keempat, Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Syahidah A, Saad CR, Hassan MD, Rukayadi Y, Norazian MH, Kamarudin MS. (2017). Phytochemical Analysis, Identification and Quantification of Antibacterial Active Compounds in Betel Leaves, *Piper betle* Methanolic Extract. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 20(2), 70-81.
- Tuti A, Siti K, Achmad M. (2016). Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Darah (*Holothuria atra* Jeager.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Malassezia furfur* Penyebab Panu. *Jurnal Protobiont*, 5(1), 59-67.
- Widyaningtias NMSR, Yustiantara PS, Paramita NLPV. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Penelitian. Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana*, Bali.